



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**GABRIEL ARCANJO BEZERRA MATIAS**

**ESTIMATIVA DE PARÂMETROS DE CRESCIMENTO CELULAR, AGITAÇÃO E  
TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO EM CULTIVOS DE *Kluyveromyces marxianus*  
EM SUCO DE CAJU VISANDO A PRODUÇÃO DE 2-FENILETANOL**

**FORTALEZA**  
**2023**

GABRIEL ARCANJO BEZERRA MATIAS

ESTIMATIVA DE PARÂMETROS DE CRESCIMENTO CELULAR, AGITAÇÃO E  
TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO EM CULTIVOS DE *Kluyveromyces marxianus* EM  
SUCO DE CAJU VISANDO A PRODUÇÃO DE 2-FENILETANOL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química. Orientador: Prof. Dr. André Casimiro de Macedo.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

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

---

M38e Matias, Gabriel Arcanjo Bezerra.

Estimativa de parâmetros de crescimento celular, agitação e transferência de oxigênio em cultivos de *Kluyveromyces marxianus* em suco de caju visando a produção de 2-feniletanol / Gabriel Arcanjo Bezerra Matias. – 2023.

101 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Curso de Engenharia Química, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. André Casimiro de Macedo.

1. Composto aromático. 2. Processos fermentativos. 3. Fluidodinâmica. I. Título.

CDD 660

---

GABRIEL ARCANJO BEZERRA MATIAS

ESTIMATIVA DE PARÂMETROS DE CRESCIMENTO CELULAR, AGITAÇÃO E  
TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO EM CULTIVOS DE *Kluyveromyces marxianus* EM  
SUCO DE CAJU VISANDO A PRODUÇÃO DE 2-FENILETANOL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química. Orientador: Prof. Dr. André Casimiro de Macedo.

Aprovada em: 14/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. André Casimiro de Macedo (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Valderez Ponte Rocha  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Daniel Vasconcelos Goncalves  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus que sempre esteve e estará  
comigo.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus que em toda a sua grandiosidade sempre se mostrou presente nos momentos bons e ruins, nos dias que eu merecia e naqueles que eu não merecia, a Ele toda honra, glória e poder.

Aos meus pais, Enidaurio Matias e Isabel Bezerra, que abdicaram dos seus próprios sonhos para realizarem os meus, agradeço por não terem desistido mesmo quando as circunstâncias foram adversas, agradeço os ensinamentos e correções, foram eles que me trouxeram até aqui. As minhas irmãs, Vitória Gabriella e Sara Isabella que sempre me apoiaram e me incentivaram em todas as decisões, elas sempre acreditaram que eu conseguiria atingir todos os meus objetivos. A todos os meus familiares, avós, primos e tios em especial Raimunda Bezerra (*in memoriam*) Melquisedeq Matias, Nathan Matias, Alaene Oliveira e Mikaelton Matias.

Ao meu pastor Paulo Tércio (*in memoriam*) que sempre me ensinou a caminhar por fé e acreditar que Deus tem planos extraordinários para nossas vidas.

Aos meus amigos Rafael Lacerda, Matheus Giralde, Gabriel Martins, Kamylla Piery, Germano Silva, Cauê Cintra, Aline Reis, Elaine Guedes, Giovanna Firmino, João Victor, Miguel Gutemberg, Denes Souza que sempre me apoiaram. Aos meus amigos do Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos.

Aos meus professores da escola Pintando o Saber, do colégio Sedes Sapientia e Calhim Manoel Abud, assim como os professores da Etec Guaracy Silveira e Cursinho FEA-USP, todos eles fizeram de alguma forma parte da minha história e contribuíram para minha formação, agradeço também todos os professores do departamento de engenharia química da Universidade Federal do Ceará.

Em especial ao Prof. Dr. André Casimiro de Macedo por todo apoio ao longo de todos esses anos, espero que um dia ele consiga entender o tamanho do meu carinho, admiração e respeito, obrigado por ter me ensinado mais do que engenharia. Agradeço também Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Valdez Pontes Rocha por ter acreditado em mim quando eu já tinha desistido.

Aos professores participantes da banca examinadora pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

“A coisa mais difícil do mundo é descobrir o nosso propósito, a nossa missão na Terra. A segunda são os fenômenos de transportes.” (Autor desconhecido).

## RESUMO

O 2-feniletanol (2-FE) é um álcool aromático com aroma de rosas, utilizado nas indústrias de cosméticos, fragrâncias e alimentos. Esse composto pode ser produzido por diferentes vias, entre elas a biotecnológica, na qual a fermentação de um substrato, nesse caso o suco de caju, é realizada utilizando um microrganismo, *Kluyveromyces marxianus*. Esse processo é influenciado por vários fatores, entre eles poder-se-ia citar, a composição do meio de cultivo, agitação e aeração, apesar de ser uma alternativa promissora, os baixos valores de rendimentos encontrados ainda limitam esse processo alternativo de produção. Dessa forma, o presente trabalho buscou estimar utilizando modelos matemáticos e correlações os parâmetros de crescimento celular, agitação e transferência de oxigênio, visando a melhor compressão, otimização e posterior scale-up da produção. Os parâmetros de crescimento celular foram estimados partindo de uma análise da estequiometria, balanço de carga e termodinâmica de reação, os valores calculados sugerem que os valores experimentais estão distantes dos valores teóricos. A agitação e mistura foi simulada utilizando o software VisiMix™ sendo possível ter uma análise fluidodinâmica do processo. Por fim, encontrou-se as melhores correlações para estimativa do  $k_L a$ .

**Palavras-chave:** Composto aromático, processos fermentativos, fluidodinâmica.

## ABSTRACT

2-Phenylethanol (2-PE) is an aromatic alcohol with a rose-like fragrance, extensively used in the cosmetics, fragrance, and food industries. Its production can be achieved through various pathways, including biotechnological methods, where fermentation of a substrate, such as cashew juice, is carried out using a microorganism *Kluyveromyces marxianus*. However, this process is influenced by multiple factors, notably the composition of the culture medium, agitation, and aeration. Despite being a promising alternative, the low yields obtained still hinder the widespread implementation of this alternative production process. Therefore, this study aimed to estimate crucial parameters related to cell growth, agitation, and oxygen transfer using mathematical models and correlations to enhance understanding, optimize the process, and enable subsequent scale-up of production. Parameters related to cell growth were estimated based on stoichiometric analysis, charge balance, and reaction thermodynamics, with the calculated values suggesting a divergence from experimental results. The agitation and mixing process were simulated using the VisiMix™ software, enabling a comprehensive fluid dynamic analysis of the process. Finally, the study identified the most suitable correlations for estimating  $k_{La}$ , a key parameter in the process.

**Keywords:** Aromatic compound, fermentation processes, fluid dynamics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fórmula estrutural do 2-feniletanol. ....	25
Figura 2 -	Caju. ....	33
Figura 3 -	Biorreator de bancada utilizado no estudo. ....	44
Figura 4 -	Características geométrica do reator ....	45
Figura 5 -	Comportamento das principais velocidades em função da velocidade de agitação. ....	57
Figura 6 -	Comportamento dos tempos característicos e período de circulação em função da velocidade de agitação. ....	58
Figura 7 -	Potência de sistema não gaseificado ( $P_o$ ) do sistema em função da velocidade de agitação obtidos no VisiMix™. ....	59
Figura 8 -	Número de fluxo $F_L$ para as diferentes agitações e vazões de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	62
Figura 9 -	Potência de sistema gaseificado em função do número de fluxo aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	63
Figura 10 -	Razão entre potência de sistema gaseificado e sistema não gaseificado em função do número de fluxo aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	64
Figura 11 -	Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo $k_{La} = C.(P_G/V)^A.U_G^B$ com agitação de 250 RPM. ....	68
Figura 12 -	Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para as correlações mais aproximadas do tipo $k_{La} = C.(P_G/V)^A.U_G^B$ com agitação de 250 RPM. ....	68
Figura 13 -	Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo $k_{La} = C.(N/N_{CD})^A.U_G^B$ com agitação de 250 RPM. ....	71
Figura 14 -	Melhores correlações para o coeficiente de transferência de oxigênio em função da razão entre potência de agitação para sistema	

gaseificado e volume do líquido aplicadas ao sistema de cultivo	73
microbiano para produção de 2-FE. ....	

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características geométrica do reator (continua). .....	46
Tabela 2 -	Memorial de cálculo para parâmetros de crescimento celular. ....	48
Tabela 3 -	Dados experimentais para coeficiente de transferência de oxigênio na rotação de 250 RPM. ....	50
Tabela 4 -	Correlações para coeficiente de transferência de oxigênio para o modelo empírico (continua). ....	51
Tabela 5 -	Correlações para coeficiente de transferência de oxigênio para o modelo proposto por Yawalkar <i>et al</i> (2002). ....	53
Tabela 6 -	Memorial de cálculo para cálculo do coeficiente de transferência de oxigênio. ....	54
Tabela 7 -	Parâmetros termodinâmicos e de crescimento celular do modelo Black Box. ....	58
Tabela 8 -	Características geométrica para o tanque com fundo plano. ....	59
Tabela 9 -	Características geométrica do impelidor do tipo Rushton. ....	59
Tabela 10 -	Características geométrica do defletor plano 1. ....	60
Tabela 11 -	Parâmetros fluidodinâmicos obtidos no VisiMix™. ....	61
Tabela 12 -	Potência de sistema não gaseificado ( $P_o$ ) do sistema em função da velocidade de agitação aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	64
Tabela 13 -	Potência de sistema gaseificado ( $P_g$ ) em função da agitação e vazão de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	65
Tabela 14 -	Número de fluxo ( $F_L$ ) para as diferentes agitações e vazões de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	66

Tabela 15 - Razão entre potência de mistura e volume de líquido para rotação de 250 RPM em função da vazão de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	70
Tabela 16 - Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ com agitação de 250 RPM. ....	71
Tabela 17 - Agitação mínima requerida em função da vazão de ar com agitação de 250 RPM aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	74
Tabela 18- Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo $k_{La}=C.(N/N_{CD})^A.U_G^B$ com agitação de 250 RPM. ....	75
Tabela 19 - Melhores correlações para o coeficiente de transferência de oxigênio aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	77
Tabela 20 - Erro quadrático percentual das melhores correlações para o coeficiente de transferência de oxigênio aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE. ....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-FE	2-feniletanol
CTE	Capacidade de transporte de elétrons
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPE	Estado Pseudo- Estacionário
GPBio	Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
L-Phe	L-fenilalanina
pH	Potencial hidrogeniônico
RPM	Rotações por minutos

## LISTA DE SÍMBOLOS

N	Agitação
$N_{CD}$	Agitação mínima
$H_L$	Altura do líquido
$k_{La}$	Coefficiente de transferência de oxigênio
R	Constante universal dos gases
$B_w$	Diâmetro da chicana
$D_i$	Diâmetro do impelidor
$D_T$	Diâmetro do tanque/reator
$a_G$	Energia Gibbs necessária como entrada na síntese de 1 C-molX
$m_G$	Energia Gibbs necessários por hora para a manutenção de 1 C-molX
$C_i$	Folga do impelidor
$\gamma_x$	Grau de redução da biomassa
$\gamma$	Grau de redução de 1 mol de fonte de carbono
$\gamma_P$	Grau de redução do produto
$\gamma_S$	Grau de redução do substrato
W	Largura do impelidor
$F_L$	Número de fluxo
$NP_g$	Número de Potência Gasosa
b	Parâmetro de produção de produto anabólico
$P_o$	Potência sistema não-gaseificado
$P_g$	Potência sistema gaseificado
$q_p$	Produto anabólico
a	Quantidade de substrato utilizando para produzir 1 C-molX
$Y_{X/S}$	Rendimento de biomassa
$Y_{P/S}$	Rendimento de produto
$m_s$	Substrato necessário para a manutenção
$\mu_{Xmáx}$	Taxa de crescimento específico máxima
$\mu$	Taxa de produção de biomassa
$q_p$	Taxa de produção de metabólito
$q_{Gmáx}$	Taxa máxima de produção de energia
$q_s$	Taxa total de consumo de substrato

$\Delta_R G^\circ$	Varição da energia livre de Gibbs padrão da reação
$\Delta_{cat} G^\circ$	Varição da energia livre de Gibbs padrão da reação catalítica
$\Delta_R H^\circ$	Varição da entalpia padrão da reação
$\Delta_R S^\circ$	Varição da entropia padrão da reação
$U_g$	Velocidade superficial de gás no meio líquido
$V_L$	Volume do líquido
$V_T$	Volume do tanque/reator

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	19
2	OBJETIVOS .....	21
2.1	Objetivos gerais .....	21
2.2.	Objetivos específicos .....	21
3	REFERÊNCIAL TEÓRICO .....	22
3.1	Fragrâncias e aromas na indústria química .....	22
3.2	Processo fermentativo .....	24
3.3	Álcool 2-feniletanol .....	25
3.4	Processos de produção de 2-feniletanol .....	27
3.4.1	<i>Extração natural de 2-feniletanol</i> .....	27
3.4.2	<i>Síntese química de 2-feniletanol.</i> .....	28
3.4.3	<i>Produção biotecnológica de 2-feniletanol</i> .....	28
3.4.3.1	<i>Variáveis que influenciam a produção biotecnológica de 2-feniletanol</i> .....	29
3.5	Microrganismos produtores de 2-feniletanol .....	30
3.6	<i>Kluyveromyces marxianus</i> .....	31
3.6.1	<i>Kluyveromyces marxianus para a produção de 2-feniletanol</i> .....	31
3.7	<i>Substratos utilizados para produção de 2-feniletanol</i> .....	32
3.8	Caju e a sua importância .....	33
3.8.1	<i>Caju em processos fermentativos</i> .....	35
3.8.1.1	<i>Caju em processos fermentativos com K. marxianus</i> .....	36
3.9	Parâmetros de crescimento celular .....	37
3.10	Agitação em processos fermentativos .....	39
3.11	Transferência de oxigênio em processos fermentativos .....	41
3.12	Técnicas de scale-up .....	43
4	METODOLOGIA .....	45
4.1	Obtenção de dados experimentais do processo fermentativo .....	45
4.2	Estimativa dos parâmetros de crescimento celular .....	47
4.3	Estimativa dos parâmetros de agitação de mistura e transferência de oxigênio .....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	55
5.1	Obtenção de dados experimentais do processo fermentativo .....	55

5.2	Estimativa dos parâmetros de crescimento celular .....	56
5.3	Estimativa dos parâmetros de agitação de mistura e transferência de oxigênio .....	59
5.3.1	Características de Mistura, Bombeamento e Agitação do Sistema .....	59
5.3.2	<i>Potência Consumida pelo Sistema de Agitação e Mistura</i> .....	63
5.3.3	<i>Estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio</i> .....	69
5.3.3.1	<i>Modelo empírico</i> .....	69
5.3.3.2	<i>Modelo proposto por Yawalkar et al (2002)</i> .....	74
5.3.3.3	<i>Melhores resultados obtidos para estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio</i> .....	76
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	79
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	81
	<b>ANEXO A</b> .....	91
	<b>ANEXO B</b> .....	100
	<b>APÊNDICE A</b> .....	102

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria química desempenha um papel fundamental na produção de fragrâncias e aromas. Segundo Gülçin *et al.* (2017), compostos aromáticos, como o 2-feniletanol, são amplamente utilizados na perfumaria, cosméticos e indústrias alimentícias devido às suas propriedades olfativas.

A obtenção do 2-feniletanol pode ser realizada por meio de processos de extração natural, síntese química ou processos fermentativos, sendo este último de interesse crescente devido à sua vertente biotecnológica, menor custo quando comparado com os demais e menor impacto ambiental. Conforme mencionado por Carvalho *et al.* (2018), a produção biotecnológica de compostos aromáticos tem recebido atenção especial devido à sua sustentabilidade e possibilidade de utilização de matérias-primas renováveis.

Microrganismos desempenham um papel crucial na conversão de substratos em produtos desejados. A *Kluyveromyces marxianus* tem sido destacada como um microrganismo promissor para a produção de 2-feniletanol devido à sua capacidade de crescimento rápido e versatilidade metabólica (Macedo *et al.*, 2020).

A escolha adequada do substrato é um fator determinante para a eficiência da produção biotecnológica de 2-feniletanol (Costa, 2018). O caju (*Anacardium occidentale L.*) tem se destacado como uma fonte promissora devido à sua abundância, baixo valor econômico e composição química rica em nutrientes, como destacado por Bezerra *et al.* (2019).

Para otimizar a produção biotecnológica de 2-feniletanol, é necessário compreender e controlar as variáveis que influenciam esse processo. Parâmetros como crescimento celular, agitação e transferência de oxigênio desempenham um papel crucial na eficiência e rendimento da produção (Bessa *et al.*, 2021).

Este trabalho abordará os diferentes processos de produção de 2-feniletanol, incluindo a extração natural, a síntese química e a produção biotecnológica. Serão discutidos os microrganismos produtores de 2-feniletanol, com ênfase na *Kluyveromyces marxianus*, bem como os substratos utilizados, com destaque para o caju. Além disso, serão exploradas as variáveis que influenciam a produção

biotecnológica de 2-feniletanol, com foco nos parâmetros de crescimento celular, agitação e transferência de oxigênio.

Além dos pontos supracitados, o trabalho buscará usar modelos matemáticos, correlações e/ou programas computacionais para calcular os parâmetros teóricos dos coeficientes de crescimento celular, agitação/mistura e transferência de oxigênio. Essa abordagem visa buscar a otimização do processo de produção por meio da comparação dos valores teóricos com os valores experimentais obtidos, esse processo ajudará no processo de *scale up* da produção de 2-feniletanol utilizando a levedura *Kluyveromyces marxianus* com suco de caju como fonte de carbono.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo gerais

Esse trabalho tem como principal objetivo calcular os coeficientes de crescimento celular, agitação  $a$  e transferência de oxigênio para o processo fermentativo de produção de 2-feniletanol utilizando suco de caju.

### 2.2 Objetivos específicos

- Entender os processos de produção de 2-feniletanol, as alternativas, variáveis e suas influências;
- Estimar a taxa de crescimento celular e geração de energia utilizando o modelo *Black Box*;
- Especificar as características do sistema utilizado no cultivo fermentativo, a partir desses dados realizar a simulação para a agitação e mistura, utilizando o aplicativo VisiMix Turbulent SV;
- Encontrar na literatura correlações para o coeficiente de transferência de oxigênio  $k_{La}$ , determinar qual das correlações se adequa aos dados experimentais;
- Comparar os resultados estimados, com os valores experimentais, após essas análises; e
- Sugerir nossas estratégias de fermentação.

### 3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Fragrâncias e aromas na indústria química

Fragrância é um termo associado a produtos de cuidados pessoais, como perfumes, colônias, loções e produtos para banho. Refere-se a um cheiro agradável que é produzido por uma combinação de óleos essenciais e/ou perfumados. A fragrância é projetada para ser aplicada no corpo ou em objetos, como roupas, para proporcionar um cheiro agradável (Schieberle *et al.*, 2009). Segundo o mesmo autor, aroma é frequentemente usado no contexto alimentar. Refere-se ao cheiro característico de alimentos e bebidas, seja natural ou decorrente do processo de cozimento, preparação ou fermentação.

Em ambos os casos, tanto na produção de fragrâncias quanto de aromas, a indústria química desempenha um papel importante na criação e no desenvolvimento dos processos de produção dessas substâncias. Elas são criadas por meio de processos químicos e envolvem a síntese de compostos voláteis que possuem cheiros distintos. A produção de fragrâncias começa com a seleção de matérias-primas, que podem incluir óleos essenciais naturais, extratos vegetais, produtos químicos sintéticos e uma variedade de compostos aromáticos (Wrolstad, 2012).

Os compostos supracitados podem ser classificados em matérias-primas naturais que incluem óleos essenciais extraídos de plantas, como lavanda, rosas, baunilha e citros. Essas matérias-primas podem ser obtidas por destilação, prensagem a frio ou extração por solventes. Já os compostos químicos sintéticos: são criados em laboratórios por meio de sínteses químicas. Esses compostos podem ser modificados para obter uma variedade de aromas diferentes.

A indústria química desenvolveu uma vasta gama de substâncias aromáticas que são usadas na produção de fragrâncias (Barros, 2007). Esses compostos incluem álcoois, aldeídos, ésteres, dicarbonilos curtos e médios, ácidos graxos de cadeia livre, metilcetonas, lactonas, compostos fenólicos e compostos de enxofre. Cada uma dessas classes de compostos contribui para a formação do aroma característico de diferentes alimentos (Palitot, 2016).

Os álcoois, como o álcool etílico, são encontrados em bebidas alcoólicas e adicionam notas de álcool, frutas maduras e sabores fermentados. Os aldeídos, como o acetaldeído e o benzaldeído, proporcionam aromas de nozes, frutas e notas

amanteigadas. Os ésteres, formados pela reação de ácidos carboxílicos com álcoois, são responsáveis por aromas frutados e doces, sendo o éster etílico do ácido acético responsável pelo aroma de maçãs (Machado, 2011).

Outro exemplo são os dicarbonilos curtos e médios são encontrados em alimentos fermentados e conferem aromas de manteiga, caramelo e tostado. Os ácidos graxos de cadeia livre, presentes em queijos, contribuem para os aromas de queijo, manteiga e ranço. As metilcetonas, encontradas em frutas, proporcionam aromas frutados e florais, enquanto as lactonas, compostos cíclicos presentes em frutas como pêssegos e abacaxis, conferem aromas frutados, cremosos e de coco (Machado, 2011).

Por fim, poder-se-ia citar os compostos fenólicos, como o eugenol encontrado no cravo-da-índia, contribuem com aromas picantes, de especiarias e terrosos. Os compostos de enxofre, como o alhoeno, o dissulfeto de alilo e o sulfeto de metila, são responsáveis pelos aromas característicos de alho, cebola e vegetais crucíferos (Machado, 2011).

De acordo com um relatório realizado pela International Fragrance Association (IFRA) aponta que as vendas da indústria de fragrâncias passam de 7,3 bilhões de euros ao ano. “O Brasil é o mercado número um do mundo em consumo por unidades de fragrâncias. Já em termos de valor, é o segundo maior, ficando atrás os Estados Unidos e à frente da Alemanha, França e Reino Unido” (Johnny, 2022).

Outros estudos apontam que existe uma tendência de crescimento para o mercado de fragrâncias e aromas, no entanto os últimos anos, houve uma tendência crescente em todo o mundo em direção à preferência por produtos naturais em várias áreas, incluindo alimentos, cosméticos, produtos de cuidados pessoais e limpeza doméstica. Essa tendência reflete uma maior conscientização dos consumidores sobre os benefícios dos ingredientes naturais e uma preocupação crescente com a saúde, o bem-estar pessoal e o meio ambiente (Telles, 2020).

Essa preferência por produtos naturais tem impulsionado o crescimento do mercado de cosméticos naturais, produtos de cuidados pessoais orgânicos, alimentos orgânicos e limpeza doméstica ecologicamente correta. As empresas estão respondendo a essa demanda, lançando novas linhas de produtos naturais e promovendo a reformulação de produtos existentes para atender às expectativas dos consumidores (Souza, 2015).

A fermentação é vista como uma alternativa sustentável e ecológica aos processos químicos tradicionais, pois depende de microrganismos naturais e pode utilizar recursos renováveis e até mesmo resíduos. O processo de fermentação continua a encontrar novas aplicações e avanços na biotecnologia. Os pesquisadores estão explorando maneiras de otimizar os processos de fermentação, desenvolver novas cepas de microrganismos e projetar caminhos para produzir os compostos desejados com eficiência e sustentabilidade (Maicas, 2020).

### **3.2 Processo fermentativo**

Segundo Lee (2018), a síntese microbiana, também conhecida como bioprodução, está ganhando destaque como uma alternativa aos processos tradicionais de síntese química. Os microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos, são utilizados como "fábricas vivas" para produzir uma variedade de produtos de interesse industrial, entre esses processos destacasse a fermentação.

A fermentação é um processo biotecnológico antigo e versátil, utilizado pelo homem há milhares de anos. Envolve a conversão de açúcares em outros produtos, como álcool, ácidos, gases e diversos compostos bioquímicos, por meio da ação de microrganismos (Taveira *et al.*, 2021)

A fermentação é amplamente utilizada em aplicações industriais para produzir uma ampla gama de produtos. É empregado na produção de biocombustíveis, como o etanol, que pode ser derivado de fontes vegetais renováveis. A fermentação industrial também desempenha um papel crucial na produção de enzimas, produtos farmacêuticos, ácidos orgânicos, aminoácidos, vitaminas e outros compostos valiosos tais como os aromas supracitados (Yafetto, 2022; Mengesha *et al.*, 2022).

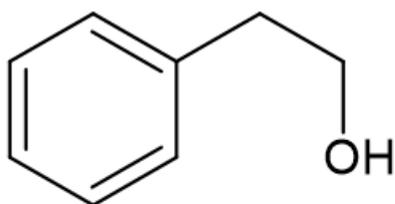
A fermentação desempenha um papel crucial na geração de aromas e fragrâncias. Durante o processo de fermentação, microrganismos, como leveduras e bactérias, metabolizam os nutrientes presentes nos ingredientes, resultando na produção de compostos voláteis que contribuem para os aromas característicos desses produtos. Ou seja, os microrganismos convertem os carboidratos presentes nos ingredientes em diferentes produtos metabólicos, como ácidos, ésteres, aldeídos e principalmente os álcoois superiores, tais como, o propanol, 2-metilpropano, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol e 2-feniletanol. (Oliveira, 2013; Palitot, 2016; Costa, 2018).

A presença de diferentes cepas de leveduras e bactérias durante a fermentação pode levar a interações complexas e sinérgicas entre os microrganismos. Essas interações podem resultar na produção de compostos voláteis adicionais e contribuir para a diversidade aromática do produto final. É válido mencionar que não somente os tipos de cepas de microrganismos utilizadas são importantes, faz-se necessário o controle adequado dos parâmetros de fermentação, como temperatura, tempo e composição do mosto ou da matéria-prima, é essencial para obter os perfis de aroma desejados. Pequenas variações nesses parâmetros podem levar a diferenças significativas nos aromas e sabores resultantes (Mengesha *et al.*, 2022).

### 3.3 Álcool 2-feniletanol

Entre os aromas citados, poder-se-ia destacar o álcool 2-feniletanol, fórmula estrutural conforme a Figura 1, produto de interesse desse trabalho. é um composto aromático comumente encontrado em várias plantas e alimentos, e também é utilizado na indústria de fragrâncias devido ao seu agradável aroma floral.

**Figura 1** – Fórmula estrutural do 2-feniletanol.



Fonte: Elaborado pelo autor

O 2-feniletanol pode ser encontrado em flores como rosas, jasmims, lírios e violetas (Boelens, 1991). Outro autor, Choi *et al.* (2004), relata que o 2-FE também pode ser encontrado em óleos essenciais de várias plantas, como rosas, gerânios e lavanda e é comumente utilizado na indústria de fragrâncias. Os autores mencionam que o 2-feniletanol tem um aroma floral agradável e é frequentemente utilizado como componente em fragrâncias e perfumes (Garavaglia, 2006). Segundo Miyazawa (2002) o 2-FE possui um odor doce e floral, sendo amplamente utilizado na indústria de fragrâncias para criar perfumes com notas florais distintas.

O 2-FE, um álcool aromático, desempenha um papel essencial na indústria alimentícia, sendo amplamente utilizado em várias aplicações. Uma delas é na produção de bebidas, aonde o 2-feniletanol é empregado para adicionar um aroma floral e doce a refrigerantes, coquetéis, chás aromatizados e vinhos. Essa adição contribui para a complexidade sensorial dessas bebidas, tornando-as mais agradáveis ao paladar (Górnaś, & Rudzińska, 2014).

Além disso, o 2-feniletanol encontra aplicação na indústria de produtos de panificação, sendo adicionado às massas de bolos, biscoitos e pães. No segmento de sobremesas, o 2-FE é utilizado em preparações como sorvetes, mousses e pudins. Por fim, na confeitaria, o 2-FE é utilizado para conferir um aroma e sabor distintos em doces, chocolates e balas (Parfums D'Orsay, 2018).

O 2-feniletanol é utilizado como substrato para a síntese de outros sabores e compostos farmacêuticos. Um exemplo disso é o feniletil éster de etilo, que é um éster formado pela reação do 2-FE com ácido acético ou anidrido acético. Esse composto possui um aroma frutado e também é amplamente utilizado na indústria de alimentos e bebidas como um agente aromatizante (Hua & Xu, 2011).

Dentre os aromas produzidos por processo microbiológico, como a vanilina, cumarina, pirazina, o 2-feniletanol apresenta atualmente um grande interesse industrial, sobretudo pelo seu amplo emprego na formulação de produtos e pelo seu elevado custo de mercado, que varia em torno de US\$ 1000 / kg. (Xu *et al.*, 2007).

De acordo com Tian *et al.* (2015) por ser um aroma delicado o 2-FE é o segundo aroma mais usado depois da vanilina, a produção anual desse aroma é cerca de 10.000 toneladas. Atualmente o método mais utilizado para a produção do álcool em questão é a síntese química que apresentam várias desvantagens e riscos ao meio ambiente. Como alternativa, busca-se a recuperação do 2-FE a partir de resíduos, como subprodutos da indústria alimentícia ou agrícola. Essa abordagem tem o objetivo de reduzir custos e aproveitar subprodutos que, de outra forma, seriam descartados.

### 3.4 Processos de produção de 2-feniletanol

#### 3.4.1 Extração natural de 2-feniletanol

A extração natural de 2-FE é um processo pelo qual esse composto aromático é obtido a partir de fontes naturais, como plantas e flores. Existem várias plantas e flores que são conhecidas por conterem 2-feniletanol em sua composição. Uma das fontes mais comuns é a rosa (rosa damascena). As pétalas dessa rosa contêm quantidades significativas de 2-feniletanol.

A extração natural de 2-FE pode ser realizada de diferentes maneiras, dependendo da fonte utilizada. No caso das rosas, uma técnica comumente empregada é a destilação por arraste de vapor. Nesse processo, as pétalas são submetidas a um fluxo de vapor d'água, que carrega consigo os compostos voláteis, incluindo o 2-feniletanol. O vapor é então condensado e o líquido resultante contém o composto desejado, que pode ser isolado e purificado posteriormente.

Além das rosas, outras flores e plantas também podem ser utilizadas na extração de 2-feniletanol. Por exemplo, o jasmim e o gerânio são conhecidos por conterem esse composto em sua composição. O processo de extração pode variar de acordo com a planta utilizada, mas a destilação por arraste de vapor é um método comum para a obtenção desse composto aromático. Após a extração, o 2-FE pode passar por etapas de purificação e refinamento para obter um produto final de alta qualidade e pureza. Isso é particularmente importante para aplicações na indústria de perfumes e fragrâncias, onde a qualidade e a consistência do aroma são fundamentais (Tylewicz *et al.*, 2017).

A extração natural de 2-feniletanol oferece várias vantagens em relação à síntese química do composto. Além de ser um processo mais sustentável e ecologicamente correto, a extração de fontes naturais pode resultar em um produto com uma gama mais ampla de compostos aromáticos e uma fragrância mais complexa e rica. Isso se deve ao fato de que as plantas contêm uma variedade de compostos voláteis que contribuem para o perfil olfativo final. No entanto, os rendimentos não são favoráveis e não justificam os custos da extração, apesar do óleo essencial de rosa conter 60 % v/v desse aroma, tendo também o alto custo como um dos gargalos (Etschmann *et al.*, 2004; Oliveira, 2010).

### 3.4.2 Síntese química de 2-feniletanol

A síntese química de 2-feniletanol é um processo que envolve a produção desse composto aromático por meio de reações químicas específicas. Existem diferentes rotas sintéticas para a produção de 2-FE, sendo uma das mais comuns a síntese de Grignard. Nesse método, o brometo de fenilmagnésio ( $C_6H_5MgBr$ ) é preparado a partir do bromobenzeno ( $C_6H_5Br$ ) e do magnésio (Mg), em uma reação de adição nucleofílica. Em seguida, o brometo de fenilmagnésio reage com um aldeído, geralmente o acetaldéido ( $CH_3CHO$ ), formando o 2-feniletanol como produto final (Mei *et al.*, 2009).

Outra rota sintética comumente empregada é a redução catalítica de cetonas aromáticas. Nesse processo, uma cetona aromática, como a acetofenona ( $C_6H_5COCH_3$ ), é reduzida utilizando-se um agente redutor, como o hidrogênio ( $H_2$ ), em presença de um catalisador, geralmente um metal nobre como o paládio (Pd) ou platina (Pt). A redução resulta na formação do 2-feniletanol como produto principal (Rezende, 2016).

A síntese química do 2-FE permite obter esse composto de forma controlada e com alto rendimento. No entanto, é necessário considerar que a síntese química envolve o uso de reagentes e condições específicas, podendo gerar subprodutos indesejados ou resíduos químicos. Portanto, é essencial adotar boas práticas de segurança e minimizar os impactos ambientais durante o processo de síntese (Kumar, 2019).

### 3.4.3 Produção biotecnológica de 2-feniletanol

As vias metabólicas desses microrganismos permitem a conversão de precursores, como aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), em 2-feniletanol. Por exemplo, certas leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, são conhecidas por possuir enzimas que catalisam a transformação de fenilalanina em 2-FE. Essa capacidade de produção pode ser explorada para obter 2-feniletanol de forma sustentável e econômica.

A produção de 2-FE por microrganismos oferece várias vantagens em comparação com métodos de síntese química. Primeiramente, é uma abordagem mais ambientalmente “amigável”, pois evita o uso de solventes orgânicos tóxicos e

reações químicas complexas. Além disso, os microrganismos podem ser cultivados em grande escala, permitindo a produção em larga escala de 2-feniletanol.

A produção de 2-FE por microrganismos, especialmente leveduras, é limitada devido à baixa concentração desse aroma no meio de cultura. No entanto, é possível melhorar a produção adicionando L-fenilalanina (L-Phe) ao meio, que é convertida em 2-feniletanol pelo caminho de Ehrlich (Etschmann *et al.*, 2004). Concentrações adequadas de L-fenilalanina e a ausência de outras fontes de nitrogênio são necessárias para direcionar o metabolismo das leveduras para a rota de Ehrlich (Eshkol *et al.* 2009) A L-fenilalanina é transaminada para fenilpiruvato por uma enzima transaminase, descarboxilada para fenilacetaldeído por fenilpiruvato descarboxilase e, em seguida, reduzida a 2-FE por uma enzima desidrogenase. O fenilacetaldeído também pode ser convertido em fenilacetato por uma enzima desidrogenase (Hua, 2011).

Outra rota que pode ser utilizada para a produção do aroma de interesse é a Via Xikimato sendo um processo biotecnológico promissor que envolve a utilização de enzimas para a conversão de substratos naturais em 2-FE. Essa via metabólica foi descoberta em bactérias e apresenta potencial para a produção sustentável de compostos aromáticos (Costa, 2018). Diversos estudos têm sido conduzidos para otimizar a produção de 2-FE pela Via Xikimato. Estratégias de engenharia metabólica e biologia sintética são aplicadas para melhorar a atividade enzimática, aumentar a eficiência do processo e maximizar os rendimentos de produção. Além disso, a utilização de microrganismos hospedeiros adequados e a otimização das condições de fermentação são aspectos cruciais para a obtenção de altos níveis de 2-FE. A vantagem desse método é que ela permite o uso de substratos naturais, como a glicose, que são mais sustentáveis e renováveis. Além disso, a utilização de enzimas específicas permite uma maior seletividade na produção do 2-FE, evitando a formação de subprodutos indesejados (Chen, 2018).

#### *3.4.3.1 Variáveis que influenciam a produção biotecnológica de 2-feniletanol.*

A otimização das condições de fermentação, como pH, temperatura, concentração de nutrientes e oxigênio disponível, desempenha um papel crucial na produção eficiente de 2-feniletanol. Os pesquisadores estão investigando diferentes cepas de microrganismos, bem como o uso de técnicas de engenharia genética, para

melhorar a produção e a eficiência desse composto. Por meio da modificação genética dos microrganismos produtores, é possível obter 2-feniletanol com diferentes propriedades aromáticas, ampliando as opções para sua aplicação em alimentos, bebidas e fragrâncias (Angelov & Gotcheva, 2012).

### 3.5 Microrganismos produtores de 2-feniletanol

Existem diferentes espécies de microrganismos que têm a capacidade de produzir 2-feniletanol. Alguns exemplos incluem:

Leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida sp.* e *Kluyveromyces marxianus* que são conhecidas por serem capazes de produzir 2-feniletanol durante a fermentação. Essas leveduras convertem aminoácidos, como fenilalanina e tirosina, em 2-FE por meio de suas vias metabólicas (Beltran, 2017; Liu, 2016; Rocha-Leão 2019; Navarro & Dequin 2021). Bactérias também são capazes de produzir 2-FE. Por exemplo, a espécie de bactéria *Bacillus cereus* tem sido relatada como um produtor de 2-feniletanol em certas condições de fermentação (Ezeji, 2015). Fungos podem produzir 2-feniletanol como parte de seu metabolismo. Por exemplo, o fungo *Pleurotus ostreatus*, conhecido como cogumelo ostra, foi relatado como produtor de 2-FE durante a fermentação (Guzmán -2009).

Poder-se-ia citar outros microrganismos, entre eles, *Candida albicans* e *Eubacterium limosum* se destacam como notáveis produtores desse álcool aromático. A enzima fenilalanina descarboxilase presente em *C. albicans* e a tirosina descarboxilase encontrada em *E. limosum* são cruciais para esses processos metabólicos, convertendo, respectivamente, L-fenilalanina e L-tirosina em 2-feniletanol (Zhang *et al.* 2021).

Além dos microrganismos naturalmente produtores, a engenharia genética e biologia sintética têm desempenhado um papel fundamental no aumento da produção de 2-feniletanol. Li *et al.* (2020) enfatizam o potencial dessas abordagens em estudos que visam melhorar a eficiência dos processos de síntese aromática. Através da modificação genética de microrganismos, é possível otimizar vias metabólicas e direcionar a produção de compostos desejados, incluindo o 2-feniletanol.

Huang *et al.* (2021) relataram a descoberta de uma nova cepa de *Candida tropicalis*, demonstrando capacidade de produção de 2-feniletanol. Essa cepa em

particular foi alvo de estudos integrados, abordando aspectos de fermentação e condições de cultivo, visando a eficiente produção desse composto aromático.

### **3.6 *Kluyveromyces marxianus***

Lane (2017) destaca a importância crescente de *Kluyveromyces marxianus* como uma levedura de interesse científico e industrial. O autor discute suas características genéticas, capacidade metabólica e aplicação em diversas áreas, como produção de bioenergia, alimentos fermentados e produtos químicos. Branco (2015) discute o potencial de *Kluyveromyces marxianus* como um hospedeiro para a produção de proteínas heterólogas, destacando a capacidade desse microrganismo de produzir proteínas complexas e sua aplicação na indústria de biotecnologia.

Fonseca (2008) enfatiza o potencial biotecnológico da *K. marxianus*, ele discute suas características metabólicas, capacidade de fermentação, produção de enzimas, metabolitos e sua aplicação em diferentes setores, como produção de bioetanol, alimentos e produtos farmacêuticos.

*K. marxianus* é uma espécie de levedura conhecida por sua capacidade de produzir 2-feniletanol durante a fermentação. “Essa espécie de levedura tem sido amplamente estudada por suas aplicações biotecnológicas, incluindo a produção de diversos metabolitos e compostos bioativos” (Silva *et al.*, 2019).

#### **3.6.1 *Kluyveromyces marxianus* para a produção de 2-feniletanol**

Dentre as leveduras produtoras de 2-FE, a *K. marxianus* apresenta um bom desempenho para a formação deste composto, pois é uma cepa reconhecida como segura, ou seja, não patogênica, mostra a capacidade de metabolizar um amplo espectro de substratos, possuem um efeito Crabtree-negativo, que é uma vantagem, pois implica na reduzida produção de etanol em condições aeróbias (Fonseca *et al.*, 2008).

Diversos estudos científicos foram realizados para avaliar o potencial de produção de 2-feniletanol utilizando a levedura *Kluyveromyces marxianus*. Entre esses estudos, alguns se destacam:

Em um estudo realizado por Shi *et al.* (2019), foi investigada a produção de 2-FE por *Kluyveromyces marxianus*, utilizando glicose e licor de milho como substratos,

os pesquisadores otimizaram as condições de fermentação. Esse trabalho ressaltou a viabilidade de utilizar resíduos agrícolas, como o licor de milho, como fonte de nutrientes para a produção desse composto.

Huang *et al.* (2017) realizaram um estudo no qual produziram 2-feniletanol por *K. marxianus*, utilizando glicose como única fonte de carbono. Através da otimização das condições de cultivo, eles conseguiram aumentar significativamente a produção do composto. Esse trabalho ressaltou a importância da seleção de linhagens de leveduras e das condições de cultivo para a melhoria da produção de 2-FE.

Outro estudo relevante foi realizado por Han *et al.* (2019), no qual eles desenvolveram a superexpressão de genes envolvidos na biossíntese de 2-FE em *Kluyveromyces marxianus*, com o objetivo de produzir um aroma semelhante ao de rosas. Os pesquisadores conseguiram aumentar a produção de 2-FE e alcançar um perfil aromático desejado, demonstrando o potencial da engenharia genética para modular as propriedades sensoriais desse composto.

Li *et al.* (2018) criaram uma cepa de *Kluyveromyces marxianus* geneticamente modificada para a produção eficiente de 2-feniletanol. Manipulando as vias metabólicas da levedura, eles conseguiram aumentar significativamente a produção do composto.

Esses estudos evidenciam o crescente interesse e as diferentes abordagens utilizadas para aprimorar a produção de 2-FE utilizando *Kluyveromyces marxianus* como microrganismo.

### **3.7 Substratos utilizados para produção de 2-feniletanol**

Na fermentação, o substrato refere-se à matéria-prima ou fonte de carbono utilizada pelos microrganismos para o metabolismo e produção de produtos desejados. O substrato é geralmente um composto orgânico rico em carbono, como açúcares, amido, celulose, gorduras, hidrocarbonetos ou outros compostos complexos (Olsson & Nielsen, 2015).

Durante o processo de fermentação, os microrganismos utilizam enzimas para quebrar o substrato em moléculas menores, que são então convertidas em produtos finais desejados, como álcool, ácidos orgânicos, enzimas, aromas, entre outros (Pandey *et al.* 2000).

A escolha do substrato na fermentação pode ter um impacto significativo no rendimento, na produtividade e nas características do produto final. Portanto, é importante selecionar o substrato adequado com base nas propriedades desejadas do produto, nas características do microrganismo utilizado e na disponibilidade e viabilidade econômica do substrato (Olsson & Nielsen, 2015).

Ao explorar diferentes fontes de carbono, é possível encontrar alternativas sustentáveis e econômicas para a produção de 2-feniletanol, diversos estudos avaliaram a possibilidade e viabilidade de produção desse aroma utilizando novos substratos. Shi *et al.* (2019) investigou a produção de 2-feniletanol por *Kluyveromyces marxianus* usando glicose e licor de milho como substratos. Outros estudos como Huang *et al.* (2017), Niu *et al.* (2017) e Han *et al.* (2019) utilizaram glicose como única fonte de carbono, bagaço de cana-de-açúcar também foi utilizado como substrato para a produção de 2-FE utilizando *K. marxianus* por Jin *et al.* (2019), até mesmo subprodutos da indústria de laticínios, como soro de leite e permeado de soro de leite foram utilizados como substratos (MA *et al.*, 2018).

Hidrolisados de biomassa de algas (Lee *et al.*, 2019), hidrolisados de resíduos de amido de batata (Huang *et al.*, 2018) e hidrolisados de bagaço de azeitona (Díaz-Pérez *et al.*, 2018) são outros estudos que visaram atingir os objetivos supracitados. Por fim, poder-se-ia citar Palitot (2016) e Costa (2018) que estudaram a viabilidade de produção de 2-FE utilizando suco de caju como fonte de carbono.

### **3.8 Caju e a sua importância**

A castanha do caju é o principal produto explorado do cultivo do caju, enquanto o pedúnculo (pseudofruto) é geralmente pouco aproveitado. O caju, Figura 2, é uma fruta nativa da América Tropical e está presente em diversos países da Ásia, África e América Central. Brasil, Índia, Vietnã, Nigéria e Costa do Marfim se destacam na produção de caju. A fruta pode ser encontrada nas cores amarelo, laranja e vermelho, com uma massa variando de 40 g a 80 g e comprimento de 60 mm a 100 mm. A proporção média entre a castanha e o pedúnculo é de aproximadamente 10 % e 90 %, respectivamente, em peso (Daramola, 2013).

**Figura 2 – Caju.**



Fonte: CEAGESP

A produção de caju é composta principalmente pela colheita da castanha de caju, que é o principal produto comercial do cajueiro. A castanha é utilizada para consumo *in natura*, produção de castanha de caju torrada e salgada, além de ser um ingrediente em diversos produtos alimentícios, como doces, sobremesas e pratos salgados (Pinheiro *et al.*, 2006).

Além da castanha, o pedúnculo do caju (também chamado de pseudofruto) também pode ser aproveitado na produção de sucos, néctares, geleias, compotas e outros produtos alimentícios. O pedúnculo é rico em constituintes voláteis, como ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e éteres, que conferem um sabor e aroma exótico característico. Além disso, apresenta uma concentração de ácido ascórbico cerca de quatro a dez vezes maior do que a encontrada em sucos de laranja e abacaxi (Costa, 2018). O pedúnculo do caju também contém compostos fenólicos, como leucodelfinidina, ácido anacárdico, cardol, taninos e terpenoides, que são conhecidos por suas propriedades antioxidantes.

De acordo com os dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a safra de caju em 2022 apresentou um panorama favorável, evidenciando a retomada do desenvolvimento da cadeia produtiva. A produção nacional de castanha de caju atingiu a marca de 146.603 toneladas, o que representa um aumento de 33 % em relação à safra anterior, que registrou 110.570 toneladas.

Esse desempenho sinaliza um avanço significativo e é o melhor resultado obtido pelo setor desde 2018.

Segundo o mesmo órgão, o estado do Ceará lidera a produção de caju no Brasil, apresentou um incremento de 52 % em relação à safra anterior, passando de 62.977 toneladas em 2021 para 95.758 toneladas no último ano. Além do aumento absoluto na produção, também houve um incremento no rendimento, que subiu de 233 quilos por hectare para 354 quilos por hectare.

Esses dados indicam uma tendência de crescimento e fortalecimento da produção de castanha de caju no Brasil. Esse avanço pode ser atribuído a fatores como investimentos em tecnologia agrícola, adoção de melhores práticas de cultivo, utilização de variedades mais produtivas e condições climáticas favoráveis (EMBRAPA, 2022).

No entanto, o aproveitamento do pedúnculo ainda é limitado em comparação com a castanha. A ampliação do aproveitamento do pedúnculo requer investimentos em pesquisa, desenvolvimento de tecnologias de processamento e divulgação dos benefícios nutricionais desse recurso ainda pouco explorado.

### **3.8.1 Caju em processos fermentativos**

Diversos estudos têm investigado a fermentação do suco de caju e o aproveitamento de seus subprodutos na produção de diferentes compostos e enzimas de valor agregado. Halmenschlager *et al.* (2018) analisou a fermentação do suco de caju por *Saccharomyces cerevisiae*, examinando o efeito da suplementação de nutrientes na produção de biomassa e no rendimento de etanol. Duarte *et al.* (2008) investigou a produção de compostos voláteis durante a fermentação do suco de caju por *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida sp.*, constatando a contribuição dessas leveduras para o aroma e sabor característicos do suco fermentado.

Os trabalhos de Dantas-Barros *et al.* (2019) e Fernandes *et al.* (2020) avaliaram os parâmetros e a cinética da fermentação alcoólica do suco de caju por *Saccharomyces cerevisiae*, estudando o efeito da temperatura, concentração de açúcar e inoculação de levedura na produção de etanol. Além disso, Martins *et al.* (2015) investigaram a fermentação do suco de caju por diferentes leveduras,

observando diferenças significativas no crescimento e na produção de compostos voláteis.

A produção de ácido láctico a partir do suco de caju por *Lactobacillus plantarum* foi explorada por Pereira *et al.* (2015), otimizando as condições de fermentação para maximizar a produção desse composto de valor agregado. Correia *et al.* (2013) investigaram a produção de bioetanol a partir do bagaço de caju, utilizando um pré-tratamento com ácido diluído e hidrólise enzimática, buscando melhorar a eficiência da conversão do bagaço em bioetanol.

Outros estudos abordaram a fermentação do suco de caju por *Saccharomyces cerevisiae*, analisando a influência de fatores como fonte de nitrogênio e oxigenação na produção de etanol e qualidade da bebida destilada (Souza, 2019; Rocha 2014). Prabhu *et al.* (2017) focaram na fermentação do suco de caju utilizando o mesmo microrganismo supracitado, destacando a importância do controle dos parâmetros de processo para otimizar a produção de etanol e obter um produto de qualidade. Oliveira *et al.* (2013) realizou um estudo do suco de caju como meio de cultivo microbiano para produção de ácido hialurônico não imunogênico.

Além disso, pesquisas têm explorado o uso do suco de caju e do bagaço como substrato para a produção de substâncias inibitórias semelhantes a bacteriocinas por *Lactobacillus plantarum* (Marques Júnior *et al.*, 2021). Barros *et al.* (2017) ressaltaram a valorização biotecnológica do caju por meio da produção de pectinase a partir dos subprodutos da fruta, apontando que os resíduos do caju podem e devem ser reaproveitados. Suco natural de caju como meio de fermentação para produção de biossurfactante por *Acinetobacter calcoaceticus* foi avaliado também por Rocha *et al.* (2006), assim como a avaliação do pré-tratamento ácido diluído em bagaço de caju para produção de etanol e xilitol (Rocha *et al.* 2014).

#### 3.8.1.1 Caju em processos fermentativos com *K. marxianus*

Os trabalhos de Silva *et al.* (2019), Santos *et al.* (2020) e Menezes *et al.* (2020) avaliaram a produção de etanol utilizando *Kluyveromyces marxianus* como uma levedura potencial para a fermentação do suco de caju. Foram investigados diferentes parâmetros do processo, como temperatura, pH e concentração de açúcar, e avaliados os principais produtos da fermentação, os resultados mostram que os parâmetros do processo têm um impacto significativo na produção de etanol e

compostos voláteis, como já citado nesse trabalho. Albuquerque (2015) *et al.* estudou a viabilidade de produção de xilitol a partir do bagaço de caju por *Kluyveromyces marxianus*.

Rocha *et al.* (2011) utilizaram bagaço de caju como fonte de açúcares para produção de etanol também por *Kluyveromyces marxianus*. Carvalho *et al.* (2016) estudou a produção desse produto utilizando o mesmo microrganismo e substrato, no entanto foi feito uma avaliação do efeito da suplementação de nitrogênio nessa fermentação, os resultados demonstraram que a suplementação de nitrogênio influencia positivamente a produção de etanol, indicando a importância do fornecimento adequado de nutrientes durante a fermentação do suco de caju.

Por fim, poder-se-ia citar novamente os trabalhos de Palitot (2016) e Costa (2018) que realizaram o estudo da viabilidade de produção de 2-feniletanol, no primeiro trabalho foi realizado a variação da aeração em um processo em batelada, já no segundo também em batelada estudou-se a influência da diluição do suco de caju, ou seja, influência da variação da concentração no rendimento de reação, além disso analisou o efeito da suplementação do meio com L-fenilalanina, outra estratégia foi observar os efeitos da adição periódica de glicose durante a fermentação, os resultados desses trabalhos serão analisados e discutidos posteriormente nesse trabalho.

### 3.9 Parâmetro de crescimento celular

Os parâmetros de crescimento celular desempenham um papel crucial na avaliação e no monitoramento do desenvolvimento das células em sistemas biológicos. Essas medidas fornecem informações valiosas sobre o crescimento, reprodução e metabolismo celular, permitindo otimizar processos biotecnológicos e garantir o sucesso dos cultivos (Junne, 2011).

Um dos parâmetros mais utilizados é a densidade celular, que se refere ao número de células presentes em uma amostra. A densidade celular pode ser expressa de diferentes maneiras, como células.mL<sup>-1</sup>, células.g<sup>-1</sup> ou células.cm<sup>-1</sup>, dependendo do sistema de cultivo utilizado. A biomassa celular é outra medida importante, que indica a quantidade total de material celular presente na cultura. Geralmente, é expressa em termos de peso seco da biomassa (g.L<sup>-1</sup>), proporcionando uma visão quantitativa do crescimento celular (Nielsen, 2019).

Segundo o mesmo autor, a taxa de crescimento específico é um parâmetro fundamental, pois reflete a velocidade com que as células estão se multiplicando em um determinado momento. Pode ser calculada como a taxa de aumento da densidade celular ao longo do tempo (células.mL<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) ou como a taxa de aumento da biomassa celular ao longo do tempo (g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Essa medida fornece *insights* importantes sobre a taxa de crescimento celular e é essencial para determinar o desempenho do cultivo. O tempo de geração é outra medida relevante que indica o tempo necessário para que uma célula se divida e forme duas células filhas. Esse parâmetro está diretamente relacionado à velocidade de crescimento celular e pode variar dependendo das condições de cultivo, como temperatura, nutrientes e pH.

A viabilidade celular é um parâmetro crítico que avalia a proporção de células vivas em relação ao número total de células presentes. A utilização de corantes vitais, como o azul de tripan, ou testes de exclusão de corante permite determinar com precisão a viabilidade celular, essa medida é fundamental para garantir a qualidade das células e a eficácia dos processos biotecnológicos. O consumo de nutrientes é um parâmetro que mede a quantidade de nutrientes consumidos pelas células ao longo do tempo. A concentração de nutrientes, como glicose, aminoácidos e vitaminas, pode ser monitorada para garantir que as células tenham acesso adequado aos recursos necessários para o crescimento e o metabolismo (Nielsen, 2019).

Esses parâmetros de crescimento celular são frequentemente monitorados em cultivos biológicos, como fermentações e culturas celulares, para garantir um crescimento adequado das células e otimizar a produção de compostos de interesse. Através do controle e análise desses parâmetros, é possível ajustar as condições de cultivo, como nutrientes, temperatura, pH e oxigenação, a fim de maximizar o crescimento celular e o rendimento do processo biotecnológico (Junne, 2011).

Vários estudos científicos estimaram os parâmetros de crescimento celular em diferentes sistemas biológicos, poder-se-ia citar Marose *et al.* (2001) que utilizou modelos matemáticos para estimar a taxa de crescimento e a produção de penicilina em cultivos de *Penicillium chrysogenum*, esses parâmetros foram estimados a partir de dados experimentais e usados para otimizar as condições de cultivo. A previsão e a otimização do processo de produção de ácido láctico em cultivos de *Lactobacillus rhamnosus* também foi realizada a partir da estimativa de parâmetros de crescimento celular por Bonomo *et al.* (2013).

No trabalho de Lourenço *et al.* (2006) os parâmetros de crescimento celular foram estimados para uma cepa de *Streptomyces clavuligerus*, foram utilizados modelos cinéticos para descrever o crescimento e a produção de clavulanato de potássio, permitindo também a otimização do processo de produção. Já no trabalho de Chisti (1999) foi proposto um modelo matemático para estimar os parâmetros de crescimento celular em culturas de algas. O modelo considera a taxa de crescimento, a produção de biomassa e a composição química das algas, permitindo a previsão do crescimento e o acúmulo de produtos de interesse.

### **3.10 Agitação em processos fermentativos**

A agitação e a mistura desempenham um papel fundamental nos processos fermentativos, sendo essenciais para garantir a eficiência e o sucesso desses sistemas biotecnológicos. A correta manipulação desses parâmetros influencia diretamente o crescimento celular, a produção de metabólitos desejados e a viabilidade das células ao longo do processo (Pandey, 1999).

A agitação adequada em culturas fermentativas é crucial para assegurar a dispersão homogênea dos microrganismos no meio de cultura, evitando a formação de aglomerados ou agregados que podem prejudicar o desempenho do processo. A agitação também contribui para a homogeneização do meio de cultura, evitando a formação de gradientes de nutrientes e pH que poderiam afetar negativamente o crescimento e o metabolismo das células (Shuler & Kargi, 2001).

Segundo os mesmos autores, a transferência eficiente de oxigênio é outro aspecto crítico da agitação em processos fermentativos aeróbicos. A oxigenação adequada é necessária para o metabolismo celular e a produção de energia. A transferência de oxigênio depende da velocidade de agitação, do tipo de agitador utilizado e das propriedades físicas do meio de cultura. Portanto, é importante ajustar esses parâmetros de acordo com as necessidades específicas da cultura microbiana, esse assunto será mais bem abordado no próximo tópico desse trabalho.

É importante destacar que a agitação excessiva pode ter efeitos negativos nas células, causando danos físicos e aumento do consumo de energia. Portanto, é essencial encontrar um equilíbrio entre a eficiência da agitação e a preservação da integridade celular (Cheng *et al.*, 2018).

Diversos trabalhos têm utilizado técnicas de simulação computacional (dinâmica dos fluidos computacional) para simular a agitação e mistura de processos fermentativos. Essas abordagens têm permitido uma análise mais aprofundada dos fenômenos fluidodinâmicos em biorreatores, resultando em melhorias significativas no desempenho dos processos biotecnológicos.

Um exemplo é o estudo realizado por Mariani *et al.* (2017), que utilizou a dinâmica dos fluidos computacional para simular e otimizar a agitação e a aeração em um biorreator agitado. O objetivo principal foi maximizar a eficiência da mistura e a transferência de oxigênio, visando melhorar a produção de biomassa e metabólitos. Através da simulação computacional, eles puderam analisar o comportamento do fluido, o padrão de escoamento e a distribuição de oxigênio, o que permitiu otimizar o design do biorreator e obter resultados significativos no aumento da produtividade.

Monteiro *et al.* (2018) e Pal *et al.* (2019) utilizaram dos mesmos princípios para analisar a mistura em um biorreator com um agitador axial. A simulação permitiu investigar o padrão de escoamento, a distribuição de velocidade e a homogeneidade da mistura, os autores também conseguiram otimizar o processo de produção, o segundo estudo ainda conseguiu avaliar o perfil de velocidade e a distribuição de oxigênio.

A influência do número, tipo e posicionamento dos impulsores na distribuição da velocidade e na homogeneidade da mistura foi analisada por Rodrigues *et al.* (2019). Os resultados obtidos mostraram que a utilização de múltiplos agitadores promoveu uma melhor mistura e homogeneização do meio de cultura em comparação com o uso de um único agitador. Além disso, foi observado que o posicionamento adequado dos impulsores contribuiu para uma distribuição mais uniforme das propriedades do fluido, como a concentração de oxigênio e nutrientes.

No estudo realizado por Sáez-Ochoa *et al.* (2016), foi empregado o software VisiMix™ para simular e otimizar a agitação e a mistura em um processo de produção de lipase utilizando a bactéria *Burkholderia cepacia* em um biorreator. O objetivo principal do estudo foi aprimorar as condições de alimentação de glicose e as estratégias de fornecimento de oxigênio, visando melhorar a produção dessa enzima de interesse.

### 3.11 Transferência de oxigênio em processos fermentativos

A transferência de oxigênio em processos fermentativos desempenha um papel crucial na produção de produtos biotecnológicos. Em muitos casos, a presença ou a ausência de oxigênio pode influenciar diretamente o metabolismo microbiano e a produção do produto desejado (Shuler, M. L., & Kargi, F. 2002).

Em processos fermentativos aeróbios, nos quais os microrganismos utilizam o oxigênio como acceptor final de elétrons, a transferência de oxigênio é essencial para o crescimento celular e a produção de energia. A aeração adequada é necessária para manter altas taxas de crescimento microbiano, uma vez que o oxigênio é um componente essencial para o metabolismo energético aeróbio (Zhang *et al.* 2018).

A transferência de oxigênio em processos fermentativos aeróbios pode ser afetada por vários fatores, como a concentração de oxigênio dissolvido no meio de cultura, a agitação e a taxa de aeração. A agitação adequada ajuda a manter uma distribuição homogênea do oxigênio no meio de cultura e evita a formação de zonas de baixa concentração de oxigênio, conhecidas como zonas mortas. A taxa de aeração, por sua vez, influencia diretamente a quantidade de oxigênio que pode ser transferida para o meio de cultura em um determinado período de tempo.

Por outro lado, em processos fermentativos anaeróbios, nos quais os microrganismos não utilizam o oxigênio como acceptor final de elétrons, a transferência de oxigênio é indesejada. Nestes casos, é importante minimizar a entrada de oxigênio para evitar efeitos negativos no metabolismo microbiano e na produção do produto. Isso pode ser alcançado por meio de estratégias como a utilização de sistemas fechados ou a aplicação de técnicas de vedação adequadas (Gao *et al.* 2017).

"O coeficiente de transferência de oxigênio  $k_{LA}$  é uma medida da eficiência da transferência de oxigênio em sistemas de fermentação aeróbica. É definido como a taxa de transferência de oxigênio por unidade de área superficial de líquido no sistema" (Shuler & Kargi, 2002).

O  $k_{LA}$  é amplamente utilizado na indústria biotecnológica para avaliar e otimizar a transferência de oxigênio em biorreatores. Ele desempenha um papel crítico no crescimento celular e na produção de compostos bioquímicos, como proteínas recombinantes e metabólitos de interesse industrial. Para determinar o  $k_{LA}$  experimentalmente, várias técnicas podem ser empregadas. Por exemplo, a técnica de análise da curva de oxigênio dissolvido (OD) é comumente utilizada. Nessa técnica,

a concentração de oxigênio dissolvido no meio líquido é monitorada ao longo do tempo, permitindo a estimativa do  $k_{LA}$  por meio de modelos matemáticos (Amanullah *et al.*, 2010).

A otimização do  $k_{LA}$  envolve a modificação de parâmetros de operação, como taxa de aeração, velocidade de agitação e geometria do sistema. A taxa de aeração é considerada um dos principais fatores que afetam o  $k_{LA}$ . Estudos têm mostrado que altas taxas de aeração podem melhorar significativamente a transferência de oxigênio, resultando em maior produtividade e rendimento de produtos em fermentações aeróbias (Rosa *et al.*, 2011).

A seleção adequada de um biorreator com boa transferência de oxigênio também é essencial para alcançar altos valores de  $k_{LA}$ . Biorreatores de alta eficiência, como os de tipo airlift e os de fluxo contínuo, têm sido amplamente utilizados para melhorar a transferência de oxigênio em processos fermentativos (Zheng *et al.*, 2006).

A agitação e mistura são aspectos fundamentais em diversos processos industriais, especialmente aqueles que envolvem reações químicas, fermentações ou produção de alimentos. Para garantir a eficiência desses processos, várias variáveis devem ser consideradas, tais como o Número de Potência, agitação mínima, taxa de aeração e potência requerida em sistemas gaseificados e não gaseificados.

A potência requerida ( $P_g$ ) em sistemas gaseificados refere-se à quantidade de energia necessária para agitar e dispersar um gás ou ar em um líquido. Essa potência está relacionada à eficácia da dispersão do gás e à homogeneização da mistura. Por outro lado, a potência requerida em sistemas não gaseificados ( $P_o$ ) é a energia necessária para agitar apenas o líquido, sem a presença de gás ou ar. Ambos os parâmetros são cruciais para dimensionar corretamente os sistemas de agitação e garantir a eficiência dos processos.

O Número de Potência ( $N_p$ ) é uma medida importante que indica a eficiência da agitação, pois relaciona a potência fornecida ao sistema com a potência necessária para movimentar o fluido. Quanto menor o valor desse número, mais eficiente é a agitação, pois menos energia é dissipada no processo. Isso é crucial para garantir a economia de energia e minimizar perdas durante a agitação.

A agitação ( $N$ ) é a velocidade de trabalho do impelidor. Já agitação mínima ( $N_{CD}$ ) é o nível necessário de movimento do impelidor para evitar a sedimentação de partículas sólidas ou promover a troca de massa e calor. É importante manter a

agitação em um nível adequado para evitar problemas como a formação de incrustações ou a falta de homogeneização dos componentes.

Por fim poder-se-ia citar a taxa de aeração ( $U_g$ ) é um parâmetro relevante em processos aeróbicos, nos quais a presença de oxigênio é fundamental para o metabolismo dos microrganismos. Ela determina a quantidade de ar ou gás fornecido ao sistema de agitação. Controlar adequadamente a taxa de aeração é essencial para garantir um suprimento adequado de oxigênio e, assim, otimizar a eficiência dos processos biológicos (Linek *et al.*, 2005).

### 3.12 Técnicas de scale-up

Os métodos de escalonamento descritos na literatura corrente costumam agrupar as inúmeras variáveis envolvidas nos processos de cultivo microbiano, a exemplo da temperatura, da vazão, da velocidade de agitação, da taxa de aeração, do pH, do potencial redox, da pressão parcial de oxigênio, dentro de procedimentos sistemáticos divididos em três grupos: critérios de escalonamento baseados nas características de agitação e mistura, critérios de escalonamento baseados nos processos e operações de transferência de calor e critérios de escalonamento baseados nos processos e operações de transferência de oxigênio (Gill *et al.*, 2008).

Desses, os critérios de escalonamento baseados nos processos e operações de transferência de calor são pouco usuais enquanto metodologia e, muito embora a literatura corrente reúna uma infinidade de informações sobre a aplicação dos outros dois grupos, mais comumente são abordadas quatro estratégias básicas dentro destes grupos: a manutenção das características de transferência de oxigênio, a manutenção das características de agitação e mistura, a manutenção das características de cisalhamento e a manutenção do regime fluidodinâmico (Kapic *et al.*, 2005).

Em cultivos aeróbicos, como é o caso da produção de 2-FE, as aplicações práticas destas quatro estratégias de scale-up guardam em comum a crucial necessidade de estimação e avaliação de características e parâmetros, tais como o coeficiente global de transferência de oxigênio ao meio líquido, tempo de mistura,

padrões fluidodinâmicos de bolhas de gás e o requerimento de potência para estes sistemas (Palitot, 2005).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Obtenção de dados experimentais do processo fermentativo

Os ensaios para obtenção dos dados experimentais foram realizados em um biorreator de bancada (Tec-Bio, Model 1.5 - 1L, Tecnal, SP, Brasil), Figura 3, feito em vidro com diâmetro  $D_T$  igual a 9,5 cm, equipado com sistema de monitoramento e controle de pressão, agitação, temperatura, oxigênio dissolvido, pH e dióxido de oxigênio.

**Figura 3** – Biorreator de bancada utilizado no estudo.



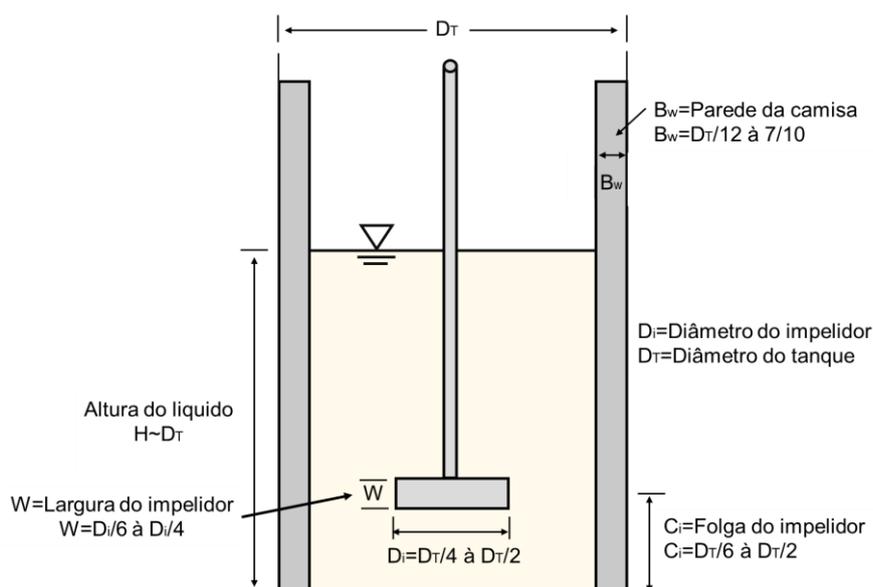
Fonte: Tecnal.

O biorreator possui um condensador de refluxo de aço inoxidável, dois conjuntos de impelidores (tipo Rushton e tipo Scaba) equidistantes 6 cm, cada um possuindo seis pás planas com diâmetro ( $D_i$ ) igual a 4,2 cm com pás planas e um sistema de amostragem baseado em seringa livre de contaminação, a Tabela 1 e a Figura 4 apresentam as características do reator utilizado.

**Tabela 1 – Características geométrica do reator (continua)**

Volume (L)	H Líquido (cm)	$D_T/D_i$		$W/D_i$	
1	11,5	2,26		0,24	
$B_w$	H Tanque (cm)	$D_T$ (cm)	$D_i$ (cm)	W (cm)	$C_i$ (cm)
1,0	15	9,5	4,2	1,0	3,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 4 – Características geométrica do reator.**

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os cultivos foram conduzidos em um volume reacional de 750 mL, com agitação a 250 RPM e temperatura mantida a 35 °C. Utilizou-se uma suspensão de células do inóculo contendo 75 mL, com uma concentração média de biomassa de 0,5 g.L<sup>-1</sup>. Durante o período de cultivo de 72 horas, foram retiradas amostras em intervalos de tempo pré-definidos. As amostras foram centrifugadas a 6000 RPM por 10 minutos, e o sobrenadante foi filtrado utilizando um filtro de acetato de celulose (Costa – 2018). Em seguida, o sobrenadante foi utilizado para determinar a concentração dos açúcares e do produto.

## 4.2 Estimativa dos parâmetros de crescimento celular

O projeto de processos de fermentação é baseado no conhecimento dos compostos que são consumidos (substrato,  $O_2$ , fonte de nitrogênio, álcali) e produzidos (biomassa, produto,  $CO_2$ , calor, entre outros.). A quantificação desses compostos é possível por meio do entendimento da estequiometria do processo, expressa na reação do processo. É importante ressaltar que a estequiometria da reação do processo é constante somente quando a taxa de crescimento específica é mantida constante, pois varia quando ocorrem alterações na taxa de crescimento.

Nesse sentido, é essencial estabelecer uma relação sólida entre a estequiometria da reação do processo e a taxa de crescimento específica. Para isso, é utilizado o modelo Black Box. Esse modelo utiliza apenas as entradas e saídas dos organismos, as quais estão diretamente ligadas por meio das propriedades do estado pseudo-estacionário (EPE) do metabolismo celular. Esse acoplamento limita consideravelmente a liberdade cinética celular, sendo ainda restrito pela conservação de elementos e cargas. Como a energia é tão importante para o funcionamento dos sistemas biológicos, não é surpreendente que um método de previsão com base termodinâmica seja utilizado.

Em todos os organismos, um substrato é necessário para produzir biomassa (com taxa  $\mu$ ), produto anabólico (com taxa  $q_p$ ) e manutenção (com taxa  $m_s$ ). A taxa total de consumo de substrato,  $q_s$ , é dada pela equação de Herbert-Pirt, que será utilizada nesse trabalho para calcular a distribuição do substrato no processo fermentativo estudado.

Como nesse trabalho tem-se um crescimento heterotrófico, utilizou-se a correlação de Heijnen, Equação para o cálculo da energia Gibbs necessária como entrada na síntese de 1 C-molX.

Tendo em vista os fatos supracitados serão estimados as taxas específicas de crescimento celular, produção e consumo de açúcar total ao longo do tempo. Essas taxas nos fornecerão informações valiosas sobre a velocidade de crescimento das células, a quantidade de 2-FE gerada e o consumo de açúcar ao longo do processo. Serão calculados os rendimentos de biomassa ( $Y_{X/S}$ ) e de produto ( $Y_{P/S}$ ) com base no consumo total de açúcar.

Por fim, será avaliado a taxa máxima de produção de energia Gibbs, denominada  $q_{G\text{máx}}$ , é um parâmetro importante em sistemas biológicos que indica a taxa máxima na qual um organismo pode gerar energia por meio de processos catabólicos. Ela é medida em quilojoules por molar de carbono de biomassa por hora ( $\text{kJ} \cdot (\text{C} \cdot \text{mol} \cdot \text{h})^{-1}$ ). Assim como a taxa máxima de crescimento específico ( $\mu_{\text{máx}}$ ) sendo um parâmetro importante em microbiologia que indica a taxa máxima na qual um organismo pode se multiplicar durante o crescimento exponencial. Ela é medida em unidades de tempo inversas, como  $\text{h}^{-1}$  ou  $\text{s}^{-1}$ , essa metodologia está de acordo com o capítulo 18 do livro “*Biothermodynamics: The Role of Thermodynamics in Biochemical Engineering*” (Von Stockar, 2013), as equações utilizadas estão listadas na Tabela 2.

**Tabela 2** – Memorial de cálculo para parâmetros de crescimento celular.

<b>Energia de Gibbs Catabólica</b>	$\Delta_{\text{cat}}G^{o'} = -\Delta_{\text{R}}G^{o'}$	Equação 1
<b>Energia de Gibbs de reação</b>	$\Delta_{\text{R}}G^{\circ}(T) = \Delta_{\text{R}}H^{\circ} - T\Delta_{\text{R}}S^{\circ}$	Equação 2
<b>Relação de Herbert-Pirt</b>	$q_s = a\mu + bq_p + m_s$	Equação 3
<b>Taxa de manutenção</b>	$m_G = 4,5 \exp \left[ \frac{-69000}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{298} \right) \right]$ $a_G = 200 + 18(6 - c)^{1,8}$	Equação 4
<b>Produção de biomassa</b>	$+ \exp \left[ \left( (3,8 - \gamma/c)^2 \right)^{0,16} (3,6 + 0,4c) \right]$	Equação 5
<b>Parâmetro <math>\alpha</math></b>	$\alpha = \frac{a_G}{\Delta_{\text{cat}}G} + \frac{\gamma_X}{\gamma_D}$	Equação 6
<b>Produção de produto</b>	$b = \frac{Y_P}{Y_S}$	Equação 7
<b>Taxa de produção de energia máxima</b>	$q_{G\text{máx}} = \frac{3\Delta_{\text{cat}}G}{\gamma_D} \exp \left[ \frac{-69000}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{298} \right) \right]$	Equação 8

<b>Taxa de crescimento específica máxima</b>	$\mu^{m\acute{a}x} = \left( \frac{\frac{3\Delta_{cat}G}{\gamma_D} - m_G}{a_G} \right) \exp \left[ \frac{-69000}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{298} \right) \right]$	Equação 9
--	--	-----------

Fonte: Adaptado de Von Stockar (2013).

### 4.3 Estimativa dos parâmetros de agitação de mistura e transferência de oxigênio.

Nessa etapa foi utilizado o software VISIMIX TURBULENT. GAS-LIQUID MIXING. (Versão gratuita e não comercial - VisiMix Turbulent SV). O VisiMix Turbulent SV permite a simulação e análise de processos de mistura em sistemas gasosos e líquidos, fornecendo insights valiosos sobre o comportamento do escoamento e a eficiência da mistura. Ele oferece suporte a dois tipos de impulsores - hélice e turbina de disco - e possui uma faixa limitada de dimensões de equipamento para cálculos precisos. Utilizando o software supracitado é possível explorar e otimizar a agitação e a mistura em diferentes cenários, como reatores químicos, tanques de armazenamento, fermentadores e muitos outros. Ele permite a análise detalhada dos parâmetros do processo, incluindo os perfis de velocidade, distribuição de concentração, tempo de mistura e eficiência de transferência de massa.

As variáveis supracitadas serão utilizadas para gerar os seguintes gráficos:

- 1)  $(P_g \cdot P_o^{-1})$  vs.  $F_L$  (para todas as vazões de ar)
- 2)  $(P_g \cdot V_L^{-1})$  vs.  $F_L$  (para todas as vazões de ar)
- 3)  $P_g$  vs.  $F_L$  (para todas as vazões de ar)
- 4)  $K_{La}$  vs.  $(P_g \cdot V_L^{-1})$  (para todas as correlações)

Para a avaliação da disponibilidade de oxigênio neste trabalho, adota-se uma metodologia que se baseia na estimação do  $k_{La}$  (coeficiente global de transferência de massa de oxigênio) nos ensaios de agitação e mistura, considerando a variação efetiva do regime fluidodinâmico.

A abordagem é fundamentada nos estudos de Gill *et al.* (2008), intitulados "Quantification of Power Consumption and Oxygen Transfer Characteristics of a

*Stirred Miniature Bioreactor for Predictive Fermentation Scale-Up*". Nesse trabalho, realizou-se uma avaliação de um sistema reacional similar ao utilizado nesta pesquisa, o qual foi selecionado como modelo para o cálculo do  $k_La$ , os dados que serão validados estão apresentados na Tabela 3 e foram fornecidos por Palitot (2016).

**Tabela 3** – Dados experimentais para coeficiente de transferência de oxigênio na rotação de 250 RPM.

Experimento	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
1	0,08	0,1	0,12	0,13	0,14	0,15
2	0,09	0,1	0,11	0,13	0,13	-
3	0,08	0,09	0,12	-	0,14	0,16
<b>Média</b>	0,083	0,097	0,117	0,13	0,137	0,155

Fonte: Adaptado de Palitot (2016).

Assim, utiliza-se a metodologia proposta por Gill *et al.* (2008) para se obter a relação entre a potência requerida para o sistema gaseificado ( $P_g$ ) e a potência requerida para o sistema não gaseificado ( $P_o$ ), sendo a razão ( $P_g/P_o$ ) um número adimensional de extrema importância para estudos de agitação e mistura.

Utiliza-se as correlações encontradas no livro "*An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer*" de Kadic & Heindel (2014). As correlações foram resumidas em duas tabelas. Na Tabela 4, encontram-se as correlações para o modelo empírico, já na Tabela 5, as correlações para o modelo proposto por Yawalkar *et al.* (2002). Uma tabela detalhada com a compilação realizada pelos autores supracitados está disponível no Apêndice A desse trabalho.

**Tabela 4 – Correlações para coeficiente de transferência de oxigênio para o modelo empírico (continua).**

<b>Referência</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
<b>Bouaifi et al. (2001)</b>	0,022	0,5	0,6
	0,006	0,74	0,53
	0,001	1,22	0,51
	0,006	0,69	0,53
<b>Fujasova et al. (2007)</b>	0,001	1,25	0,57
	0,006	0,69	0,53
	0,001	1,2	0,58
	0,005	0,72	0,5
	0	1,22	0,45
	0,5	0,01	0,86
	0,8	0,02	0,92
	0,2	0,02	0,72
	0,3	0,03	0,79
	0,4	0,01	0,87
<b>Gagnon et al. (1998)</b>	0,5	0,06	0,88
	12,2	0,57	0,47
	2,9	0,83	0,5
	3,2	0,79	0,48
	9,2	0,6	0,5
	15,4	0,32	0,5
	31,1	0,38	0,65
<b>Gezork et al. (2001)</b>	0,005	0,59	0,27
	0,004	0,7	0,18
<b>Hickman (1988)</b>	0,043	0,4	0,57
	0,027	0,54	0,68
<b>Kapic and Heindel (2006)</b>	0,04	0,47	0,6
<b>Kapic et al. (2006)</b>	0,001	1,23	0,55
<b>Linek et al. (1987)</b>	0,005	0,59	0,4
	0,001	0,95	0,4
<b>Linek et al. (1990)</b>	0	1,24	0,4

**Tabela 4 – Correlações para coeficiente de transferência de oxigênio para o modelo empírico (conclusão).**

<b>Linek <i>et al.</i> (1994)</b>	0	1,21	0,4
	0,009	0,63	0,54
<b>Linek <i>et al.</i> (1996)</b>	0,006	0,68	0,5
	0,001	1,17	0,46
	0,001	1,32	0,33
	0,001	1,06	0,36
<b>Moucha <i>et al.</i> (2003)</b>	0,002	1,02	0,47
	0,001	1,13	0,43
<b>Ni <i>et al.</i> (1995)</b>	1,645	0,5	0,64
<b>Smith <i>et al.</i> (1977)</b>	0,01	0,48	0,4
	0,02	4,75	0,4
<b>Van't Riet (1979)</b>	0,026	0,4	0,5
	0,02	0,7	0,2
<b>Vasconcelos <i>et al.</i> (2000)</b>	0,06	0,66	0,51
<b>Zhu <i>et al.</i> (2001)</b>	0,031	0,4	0,5

Fonte: Kadic & Heindel (2014).

**Tabela 5 – Correlações para coeficiente de transferência de oxigênio para o modelo proposto por Yawalkar *et al* (2002).**

<b>Referência</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
<b>Chandrasekharan &amp; Calderbank (1981)</b>	2,7	1,15	0,96
<b>Chandrasekharan (1958), Van't Riet (1979)</b>	2,8	1,14	0,97
<b>Hickman (1988)</b>	4,3	1,35	1,04
<b>Linek <i>et al.</i> (1987)</b>	5,2	1,69	1,09
<b>Smith <i>et al.</i> (1977)</b>	2,4	1,38	0,96
<b>Smith (1991)</b>	6,5	1,44	1,12
<b>Smith &amp; Warmoeskerken (1985)</b>	12,6	1,54	1,27
<b>Whitton &amp; Nienow (1993)</b>	3,5	1,17	1,00
<b>Yawalkar <i>et al.</i> (2002)</b>	3,4	1,46	1,00
<b>Zhu <i>et al.</i> (2001)</b>	3,3	1,14	0,97

Fonte: Kadic & Heindel (2014).

Neste estudo, além das condições de agitação testadas por Palitot (2016), foram simuladas outras configurações de agitação, permitindo uma melhor compreensão do comportamento fluidodinâmico do sistema. Os resultados obtidos neste projeto contribuíram para o entendimento de parâmetros importantes no desenvolvimento de estratégias de escalonamento da produção de 2-FE, especialmente aqueles relacionados à agitação e mistura em cultivos microbianos aerados. As equações utilizadas nessa etapa estão listadas na Tabela 6.

**Tabela 6** – Memorial de cálculo para cálculo do coeficiente de transferência de oxigênio.

<b>Potência sistema gaseificado</b>	$P_g = 1,16 \left( \frac{P_o^2 N D^3}{Q_g^{0,56}} \right)^{0,39}$	Equação 10
<b>Número de fluxo</b>	$F_L = \frac{Q_g}{N \cdot D_i^3}$	Equação 11
<b>Modelo Kavic &amp; Heindel (2006)</b>	$k_L a = C \left( \frac{P_g}{V_L} \right)^A U_g^B$	Equação 12
<b>Modelo Yawalkar et al (2002)</b>	$k_L a = C \left( \frac{N}{N_{CD}} \right)^A U_g^B$	Equação 13
<b>Agitação mínima</b>	$N_{CD} = \frac{4U_g^{0,5} D_t^{0,25}}{D_i^2}$	Equação 14

Fonte: Elaborador pelo autor utilizando Gill *et al.* (2018) e Kadic & Heindel (2014).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção de dados experimentais do processo fermentativo

Os dados experimentais foram realizados em conjunto com Costa (2018), como já foi publicado, aqui tem-se apenas um resumo elucidativo de como esses dados foram obtidos e os melhores resultados obtidos. O autor em questão pegou as melhores condições de operação de Palitot (2016), tais como agitação, aeração e temperatura.

Foram examinadas as etapas de crescimento da levedura *Kluyveromyces marxianus* no inóculo empregado no processo biotecnológico. O estudo foi conduzido utilizando suco de caju com uma concentração de 137,3 g.L<sup>-1</sup> de glicose e frutose, em frascos Erlenmeyer de 250 mL a uma temperatura de 30 °C, com agitação a 180 RPM em um agitador orbital (Tecnal – TE 422) por 28 horas.

Conforme demonstrado na Figura 1 do Anexo B, é possível identificar facilmente a fase inicial de adaptação do microrganismo, conhecida como fase lag, na qual a levedura passa por mudanças internas. Durante essa fase, novas enzimas e componentes estruturais são sintetizados para que a levedura se adapte ao ambiente. Essa fase ocorre até aproximadamente as 10 horas do cultivo. Após esse período, a levedura entra na fase de crescimento exponencial, também chamada de fase log, na qual ocorre um aumento rápido e constante na população microbiana. A levedura consumiu parte dos carboidratos presentes no suco de caju (glicose e frutose), assimilando 41,2 % em até 28 horas do crescimento do inóculo.

A maior produção do metabólito e de células ocorreu utilizando a maior concentração de açúcares do suco de caju, no caso 137,3 g.L<sup>-1</sup> como é possível observar na Tabela 1 do Anexo B. Analisando a Tabela 2 do mesmo poder-se-ia concluir que a suplementação de 3,0 g.L<sup>-1</sup> de L-Phe é mais significativa na produção de 2-FE, pois os melhores rendimentos da bioconversão da L-Phe foram encontrados no cultivo com essa concentração do precursor. Os melhores valores encontrados foram: rendimento de biomassa ( $Y_{X/S}$ ) de 0,1383 g.g<sup>-1</sup>, rendimento de 2-FE ( $Y_{P/S}$ ) de 0,0066 g.g<sup>-1</sup>, rendimento de 2-FE em relação a biomassa ( $Y_{P/X}$ ) de 0,0514 produtividade de 2-FE ( $Q_P$ ) 0,0116 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, produtividade de biomassa ( $Q_X$ ) 0,254 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> e máxima velocidade específica de crescimento ( $\mu_{Xmáx}$ ) 0,863h<sup>-1</sup>.

## 5.2 Estimativa dos parâmetros de crescimento celular

O modelo Black box utiliza como hipótese que o substrato é utilizado para produção de biomassa, isto é, multiplicação de microrganismos, manutenção e por fim síntese de produtos. A reação catabólica libera energia de Gibbs, por esse fato foi calculado partindo da reação de 1 mol de doador de elétrons, no caso a glicose. Estudos realizados por outros autores mostram que a glicose é mais preferida pela *K. marxianus* do que a frutose, por esse fato foi considerado para simplificação do modelo matemática a glicose como a única fonte de carbono.

Para se calcular a energia de Gibbs catabólica foi utilizado a Equação 1, onde foi calculado a energia de Gibbs da reação química acima, levando em consideração a estequiometria, o valor obtido considerando as condições padrões de temperatura (25 °C), pH (7) e pressão (1 atm), foi de 2837,1 kJ.mol<sup>-1</sup>.

No entanto a temperatura de fermentação para esse trabalho foi escolhida com base em Costa (2018), 35 °C. Por esse fato teve-se que realizar a correção para energia de Gibbs catabólica, para isso foi calculado a entalpia e entropia do sistema e utilizado a Equação 2. O valor obtido foi de 2835,3 kJ.mol<sup>-1</sup>.

Iniciou-se então a etapa de estimativa dos parâmetros de Herbert-Pirt, Equação 3.

O termo  $m_s$  é pela taxa de consumo de substrato para a manutenção do organismo ( $m_s$ ), estudos mostram que esse valor é independente da fonte de carbono, nitrogênio ou do acceptor e doador de elétrons, dependendo apenas da temperatura (Von Stockar, 2013), por esse fato foi utilizado a Equação 4 para se calcular  $m_G$  e em seguida  $m_s$ .

O valor obtido foi de 11,11 kJ de energia de Gibbs utilizado para manutenção por hora para cada C-mol. Dividindo o valor de  $m_G$  pelo valor da energia de Gibbs catabólica, foi obtido o valor de  $3,92 \cdot 10^{-3}$  mol-glicose consumido por mol-C por hora para a manutenção.

O parâmetro  $a_G$  expressa a quantidade de energia que é utilizado para a produção da biomassa, isto é, para gerar outro carbono, esse parâmetro depende da natureza da fonte de carbono e do doador de elétrons e foi calculado utilizando a Equação 5, isto porque o tipo de crescimento é heterotrófico o resultado obtido foi de 236,05 kJ.C-mol<sup>-1</sup>.

Em seguida calculou-se o parâmetro  $\alpha$  que representa a quantidade de substrato utilizando para produzir 1 C-mol, utilizando a Equação 6 foi encontrado um valor de 0,26 mol de glicose para cada mol de carbono formado.

Por fim, foi calculado o parâmetro de produção de produto anabólico  $b$ , esse parâmetro depende apenas do substrato e do produto produzido e foi calculado pela Equação 7.

Com os dados supracitados foi possível calcular os parâmetros mais importantes da fermentação, a taxa máxima de produção de energia  $q_{Gm\acute{a}x}$  e a de crescimento específico  $\mu_{m\acute{a}x}$ , para isso foram utilizadas as Equações 8 e 9, respectivamente, os valores foram  $890 \text{ kJ}\cdot\text{h}^{-1}$  e  $3,66 \text{ h}^{-1}$ .

Esse valor teórico é muito superior quando comparado com o valor experimental calculado por Costa (2018), a saber  $0,863 \text{ h}^{-1}$ , o que sugere que novas estratégias de fermentação com alterações nas condições de operação devem e podem ser estudadas visando o aumento da produção celular e conseqüentemente de 2-FE, tendo em vista que esse é um produto gerado na fase estacionário.

Uma hipótese simples para explicar essa variação é que as células têm limites em sua taxa de produção de energia catabólica. Quase toda a energia catabólica é obtida do transporte de elétrons do doador de elétrons para o receptor através da cadeia de transporte de elétrons. Como as células são limitadas na quantidade de área de membrana e quantidade de proteína que pode ser colocada nas membranas também é limitada fisicamente (espaço), é de se esperar que haja um limite na taxa de transporte de elétrons (Heijnen *et al.*, 1992). Todos os valores encontrados foram organizados na Tabela 7.

**Tabela 7** – Parâmetros termodinâmicos e de crescimento celular do modelo Black Box.

<b>Temperatura de fermentação (K)</b>	3,08E+02
<b>pH de fermentação</b>	5,50E+00
<b>Concentração de hidrogênio</b>	3,16E-06
<b>Energia de Gibbs para a reação catabólica 25°C (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-2,84E+03
<b>Energia de Gibbs de formação para glicose (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-9,17E+02
<b>Energia de Gibbs de formação para oxigênio (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	0,00E+00
<b>Energia de Gibbs de formação para o próton (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-3,89E+01
<b>Energia de Gibbs de formação para o bicarbonato (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-5,87E+02
<b>Energia de Gibbs para a reação catabólica 25°C (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-2,84E+03
<b>Entalpia para a glicose (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-1,26E+03
<b>Entalpia para o oxigênio (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	0,00E+00
<b>Entalpia de formação para o próton (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	0,00E+00
<b>Entalpia de formação para o bicarbonato (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-6,92E+02
<b>Energia de Gibbs para a reação catabólica (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-2,89E+03
<b>Entropia para a reação catabólica (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-1,71E-01
<b>Energia de Gibbs para a reação catabólica 35 °C (kJ.mol<sup>-1</sup>)</b>	-2,84E+03
<b>Energia utilizada para manutenção (kJ.c-mol<sup>-1</sup>)</b>	1,11E+01
<b>Taxa de substrato utilizado para manutenção (g-mol.c-mol<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)</b>	3,92E-03
<b>Átomos de carbono na glicose</b>	6,00E+00
<b>Energia utilizada para anabolismo (kJ.c-mol<sup>-1</sup>)</b>	2,36E+02
<b>Grau de redução do microrganismo</b>	4,20E+00
<b>Taxa de substrato utilizado para anabolismo (g-mol.c-mol<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>)</b>	2,58E-01
<b>Grau de redução do substrato</b>	2,40E+01
<b>Grau de redução do produto</b>	-1,00E+00
<b>Parâmetro do substrato da reação do produto anabólico</b>	4,17E-02
<b>Taxa de crescimento específico máxima (h<sup>-1</sup>)</b>	3,66E+00
<b>Taxa máxima de produção de energia (kJ.h<sup>-1</sup>)</b>	8,91E+02

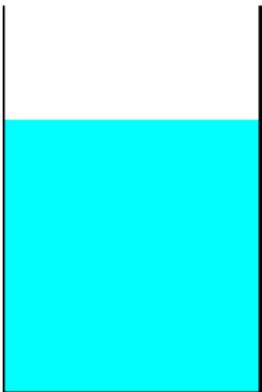
Fonte: Elaborado pelo autor.

### 5.3 Estimativa dos parâmetros de agitação de mistura e transferência de oxigênio

#### 5.3.1 Características de Mistura, Bombeamento e Agitação do Sistema

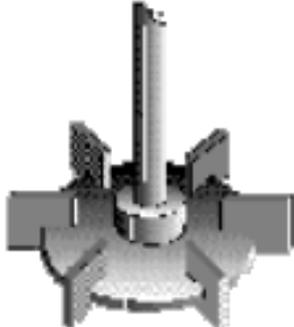
Os dados de entrada, contendo as características geométrica do tanque com fundo plano, impelidor do tipo Rushton e defletor plano 1, que foram utilizados no software VisiMix™ são apresentados nas Tabelas 8, Tabelas 9 e Tabelas 10, respectivamente.

**Tabela 8** – Características geométrica para o tanque com fundo plano.

<b>Diâmetro do tanque (mm)</b>	95	
<b>Altura total do tanque (mm)</b>	150	
<b>Volume total (L)</b>	1,063	
<b>Altura do fluido (mm)</b>	105,8	
<b>Volume do fluido (L)</b>	0,75	

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Tabela 9** – Características geométrica do impelidor do tipo Rushton.

<b>Diâmetro da ponta (mm)</b>	23,75	
<b>Diâmetro do disco (mm)</b>	17,81	
<b>Número de lâminas</b>	6	
<b>Ângulo de inclinação (°)</b>	90	
<b>Largura da lâmina (mm)</b>	4,75	
<b>Comprimento da lâmina (mm)</b>	5,938	
<b>Distância do fundo (mm)</b>	30	
<b>Velocidade de rotação (RPM)</b>	250	
<b>Potência do motor (hp)</b>	3	
<b>Direção de bombeamento</b>	Baixo	

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Tabela 10 – Características geométrica do defletor plano 1.**

<b>Quantidade</b>	4	
<b>Largura (mm)</b>	10	
<b>Comprimento (mm)</b>	110	
<b>Distância do fundo</b>	0	
<b>Angulação fi (°)</b>	0	

Fonte: Elaborado pelo autor.

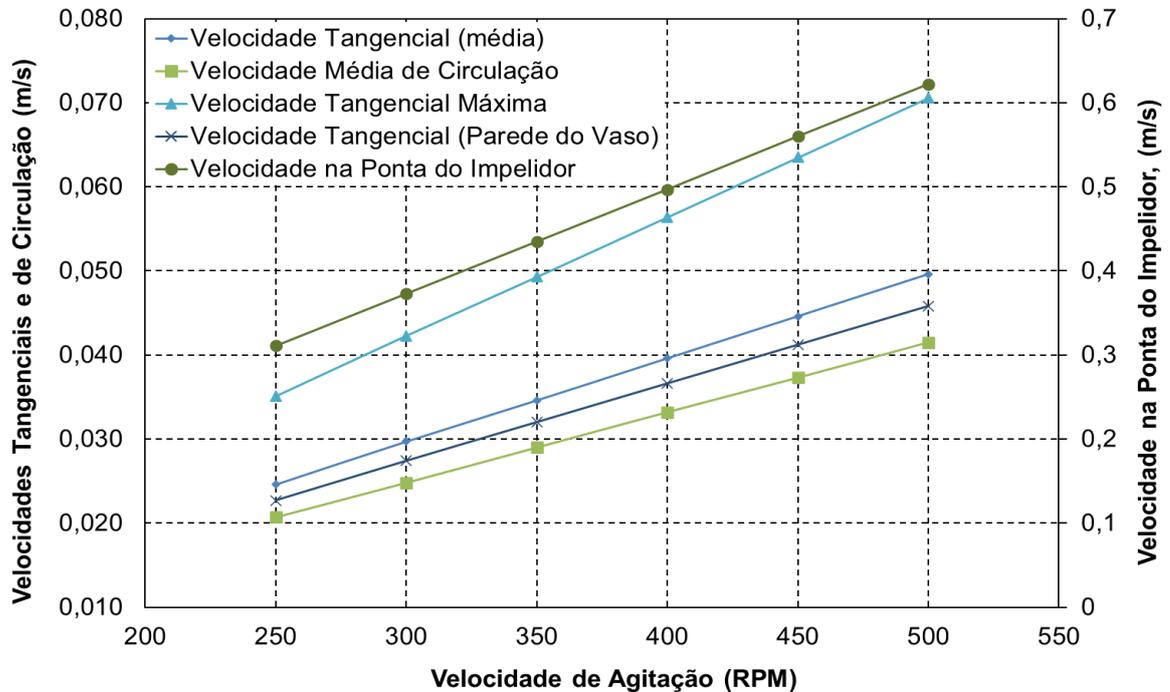
A partir desses dados e variando o valor da agitação  $N$ , foi possível extrair diversas informações, tais como potência de mistura, número de Reynolds, taxa de circulação do fluxo, velocidade de circulação e tangencial, período de circulação e a profundidade do vórtex, os valores foram organizados na Tabela 11, os valores para velocidade tangenciais e de circulação, assim como velocidade na ponta do impelidor estão organizados na Figura 5.

**Tabela 11 – Parâmetros fluidodinâmicos obtidos no VisiMix™.**

Parâmetro	Agitação (RPM)					
	250	300	350	400	450	500
<b>Potência de Mistura (W)</b>	0,003	0,006	0,009	0,013	0,019	0,026
<b>Número de Reynolds para Mistura</b>	1690	2040	2380	2720	3060	3410
<b>Velocidade Tangencial Média (m s<sup>-1</sup>)</b>	0,025	0,03	0,035	0,04	0,045	0,05
<b>Circulação do Fluxo (m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>)</b>	1,5E-04	1,8E-04	2,1E-04	2,4E-04	2,7E-04	2,9E-04
<b>Velocidade Circulação Média (m.s<sup>-1</sup>)</b>	0,021	0,025	0,029	0,033	0,037	0,042
<b>Período Médio de Circulação (s)</b>	5,11	4,26	3,65	3,19	2,83	2,55
<b>Profundidade do Vórtex (m)</b>	0	0	0	0	0	0,001

Fonte: Elaborado pelo autor.

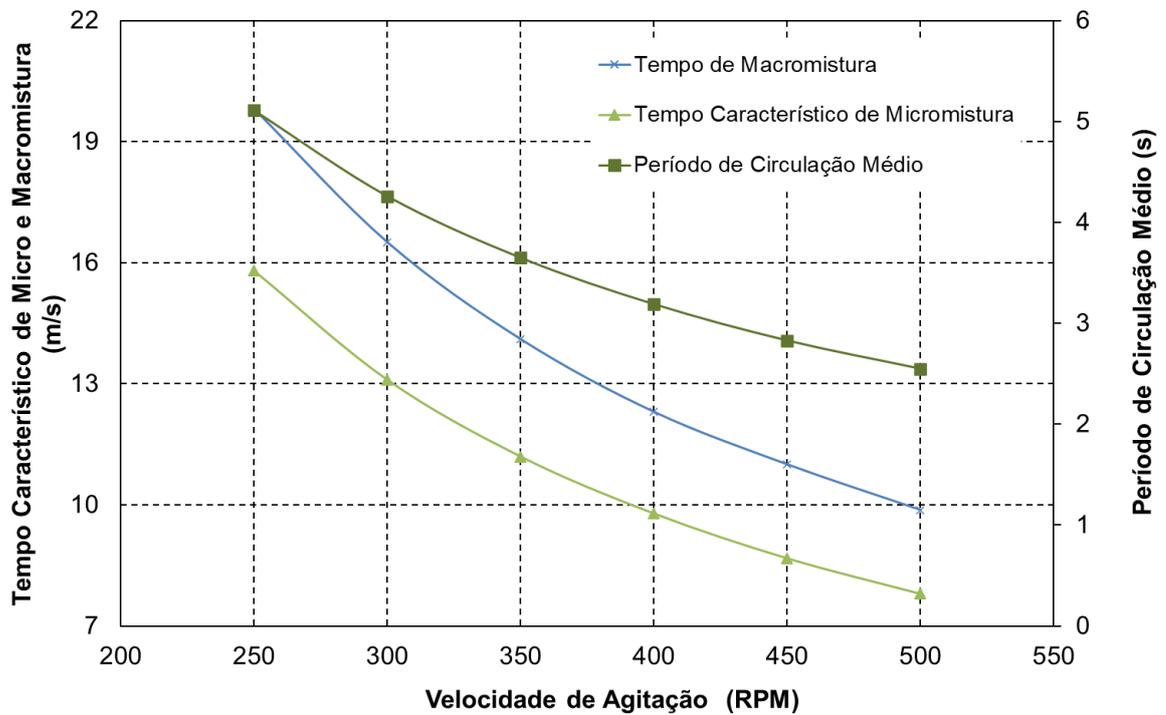
**Figura 5** – Comportamento das principais velocidades em função da velocidade de agitação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Uma outra informação interessante fornecida pelo VisiMix™ é o tempo de macromistura e micromistura, sendo o primeiro o tempo necessário para que a mistura geral de um sistema seja homogênea em escala macroscópica. Já o tempo de micromistura é o tempo necessário para que a mistura ocorra em escala microscópica, garantindo a homogeneidade molecular. Ambos são importantes para alcançar uma mistura eficiente em sistemas de agitação, os valores estimados pelo software para o tempo de macromistura micromistura, assim como período de circulação que é uma medida do tempo necessário para que uma partícula de fluido complete uma volta completa no sistema de agitação, estão apresentados na Figura 6.

**Figura 6** – Comportamento dos tempos característicos e período de circulação em função da velocidade de agitação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

### 5.3.2 Potência Consumida pelo Sistema de Agitação e Mistura

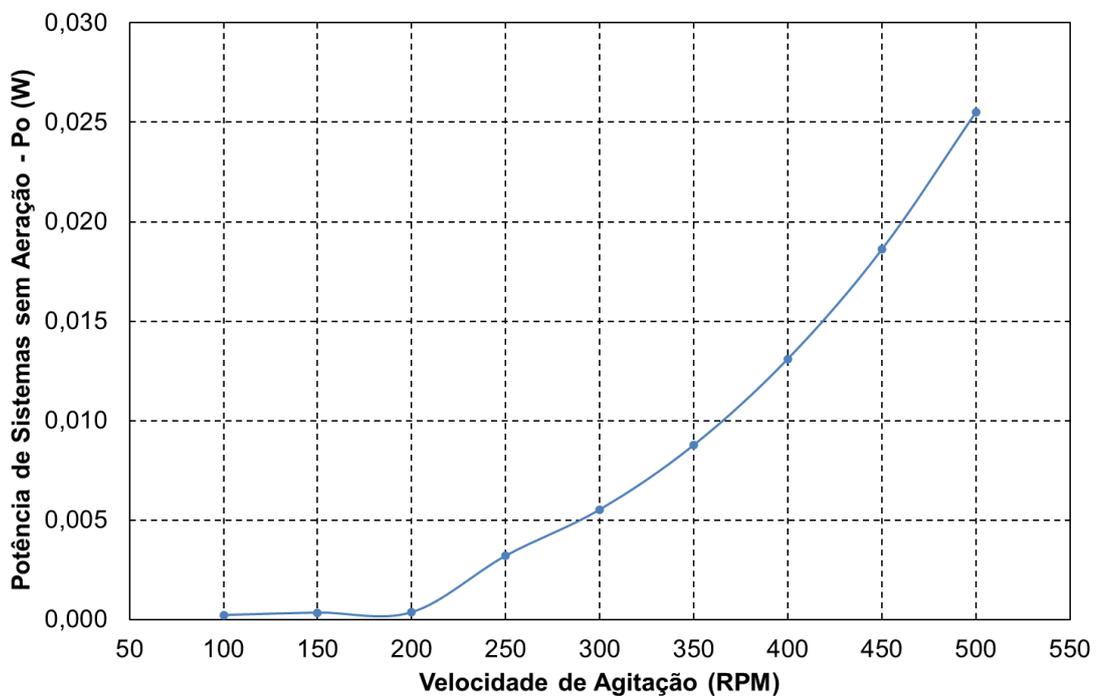
Utilizando o mesmo Software foi possível estimar o poder de mistura não aerado  $P_o$  (capacidade de mistura de um sistema sem a introdução de ar ou gás), em função da rotação, sendo grandezas diretamente proporcionais como é possível concluir analisando a Tabela 12 e Figura 7.

**Tabela 12** – Potência de sistema não gaseificado ( $P_o$ ) do sistema em função da velocidade de agitação aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

Agitação (RPM)	Potência de sistema não gaseificado (W)
100	0,00022
150	0,00035
200	0,00036
250	0,00321
300	0,00554
350	0,0088
400	0,0131
450	0,01860
500	0,02550

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 7** – Potência de sistema não gaseificado ( $P_o$ ) do sistema em função da velocidade de agitação obtidos no VisiMix™.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para calcular a potência de mistura em sistemas aerados, ou com dispersão de gases ( $P_g$ , em W), é necessário utilizar a potência consumida em um sistema de mesma geometria, porém não aerado ( $P_o$ , em W), dados obtidos no VisiMix™ (Tabela 11), para o cálculo utiliza-se a equação desenvolvidas por Kapic e Heindel (2006), Equação 10, os valores calculados estão listados na Tabela 13.

**Tabela 13** – Potência de sistema gaseificado ( $P_g$ ) em função da agitação e vazão de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

Agitação (RPM)	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
<b>100</b>	0,0006	0,0005	0,0005	0,0004	0,0004	0,0004
<b>150</b>	0,0010	0,0009	0,0008	0,0007	0,0007	0,0007
<b>200</b>	0,0012	0,0010	0,0009	0,0009	0,0008	0,0008
<b>250</b>	0,0072	0,0062	0,0053	0,0051	0,0049	0,0046
<b>300</b>	0,0119	0,0102	0,0088	0,0083	0,0080	0,0075
<b>350</b>	0,0181	0,0155	0,0134	0,0127	0,0122	0,0115
<b>400</b>	0,0260	0,0224	0,0192	0,0183	0,0176	0,0165
<b>450</b>	0,0358	0,0308	0,0265	0,0252	0,0242	0,0228
<b>500</b>	0,0478	0,0411	0,0353	0,0336	0,0323	0,0303

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como poder-se-ia verificar na Tabela 12, à medida que a agitação do sistema é aumentada, a energia de mistura em sistemas não aerados aumenta, enquanto a dispersão e o transporte de bolhas e gás resultam em uma redução dessa energia em sistemas aerados ao passo que se aumenta a vazão de ar, conforme demonstrado na Tabela 13. Esse fenômeno provavelmente ocorre devido à formação de cavidades de ar causadas pelo deslocamento dos gases.

Efetivamente, as repercussões da agitação e aeração em um reator têm um impacto direto nos resultados relacionados à energia empregada, tanto no transporte de massa em sistemas gasosos quanto no mero deslocamento do fluido em sistemas não aerados. De forma genérica, nos sistemas gasosos, existem efeitos entrelaçados e simultâneos da agitação não mecânica e da agitação mecânica. A agitação não mecânica ocorre naturalmente quando ocorre a dispersão do gás no meio líquido,

desencadeando o movimento do sistema. Essa agitação se combina com a agitação forçada pelo agitador e o cisalhamento do fluido nas estruturas internas, resultando em turbulência e aprimoramento da mistura.

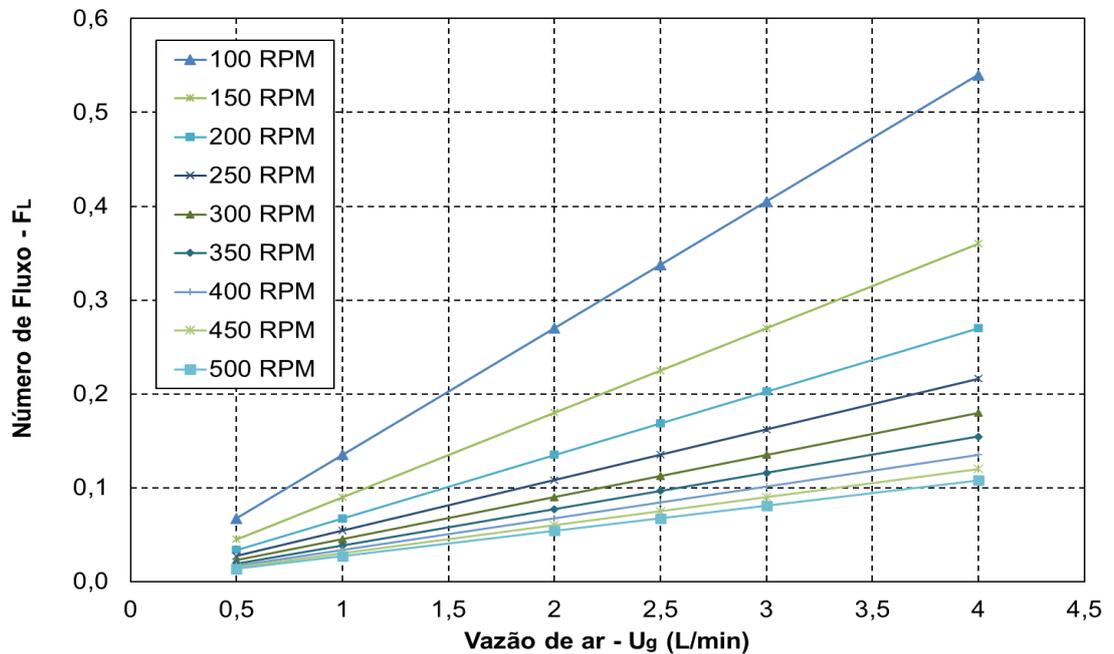
A fim de investigar as características de mistura do biorreator e do sistema de agitação, foram realizados cálculos relacionados ao consumo de energia pelo impelidor e seu comportamento em resposta a variações na aeração e dispersão de gases. Para isso, foram determinados os números de fluxo, Equação 11, que representam o bombeamento do sistema, levando em consideração diferentes níveis de agitação. Esses níveis foram alcançados através do aumento direto da vazão de ar no dispersor de bolhas e aumento inverso ao aumento da agitação do impelidor, os valores obtidos foram organizados para Tabela 14 e Figura 8.

**Tabela 14** – Número de fluxo (FL) para as diferentes agitações e vazões de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

Agitação (RPM)	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
<b>100</b>	0,067	0,135	0,270	0,337	0,405	0,540
<b>150</b>	0,045	0,090	0,180	0,225	0,270	0,360
<b>200</b>	0,034	0,067	0,135	0,169	0,202	0,270
<b>250</b>	0,027	0,054	0,108	0,135	0,162	0,216
<b>300</b>	0,022	0,045	0,090	0,112	0,135	0,180
<b>350</b>	0,019	0,039	0,077	0,096	0,116	0,154
<b>400</b>	0,017	0,034	0,067	0,084	0,101	0,135
<b>450</b>	0,015	0,030	0,060	0,075	0,090	0,120
<b>500</b>	0,013	0,027	0,054	0,067	0,081	0,108

Fonte: Elaborado pelo autor.

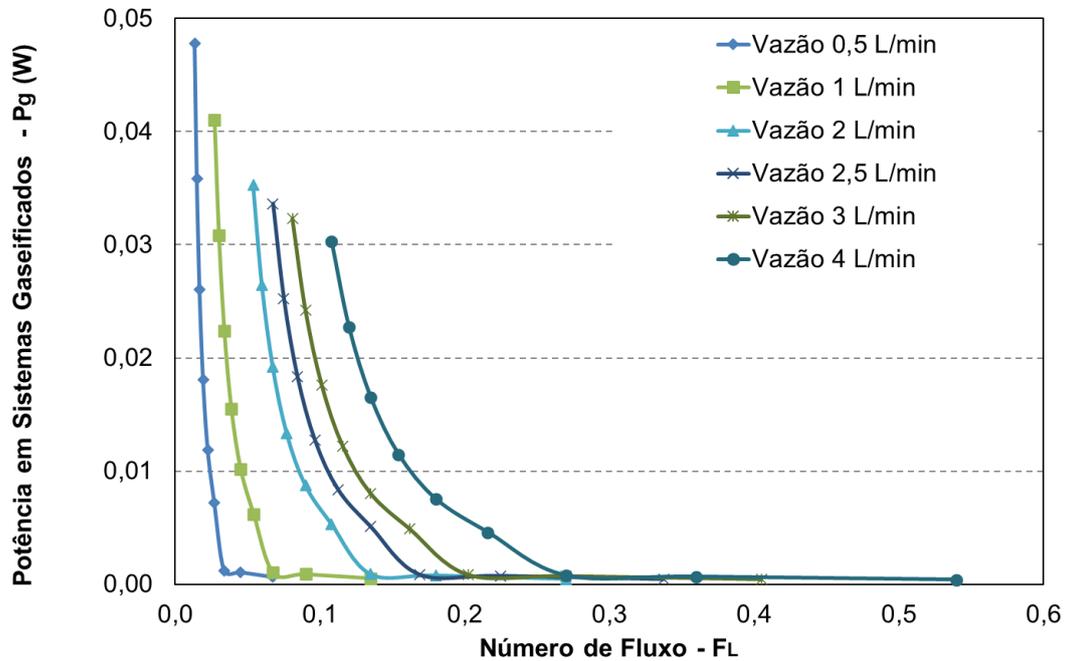
**Figura 8** – Número de fluxo  $F_L$  para as diferentes agitações e vazões de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De posse dos valores de potências para sistema não gaseificado e gaseificados, assim como número de fluxo foi possível observar o comportamento e relação entre essas variáveis, como poder-se-ia observar na Figura 9 e Figura 10, sendo a primeira a potência de sistema gaseificado em função do número de fluxo e a segunda a razão entre a potência de sistema gaseificado e não gaseificado em função do número de fluxo, respectivamente.

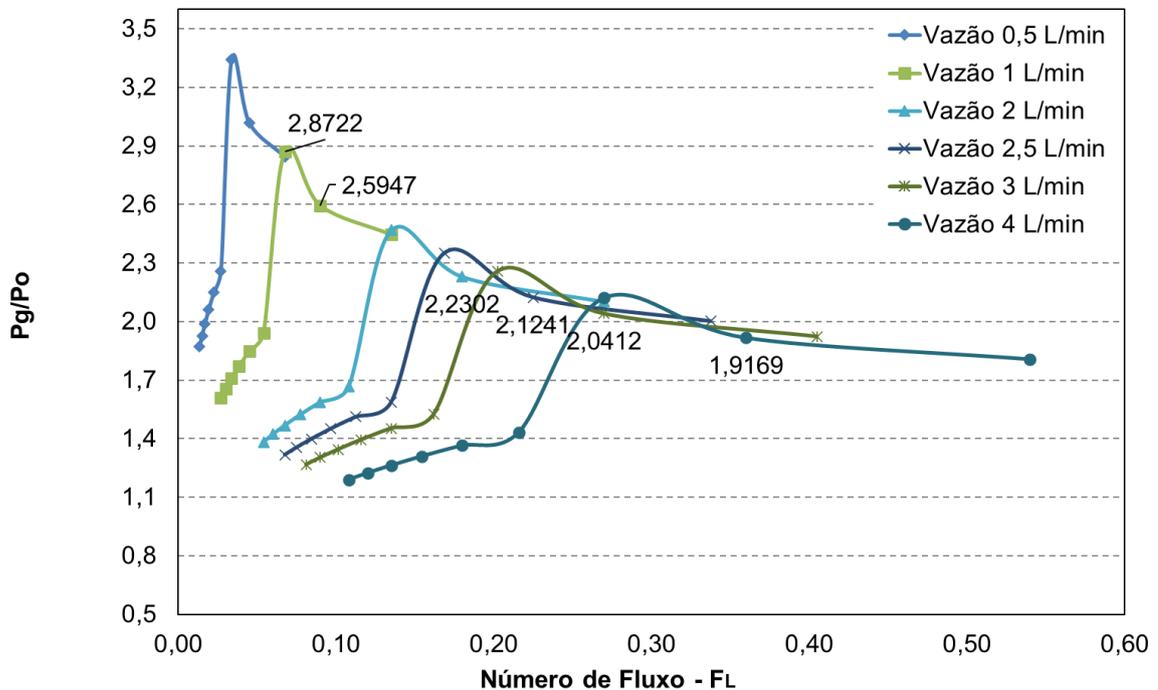
**Figura 9** – Potência de sistema gaseificado em função do número de fluxo aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando o gráfico acima poder-se-ia identificar o ponto de operação mais eficiente, onde a potência necessária é minimizada em relação ao número de fluxo, percebe-se que o valor da potência em sistema gaseificado se torna quase constante e mínima próximo do ponto de 400 RPM para todas as vazões de ar estudadas, dessa forma sugere-se que esse valor de agitação é o ponto ótimo de operação, lembrando que os dados de  $k_La$  foram obtidos experimentalmente com uma agitação de 250 RPM.

**Figura 10** – Razão entre potência de sistema gaseificado e sistema não gaseificado em função do número de fluxo aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Pela análise da relação  $P_g/P_o$  para as diferentes condições de agitação e mistura (números de fluxo,  $F_L$ ), percebeu-se que baixos valores de vazão de ar desfavorecem o sistema, possivelmente devido à formação de bolhas muito grandes, tal resultado causa impacto no cultivo.

### 5.3.3 Estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio

#### 5.3.3.1 Modelo empírico

Diversas são as variáveis que influencia a transferência de massa dentro de do reator em um processo fermentativo. Dessa forma escolheu-se as entradas de controle representativas (concentração de potência e velocidade superficial do gás) para o diâmetro da bolha e retenção do gás podem ser usadas (Moo-Young & Blanch - 1981). As duas entradas representam as forças que atuam nas bolhas, como as

forças de arrasto, flutuabilidade, inercial e de tensão superficial. Essas substituições levaram à forma de correlação empírica mais amplamente usada, Equação 12:

Nesta expressão, A, B e C são parâmetros específicos,  $P_g/V_L$  representa o requerimento de potência por unidade de volume e  $U_g$  representa a velocidade superficial de gás no meio líquido. Os valores da concentração de potência em função da vazão de ar estão listados na Tabela 15 para a vazão estudada por Palitot (2016) e o volume do líquido do reator bioquímico utilizado nos experimentos.

**Tabela 15** – Razão entre potência de mistura e volume de líquido para rotação de 250 RPM em função da vazão de ar aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
$P_g/V_L$ (W.m <sup>-3</sup> )	3,345	2,875	2,471	2,354	2,262	2,124

Fonte: Elaborado pelo autor.

Esses valores foram utilizados para se estimar os valores de  $k_L a$  para todos as correlações da Tabela 4. Os valores calculados em função da vazão de ar estão organizados na Tabela 16.

**Tabela 16** – Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo  $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$  com agitação de 250 RPM (continua).

Referências	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	4,0
<b>Bouaifi et al.</b> <b>(2001)</b>	0,027	0,037	0,052	0,058	0,064	0,074
	0,010	0,013	0,017	0,018	0,020	0,022
	0,003	0,004	0,004	0,005	0,005	0,005
	0,010	0,012	0,016	0,018	0,019	0,021
<b>Fujasova et al.</b> <b>(2007)</b>	0,003	0,004	0,005	0,005	0,005	0,006
	0,010	0,012	0,016	0,018	0,019	0,021
	0,003	0,004	0,004	0,005	0,005	0,006
	0,008	0,011	0,014	0,015	0,016	0,017
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	0,279	0,505	0,916	1,109	1,297	1,660
	0,433	0,817	1,541	1,891	2,234	2,908
	0,124	0,204	0,335	0,394	0,448	0,551
	0,180	0,310	0,533	0,635	0,732	0,917
	0,222	0,404	0,738	0,895	1,049	1,346
<b>Gagnon et al.</b> <b>(1998)</b>	0,292	0,533	0,972	1,179	1,381	1,772
	17,530	22,274	28,301	30,569	32,557	35,959
	5,586	6,968	8,690	9,331	9,889	10,839
	5,956	7,370	9,121	9,769	10,332	11,288
	13,425	17,337	22,390	24,311	26,003	28,915
	16,026	21,592	29,092	32,022	34,634	39,196
<b>Gezork et al.</b> <b>(2001)</b>	31,359	46,457	68,823	78,106	86,612	101,958
	0,008	0,009	0,010	0,011	0,011	0,011
<b>Hickman (1988)</b>	0,008	0,008	0,009	0,009	0,009	0,009
	0,047	0,066	0,092	0,102	0,111	0,128
	0,032	0,048	0,071	0,080	0,089	0,104

**Tabela 16** – Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo  $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$  com agitação de 250 RPM (conclusão).

<b>Kapic and Heindel (2006)</b>	0,047	0,066	0,093	0,104	0,113	0,131
<b>Kapic et al. (2006)</b>	0,003	0,004	0,004	0,005	0,005	0,005
<b>Linek et al. (1987)</b>	0,008	0,009	0,011	0,012	0,013	0,014
	0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004
<b>Linek et al. (1990)</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Linek et al. (1994)</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Linek et al. (1996)</b>	0,013	0,018	0,023	0,025	0,027	0,031
	0,010	0,012	0,016	0,017	0,018	0,020
	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,005
	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
<b>Moucha et al. (2003)</b>	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,004
	0,005	0,006	0,007	0,007	0,008	0,008
	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
<b>Ni et al. (1995)</b>	1,931	2,789	4,030	4,536	4,997	5,822
<b>Smith et al. (1977)</b>	0,014	0,017	0,020	0,022	0,023	0,025
	4,694	3,017	1,940	1,683	1,498	1,247
<b>Van't Riet (1979)</b>	0,030	0,040	0,053	0,058	0,062	0,070
	0,041	0,042	0,043	0,044	0,044	0,045
<b>Vasconcelos et al. (2000)</b>	0,093	0,120	0,155	0,168	0,180	0,200
<b>Zhu et al. (2001)</b>	0,036	0,047	0,063	0,069	0,074	0,084
<b>Média</b>	2,189	2,916	3,961	4,385	4,769	5,455

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores de  $k_{La}$  para todas as correlações foram plotados e estão ilustrados na Figura 11, como poder-se-ia observar alguns modelos tais como Gagnon *et al* (1998) estão muito distantes dos valores obtidos por Palitot (2016) por esse fato optou-se por plotar um segundo gráfico, Figura 12, retirando esses modelos dispersos.



### 5.3.3.2 Modelo proposto por Yawalkar et al (2002)

O modelo de correlação proposto por Kopic e Heindel, 2006, não considera os padrões de fluxo e as condições de carregamento do impulsor, no entanto, essas são características importantes de um sistema, um outro modelo, Equação 13, foi proposto por Yawalkar et al. (2002).

Nesta expressão, A, B e C são parâmetros específicos,  $N/N_{CD}$  representa a razão entre a agitação taxa mínima de agitação e  $U_g$  representa a velocidade superficial de gás no meio líquido. A taxa mínima de agitação é calculada segundo a Equação 14, sendo um parâmetro que depende do diâmetro do tanque e impelidor, assim como a taxa de aeração do sistema, os valores calculados estão listados na Tabela 16. Na Tabela 17 também constam os valores da razão entre a taxa de agitação e a taxa mínima de agitação, é válido ressaltar que a taxa de agitação para o cálculo de  $k_{La}$  é de 250 RPM, conforme estudado por Palitot (2016). Vale salientar, que o valor de  $N_{CD}$  é uma medida indireta da velocidade de impulsor de dispersão completa, em outras palavras, é um valor referente a energia mínima para dispersão completa do gás.

**Tabela 17** – Agitação mínima requerida em função da vazão de ar com agitação de 250 RPM aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

	Vazão de ar ( $L \cdot min^{-1}$ )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
<b><math>N_{CD}</math> (RPM)</b>	28,150	39,810	56,300	62,945	68,953	79,620
<b><math>N/N_{CD}</math></b>	8,881	6,28	4,441	3,972	3,626	3,14

Fonte: Elaborado pelo autor.

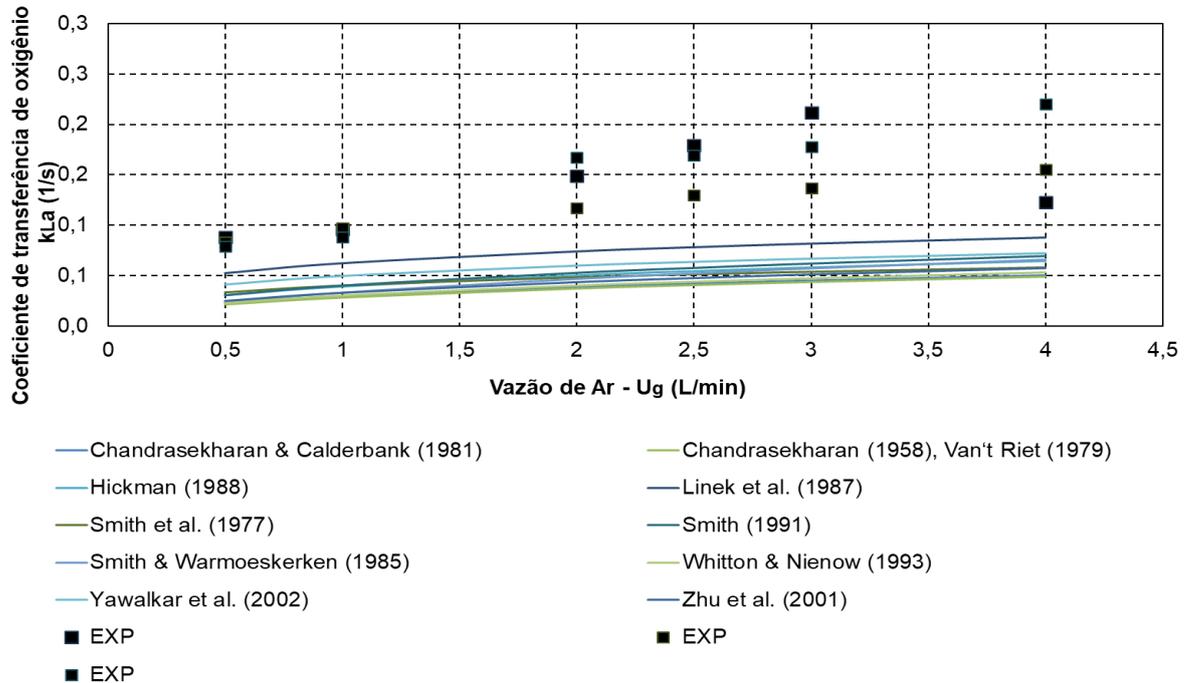
Os valores da Tabela 17 foram utilizados para calcular o valor de  $k_{La}$  para todas as correlações expostas na Tabela 5. Os valores encontrados estão expostos na Tabela 18 e a Figura 13.

**Tabela 18** – Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo  $k_{La}=C.(N/N_{CD})^A.U_G^B$  com agitação de 250 RPM.

Referências	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1,0	2,0	2,5	3,0	4,0
<b>Chandrasekharan &amp; Calderbank (1981)</b>	0,023	0,029	0,038	0,042	0,045	0,050
<b>Chandrasekharan (1958), Van't Riet (1979)</b>	0,021	0,028	0,037	0,040	0,043	0,049
<b>Hickman (1988)</b>	0,030	0,039	0,050	0,054	0,058	0,065
<b>Linek et al. (1987)</b>	0,053	0,062	0,074	0,078	0,082	0,088
<b>Smith et al. (1977)</b>	0,033	0,040	0,048	0,051	0,054	0,058
<b>Smith (1991)</b>	0,030	0,040	0,053	0,058	0,062	0,070
<b>Smith &amp; Warmoeskerken (1985)</b>	0,023	0,033	0,047	0,052	0,057	0,066
<b>Whitton &amp; Nienow (1993)</b>	0,023	0,030	0,040	0,044	0,047	0,053
<b>Yawalkar et al. (2002)</b>	0,041	0,050	0,060	0,064	0,067	0,072
<b>Zhu et al. (2001)</b>	0,025	0,033	0,044	0,048	0,051	0,057
<b>Média</b>	0,030	0,038	0,049	0,053	0,057	0,062

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 13** – Coeficiente de transferência de oxigênio em função da vazão de ar para todas as correlações do tipo  $k_{La}=C.(N/N_{CD})^A.U_G^B$  com agitação de 250 RPM.



### 5.3.3.3 Melhores resultados obtidos para estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio

Embora os modelos propostos pelas Equações 12 e 13 sejam amplamente utilizadas na prática, é importante destacar que elas fornecem poucas informações sobre as características específicas do sistema e o mecanismo de transferência de massa. Estudos anteriores (Kawase & Moo-Young, 1988) mostraram sua limitação ao não considerar fatores como os regimes de operação do agitador, os padrões de fluxo, as forças envolvidas e as propriedades dos líquidos e gases.

Essas correlações são uma representação global do sistema, não levando em conta os efeitos em escala microscópica que são essenciais para a transferência de massa gás-líquido. As condições específicas do sistema, como a geometria do reator, a distribuição de velocidade, a presença de defletores e outros componentes, podem ter um impacto significativo na transferência de massa, mas não são consideradas nessa equação (Kapic & Heindel - 2006). Apesar dos fatos supracitados, algumas



Por fim calculou-se o erro quadrático percentual para as três correlações, Tabela 20.

**Tabela 20** – Erro quadrático percentual das melhores correlações para o coeficiente de transferência de oxigênio aplicadas ao sistema de cultivo microbiano para produção de 2-FE.

Referências	Vazão de ar (L.min <sup>-1</sup> )					
	0,5	1	2	2,5	3	4
<b>Kapic and Heindel (2006)</b>	19,01	10,06	4,12	4,00	3,00	2,40
<b>Vasconcelos et al. (2000)</b>	1,35	5,83	10,80	8,54	10,05	8,43
<b>Linek et al. (1987)</b>	13,25	12,86	13,37	16,00	16,00	18,68

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como poder-se-ia observar apesar de ter um resultado próximo dos dados experimentais, os valores propostos por Linek *et al.* (1987) para todos os pontos apresentou erro superior à 10 %, dessa forma optou-se por excluir essa correlação, apesar de ser a melhor correlação para o modelo proposto por Yawalkar *et al.* (2002), portanto nenhuma das correlações da Tabela 5 obteve um bom ajuste. Já para o modelo proposto Kapic & Heindel (2006) destacam-se os valores de coeficientes propostos pelos mesmos autores, assim como os valores propostos por Vasconcelos *et al.* (2000). Por apresentarem erros superiores à 10% em alguns pontos, o presente autor sugere a utilizam das correlações na forma condicional proposta pela Equação 15.

$$\begin{cases} k_L a = 0,06 \left(\frac{P_g}{V_L}\right)^{0,66} U_g^{0,51}, & 0 \leq U_g < 2 \\ k_L a = 0,04 \left(\frac{P_g}{V_L}\right)^{0,47} U_g^{0,6}, & 2 \leq U_g \leq 4 \end{cases} \quad (15)$$

## 6 CONCLUSÃO

A produção de 2-feniletanol, um composto amplamente utilizado devido ao seu odor característico de rosas, enfrenta desafios relacionados ao seu elevado custo de mercado e às limitações das rotas de produção convencionais. A extração natural do óleo essencial de flores, como as rosas, apresenta rendimentos desfavoráveis e não justifica o alto custo do processo. Além disso, a síntese química do 2-FE, utilizando compostos tóxicos e poluentes, nem sempre resulta em alta pureza do produto.

Diante dessas questões, as rotas biotecnológicas de síntese do 2-feniletanol têm surgido como alternativas promissoras para minimizar os custos associados à produção convencional. Nesse contexto, a levedura *K. marxianus* tem se destacado como uma boa opção, uma vez que é reconhecida como uma cepa segura e apresenta bom desempenho na produção desse composto. No entanto, os resultados obtidos até o momento revelam limitações de rendimento decorrentes das condições operacionais utilizadas. Portanto, apesar de representarem uma alternativa de baixo custo em relação à produção química, é necessário considerar e superar essas limitações para otimizar a produção biotecnológica de 2-FE.

A otimização se justifica pelo fato de fontes de carbono oriundas de resíduos agroindustriais, como o suco do bagaço de caju, terem se mostrado bons substratos para um produto de alto valor agregado. Atualmente, o aumento do rendimento da reação, assim como o escalonamento do processo, são os maiores desafios enfrentados no projeto. Foi demonstrado que uma abordagem termodinâmica pode fazer previsões quantitativas significativas para o crescimento biológico e sistemas de produção. Tanto a estequiometria quanto a cinética podem ser previstas, o que torna a abordagem muito valiosa para projetos preliminares de processos.

Considerando a necessidade de avaliar modelos que descrevam o comportamento de biorreatores aerados e a busca por reduzir o tempo e custo envolvidos no desenvolvimento de estratégias de escalonamento de processos bioquímicos, como a produção de 2-FE, este estudo fornece subsídios elucidativos para a seleção de critérios específicos de transposição de escala de um reator em escala laboratorial para uma escala comercial.

O presente trabalho conseguiu contemplar todos os objetivos pré-estabelecidos, sendo possível estimar os parâmetros de crescimento celular. Destaca-se o valor encontrado para taxa máxima de crescimento celular teórico, que apresentou um desvio em relação ao encontrado experimentalmente por Costa (2018).

O software VisiMix™ foi de extrema importância para a análise dos parâmetros de agitação e mistura. Utilizando esse programa, foi possível examinar os comportamentos dos perfis de velocidade, tempos de mistura e até mesmo o número de Reynolds. O software também forneceu os valores de potência de mistura para um sistema não gaseificado. A partir dessas variáveis, foi possível calcular os demais parâmetros e, conseqüentemente, determinar as melhores correlações para estimativa do coeficiente de transferência de oxigênio.

Nenhuma correlação encontrada na literatura ajustou os dados experimentais com um erro quadrático percentual menor do que 10% em todos os pontos de aeração. Portanto, foram escolhidas as melhores correlações. Em uma próxima etapa dessa pesquisa, sugere-se o desenvolvimento de uma nova correlação, para o qual novos dados de  $k_{La}$  em diferentes condições operacionais, como rotação, devem ser testados. O autor também sugere a realização de um estudo para analisar a influência da viscosidade na transferência de oxigênio.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, T. L. *et al.* **Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510.** *Catalysis Today*, v. 255, p. 33–40, 2015.

BARROS, A. L. N. de. **Análise de perfumes: Revisão de métodos de análise de perfumes.** 2012. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <https://docplayer.com.br/3166024-Alessandro-lucas-nobrega-de-barros-analise-de-perfumes.html>. Acesso em: 03 jun. 2023.

BARROS, E. M. *et al.* **Comparison of strategies for the simultaneous saccharification and fermentation of cashew apple bagasse using a thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* to enhance cellulosic ethanol production.** *Chemical Engineering Journal*, v. 307, p. 939–947, 2017.

BARROS, E. M. *et al.* **Comparison of strategies for the simultaneous saccharification and fermentation of cashew apple bagasse using a thermotolerant *Kluyveromyces marxianus* to enhance cellulosic ethanol production.** *Chemical Engineering Journal*, v. 307, p. 939–947, 2017.

BELTRAN, G. **Production of 2-phenylethanol by a newly isolated Dekkera/Brettanomyces yeast,** 2017.

BESSA, L. R. S. *et al.* **Agitation parameters influence the production of volatile compounds in batch fermentation of *Kluyveromyces marxianus*.** *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 96, n. 1, p. 145-153, 2021.

BEZERRA, T. M. *et al.* **Valorization of cashew apple agro-industrial waste as a source of bioactive compounds.** *Trends in Food Science & Technology*, v. 91, p. 87-97, 2019.

BOELENS, M. H.; BOELENS, H.; LINSKENS, H. F. **Volatile Constituents of Rose Flowers.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 39, n. 9, p. 1619-1622, 1991.

BONOMO, J. *et al.* **Estimation of growth parameters for *Lactobacillus rhamnosus* in synthetic wine using a mathematical model.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 163, n. 2-3, p. 202-210, 2013.

CARVALHO, A. K. F. *et al.* **Influence of nitrogen supplementation on ethanol production from cashew apple juice by *Kluyveromyces marxianus*.** *Food Science and Technology*, v. 36, n. 3, p. 454-461, 2016.

CARVALHO, M. B. *et al.* **Biotechnological production of aroma compounds: current status and perspectives.** *Biotechnology Advances*, v. 36, n. 8, p. 2068-2086, 2018.

CEAGESP. **Conheça os benefícios do caju: produto destaque da semana.** Disponível em: <https://ceagesp.gov.br/comunicacao/noticias/conheca-os-beneficios-do-caju-produto-destaque-da-semana-0610/>. Acesso em: 20 jun. 2023

CHENG, J. *et al.* **Effects of agitation and aeration on bioethanol production from lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, v. 263, p. 262-267, 2018.

CHISTI, Y. **Generalized model for the prediction of biomass and product yields in photobioreactors.** *Journal of Biotechnology*, v. 70, n. 1-3, p. 297

CHOI, H.-S. *et al.* **Analysis of Volatile Components in *Osmanthus fragrans* Lour.** *Journal of Essential Oil Research*, v. 16, n. 6, p. 517-520, 2004.

CORREIA, J. A. C. **Estudo do pré-tratamento do bagaço de caju com peróxido de hidrogênio alcalino para a produção de etanol.** 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

COSTA, F. K. C. **Avaliação da biossíntese de 2-feniletanol por *Kluyveromyces marxianus* ATCC 36907 em suco de caju.** Dissertação (Mestrado em Engenharia

Química) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

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.

COSTA, S. S. *et al.* **Produção de bioetanol a partir do bagaço de caju.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 37, n. 2, p. 314-319, abr.-jun. 2017.

DANTAS-BARROS, A. M. *et al.* **Cashew Apple Juice Alcoholic Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: Evaluation of Process Parameters and Kinetic Modeling.** *Journal of Food Science and Technology*, v. 56, n. 1, p. 243-250, 2019.

DÍAZ-PÉREZ, A. L. *et al.* **2-Phenylethanol production by *Kluyveromyces marxianus* in a continuous system using diluted sugar cane blackstrap molasses.** *Food and Bioproducts Processing*, v. 111, p. 51-59, 2018.

DUARTE, W. F. *et al.* **Production of Volatile Compounds by *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida sp.* in Cashew Apple Juice.** *Food Chemistry*, v. 107, n. 3, p. 1413-1418, 2008.

EMBRAPA. **Produção de castanha do caju cresce 33% em 2022.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/78004497/producao-de-castanha-do-caju-cresce-33-em-2022#:~:text=Os%20n%C3%BAmeros%20foram%20de%2019.020,produzidos%20por%20hectare%2C%20em%202022>. Acesso em: 04 jun. 2023.

ESHKOL, N. *et al.* **Production of 2-phenylethanol from L-phenylalanine by a stress tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 106, n. 2, p. 534–542, 2009.

EZEJI, T. C. **Biotechnological production of 2-phenylethanol**, 2015.

FONSECA, G. G. *et al.* **The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 79, n. 3, 2008. DOI: 10.1007/s00253-008-1458-6

FORTI, M. E. *et al.* **Chemical composition, aroma profile, and sensory characteristics of a red blend wine aged with French and American oak chips.** Food Research International, v. 105, p. 226-236, 2018.

FUJASOVA, M. *et al.* **Mass transfer correlations for multiple-impeller gas-liquid contactors. Analysis of the effect of axial dispersion in gas and liquid phases on “local” k<sub>L</sub>a values measured by the dynamic pressure method in individual stages of the vessel,** Chemical Engineering Science, 62(6): 1650–1669, 2007.

GILL, N. K. *et al.* **Quantification of power consumption and oxygen transfer characteristics of a stirred miniature bioreactor for predictive fermentation scale-up.** Biotechnology and Bioengineering, v. 99, n. 5, p. 1175-1184, 2008.

GÜLÇİN, İ. *et al.* **The role of phenolic compounds in food and human health.** International Journal of Food Properties, v. 20, sup2, p. 3317-3331, 2017

GUZMÁN-DÁVALOS, L. *et al.* **Duas Novas Espécies de Pleurotus do México.** Mycologia, v. 101, n. 3, p. 425-436, 2009. doi:

HALMENSCHLAGER, G. *et al.* **Cashew Apple Juice Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: Impact of Nutrient Supplementation on Biomass Production and Ethanol Yield.** Food and Bioprocess Technology, v. 11, n. 2, p. 414-424, 2018.

HAN, Y. *et al.* **Overexpression of 2-phenylethanol biosynthetic genes in *Kluyveromyces marxianus* for the production of rose-like aroma.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v. 46, n. 6, p. 805-814, 2019.

HEIJNEN, J. J. *et al.* **In Search of a Thermodynamic Description of Biomass Yields for the Chemotrophic Growth of Microorganisms,** Biotechnology and Bioengineering, 1992, 39, 833-858.

- HUA, D.; XU, P. **Recent advances in biotechnological production of 2-phenylethanol**. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p. 654-660, 2011.
- HUANG, C. *et al.* **Conversion of potato starch to 2-phenylethanol by *Kluyveromyces marxianus***. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 49, n. 3, p. 603-611, 2018.
- HUANG, C. *et al.* **Enhanced 2-phenylethanol production by *Kluyveromyces marxianus* using glucose as the sole carbon source**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 101, n. 10, 2017. DOI: 10.1007/s00253-017-8574-1
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Castanha-de-caju: Cultivo**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/castanha-de-caju-cultivo/br>. Acesso em: 03 jun. 2023.
- JIN, G. *et al.* **2-Phenylethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate by genetically engineered *Kluyveromyces marxianus***. *Bioresource Technology*, v. 273, p. 570-577, 2019.
- JOHNNY, G. **Brazil leads fragrance market in consumption per unit**. Disponível em: [source URL]. Acesso em: 20 maio 2023.
- JUNNE, S. *et al.* **Physiology of Filamentous Fungi in Submerged Culture**. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 124, p. 49, 2011.
- KADIC, E., HEINDEL, T. J., **An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer**, John Wiley & Sons, Inc, 2014.
- KAPIC, A. **Mass transfer measurements for syngas fermentation**. Tese de Mestrado em Engenharia Mecânica. Iowa State University, Ames, Iowa, 2005.
- KAPIC, A., HEINDEL, T.J., **Correlating gas-liquid mass transfer in a stirred-tank reactor**, *Chemical Engineering Research & Design*, 84(3A): 239–245, 2006.
- KUMAR, S. M. *et al.* **Synthesis of 2-phenylethanol from benzaldehyde and ethanol using NaOH as a catalyst: Optimization, modeling and kinetics studies**. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 23, n. 5, p. 661-672, 2019.

LANE, M. M.; MORRISSEY, J. P. ***Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow.** Fungal Biology Reviews, v. 32, n. 1, 2018. DOI: 10.1016/j.fbr.2017.11.001

LEE, J. W. *et al.* **Production of 2-phenylethanol from biomass hydrolysates by *Kluyveromyces marxianus*.** Bioresource Technology, v. 272, p. 285-292, 2019.

LEE, J. W.; KIM, H. U.; CHOI, S. **Recent advances in the synthesis of value-added chemicals and fuels using engineered microbes.** Current Opinion in Biotechnology, v. 50, p. 174-181, 2018. doi: 10.1016/j.copbio.2018.02.014

LI, X. *et al.* **Efficient production of 2-phenylethanol by a genetically modified strain of *Kluyveromyces marxianus*.** Food Science and Biotechnology, v. 27, n. 5, 2018. DOI: 10.1007/s10068-018-0364-6

LINEK, V. *et al.* **Gas-liquid mass transfer coefficient in stirred tanks interpreted through models of idealized eddy structure of turbulence in the bubble vicinity,** Chemical Engineering and Processing, 43(12): 1511 – 1517, 2004.

LINEK, V. *et al.* **Mechanism of mass transfer from bubbles in dispersions: Part II. Mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactor and bubble column,** Chemical Engineering and Processing, 44(1): 121–130, 2005.

LIU, Y. **Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of 2-phenylethanol,** 2016.

LOURENÇO, M. O. *et al.* **Kinetic modeling and optimization of clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus*.** Bioprocess and Biosystems Engineering, v. 28, n. 4, p. 227-233, 2006.

MA, H. *et al.* **Biotechnological production of 2-phenylethanol and carotenoids enriched biomass using permeate from kefir grain production process as a substrate.** Biochemical Engineering Journal, v. 135, p. 48-54, 2018.

MACEDO, J. A. D. *et al.* **Production of flavor compounds by yeasts: Yeast as sources of flavor compounds and metabolic engineering for production.**

Advances in Food and Nutrition Research, v. 92, p. 1-46, 2020.

MACHADO, P. M. A. **Análise e desenvolvimento de formulações para perfumes.** 2011. 69 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Disponível em:

[https://bdm.unb.br/bitstream/10483/1732/1/2011\\_PaulaMarcellyAlvesMachado.pdf](https://bdm.unb.br/bitstream/10483/1732/1/2011_PaulaMarcellyAlvesMachado.pdf).

Acesso em: 03 jun. 2023.

MAICAS, S. **Fermentation processes for the production of aroma compounds.**

In: FERREIRA, A. G. M.; KENNEDY, J. F. (Eds.). Fermentation Processes:

Advances in Research and Application. ScholarlyEditions, 2020, p. 1-30.

MAROSE, S. *et al.* **Modelling and measuring of biomass concentration in a recombinant *Escherichia coli* fed-batch fermentation producing a therapeutic antibody.** Biotechnology and Bioengineering, v. 72, n. 4, p. 381-393, 2001.

MARQUES JÚNIOR, J. D. **Development of a purification process via crystallization of xylitol produced for bioprocess using a hemicellulosic hydrolysate from the cashew apple bagasse as feedstock.** BIOPROCESS AND BIOSYSTEMS ENGINEERING , v. 44, p. 713-725, 2021.

MARTINS, S. *et al.* **Fermentation of Cashew Apple (*Anacardium occidentale L.*) Juice by Yeasts: Growth and Volatile Compound Production.** Food Science and Technology International, v. 21, n. 7, p. 526-537, 2015.

MENEZES, R. S. *et al.* **Exploring cashew apple juice fermentation using *Kluyveromyces marxianus* yeast for bioethanol production.** Biomass Conversion and Biorefinery, v. 10, n. 3, p. 561-570, 2020.

MIYAZAWA, M. *et al.* **Components of the Essential Oil from the Leaves of *Rhododendron brachycarpum*.** Flavour and Fragrance Journal, v. 17, n. 5, p. 369-374, 2002.

MOUCHA, T., LINEK, V., PROKOPOVA, E., **Gas hold-up, mixing time and gas-liquid volumetric mass transfer coefficient of various multiple-impeller configurations: Rushton turbine, pitched blade and techmix impeller and their combinations**, Chemical Engineering Science, 58(9): 1839–1846, 2003.

NIELSEN, J. **Systems Biology of Metabolism: A Road Less Traveled**. Cell Systems, v. 8, n. 1, p. 3-5, 2019.

NIU, Y. *et al.* **Engineering yeast for the production of 2-phenylethanol via a combined biological and chemical approach**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 65, n. 7, p. 1406-1413, 2017.

OLIVEIRA, A. H. *et al.* **Cashew apple juice as microbial cultivation medium for non-immunogenic hyaluronic acid production**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 44, n. 4, p. 1097–1104, dez. 2013a

OLSSON, L.; NIELSEN, J. **On the engineering of yeast**. In: **Microbial production of food ingredients, enzymes, and nutraceuticals**. CRC Press, 2015, p. 1-24.

PALITOT, D. R. T. **Estudo da Produção de 2-Feniletanol por *Kluyveromyces marxianus* CCA 510 Utilizando o suco de caju como substrato**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P. **Solid-state fermentation in biotechnology: fundamentals and applications**. Asiatech Publishers Inc., 2000.

PINHEIRO, A. C. M. *et al.* **Cashew Apple Juice Alcoholic Fermentation Using *Candida valida* and *Saccharomyces cerevisiae*: Influence of Inoculum and Nutrient Supplementation**. Food Research International, v. 116, p. 150-156, 2019.

REZENDE, M. A. *et al.* **Green synthesis of 2-phenylethanol from benzaldehyde and ethanol over MgO-SiO<sub>2</sub> catalysts**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 27, n. 7, p. 1200-1209, 2016.

ROCHA, M. V. P. *et al.* **Cashew apple bagasse as a source of sugars for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* CE025.** *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 38, n. 8, p. 1099–1107, 30 ago. 2011.

ROCHA, M. V. P. *et al.* **Evaluation of dilute acid pretreatment on cashew apple bagasse for ethanol and xylitol production.** *Chemical Engineering Journal*, v. 243, p. 234–243, 2014.

ROCHA, M. V. P. *et al.* **Natural cashew apple juice as fermentation medium for biosurfactant production by *Acinetobacter calcoaceticus*.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 22, n. 12, p. 1295–1299, 2006.

ROCHA-LEÃO, M. H. M. **Biosynthesis of 2-phenylethanol by *Kluyveromyces marxianus* using molasses as carbon source,** 2019.

SANTOS, C. S. *et al.* **Optimization of cashew apple juice fermentation by *Kluyveromyces marxianus* for bioethanol production.** *Industrial Crops and Products*, v. 152, p. 112493, 2020.

SCHIEBERLE, P. **Chemistry of aromas.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 18, p. 8115-8120, 2009.

SHI, S. *et al.* **Production of 2-phenylethanol by *Kluyveromyces marxianus* using glucose and corn steep liquor as substrates.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 67, n. 11, 2019.

SILVA, C. A. *et al.* **Fermentação do Suco de Caju por *Kluyveromyces marxianus*: Influência dos Parâmetros do Processo na Produção de Etanol e Compostos Voláteis.** *LWT - Food Science and Technology*, v. 101, p. 729-736, 2019.

SOUZA, L. M. **Natural and organic cosmetics: Market trends, challenges, and perspectives.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 25, n. 4, p. 386-392, 2015.

TECNAL. **Biorreator de bancada.** Disponível em: [https://tecnal.com.br/pt-BR/produtos/detalhes/12343\\_biorreator\\_bancada](https://tecnal.com.br/pt-BR/produtos/detalhes/12343_biorreator_bancada). Acesso em: 21 jun. 2023.

TELLES, M. **Natural personal care products market: The global trends.** Cosmetics and Toiletries, 2020. Disponível em: [source URL]. Acesso em: 20 maio 2023.

TELLES, M. **Sustentabilidade na indústria de perfumaria e cosméticos: estudo de caso.** 200 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/13717/1/PQSTelles.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2023.

VON STOCKAR, U.; VAN DER WIELEN, L. A. M. (Eds.). **Biothermodynamics: The Role of Thermodynamics in Biochemical Engineering.** 1ª edição. New York: EPFL Press, 2013.

WROLSTAD, R. E. *et al.* **Handbook of food analytical chemistry, pigments, colorants, flavors, texture, and bioactive food components.** John Wiley & Sons, 2012.

YAWALKAR, A. A. *et al.* **Gas-Liquid Mass Transfer Coefficient in Stirred Tank Reactors.** Canadian Journal of Chemical Engineering, v. 80, n. 5, p. 907-911, maio 2002.

## ANEXO A

Tabela 1A – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
Bouaifi <i>et al.</i> (2001)	0,022	0,50	0,60	3,72-18,10	0-1000	ar	água	2( RT, PBT, A310,A315)	0,86	0,43
	0,006	0,74	0,53				água			
	0,001	1,22	0,51				0,5M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
	0,002	0,95	0,58				Sokrat 44			
	0,006	0,69	0,53				água			
Fujasova <i>et al.</i> (2007)	0,001	1,25	0,57	2,12; 4,24; 8,48	0-1200	ar	0,5M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3 (RT no fundo; PBD, PBU,TXD,L T, NS)	0,29; 0,58; 0,87	0,29
	0,001	1,00	0,50				Sokrat 44			
	0,006	0,69	0,53				água			
	0,001	1,20	0,58				0,5M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
	0,001	0,95	0,53				Sokrat 44			
	0,005	0,72	0,50				Água			
	0,000	1,22	0,45				0,5M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
	0,002	0,95	0,57				Sokrat 44			

**Tabela 1B** – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
<b>Gagnon et al.</b> (1998)	0,5	0,01	0,86	0-1,2	0,001-30	ar	água	1 (RT)	0,55	0,23
	0,8	0,02	0,92					2 (RT)		
	0,2	0,02	0,72					2 (RT)		
	0,3	0,03	0,79					3 (RT)		
	0,4	0,01	0,87					HR		
	0,5	0,06	0,88					HRB		
	12,2	0,57	0,47		1 (RT)					
	2,9	0,83	0,50		30-10000			2 (RT)		
	3,2	0,79	0,48					2 (RT)		
	9,2	0,60	0,50					3 (RT)		
	15,4	0,32	0,50					HR		
	31,1	0,38	0,65					HRB		
0,00	0,59	0,27	0-130000	0-100000		ar	água	1 ou 2(	0,29	0,29
5	0,70	0,18			RT )					
0,00										
<b>Gezork et al.</b> (2001)	4						Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			

**Tabela 1C** – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
Hickman (1988)	0,043	0,40	0,57	2,0-17,0	50-3500	ar	água	1 (RT)	n/a	0,6
	0,027	0,54	0,68							2,0
Kapic and Heindel (2006)	0,040	0,47	0,60	0,5-7,2	6,7-13,3 rps	ar	Água	1 (RT)	0,21	0,21
	0,026	0,61	0,61			CO				0,21
Kapic <i>et al.</i> (2006)	0,001	1,23	0,55	0,5-7,2	6,7-13,3 rps	ar	0,5M	2(RT)	0,21	0,21
							Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
Linek <i>et al.</i> (1987)	0,005	0,59	0,40	2,12 ; 4,24	100-3500	ar	Água	1(RT)	n/a	0,29
	0,001	0,95	0,40				0,5M		n/a	0,29
Linek <i>et al.</i> (1990)	0,000	1,24	0,40	n/a	n/a	ar	Água	n/a	n/a	n/a
Linek <i>et al.</i> (1994)	0,000	1,21	0,40	n/a	n/a	ar	0,3M	3(RT)	n/a	n/a
							Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
Linek <i>et al.</i> (1996)	0,009	0,63	0,54	0-8,48	0-8,48	Nitrogênio	Água	4 (RT)	0,19;	0,19
	0,006	0,68	0,50						0,38;	
	0,001	1,17	0,46			0,57;				
	0,001	1,32	0,33			0-130000	Oxigênio		0,76	

**Tabela 1C** – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
<b>Linek et al.</b> (2005)	0,00003	1,18	0,00	1,18 ; 3,6 ; 5,4	10-1500	Oxigênio Puro ou ar	0,8M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 (RT)	0,12	0,12
	0,00003	1,16	0,00				0,8M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e Sokrat 44 (3% vol.)			
	0,00004	1,08	0,00				0,8 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e CMC TS.5 (0,2% massa)			
	0,00022	0,77	0,00				0,8 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e CMC TS.5 (0,6% massa)			
	0,00013	0,73	0,00				0,8 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e Ocenol (3 ppm por Volume)			
	0,00003	1,15	0,00				0,8 Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e PEG 1000 (100 ppm porMassa)			

**Tabela 1E – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).**

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
	0,001	1,25	0,63					1 (TXU)		
	0,002	1,20	0,74					2 (TXU)		
	0,002	1,20	0,70					3 (TXU)		
	0,018	0,88	0,77					1 (TXD)		
<b>Moucha et al.</b> (2003)	0,006	1,01	0,69	2,12; 4,24; 8,48	0-1300	Oxigênio	0,5M Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 (TXD)	0,29; 0,58 ; 0,87	0,29
	0,009	1,01	0,75					3 (TXD)		
	0,002	1,05	0,46					1 (PBD)		
	0,001	1,11	0,39					2 (PBD)		
	0,001	1,15	0,51					3 (PBD)		

---

0,0 03	1,01	0,54	3 (RT, 2 TXU)
0,0 03	1,04	0,51	3 (RT, 2TXD)
0,0 01	1,14	0,46	3 (RT, 2PBD)
0,0 01	1,06	0,36	2 (RT, TXU)
0,0 02	1,02	0,47	2 (RT, TXD)
0,0 01	1,13	0,43	2 (RT, PBD)
0,0 00	1,24	0,34	1(RT)
0,0 01	1,23	0,56	2 (RT)
0,0 01	1,24	0,47	3 (RT)

---

**Tabela 1F – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_L a = C \cdot (P_G/V)^A \cdot U_G^B$ ).**

Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelido r	H (m)	T (m)
Ni <i>et al.</i> (1995)	1,645	0,50	0,64	0,5 vvm	0-10000	ar	Meio com Leveduras	2 (RT)	0,195 ; 0,37	0,12; 0,24; 3,0
Nocentini <i>et al.</i> (1993)	0,015	0,59	0,55	0,1-0,7 vvm	100-10000	ar	água e glicerol	4(RT)	0,70; 0,93	0,23
Pinelli <i>et al.</i> (2003)	0,018	0,37	0,29	7,0-14,0	200-2600	ar	água	2 (BT-6)	0,96; 1,44	0,48
	0,005	0,59	0,40							
	0,000 1	0,58	0,43					1(RT)		
Puthli <i>et al.</i> (2003)	0,000 1	0,61	0,43	1,7-6,4	300-600 RPM	ar	água	2(RT, PBT)	0,22	0,13
	0,000 2	0,67	0,53							
	0,000 1	0,68	0,53				0,25% (m/v) CMC	3 (RT, 2PBT)		

	0,000								0,375%
	1	0,66	0,54						(m/v)
									CMC
	0,002								0,50%
	2	0,36	0,56						(m/v)
									CMC

**Tabela 1G** – Correlações para o coeficiente volumétrico de transferência de massa ( $k_{La}=C.(P_G/V)^A.U_G^B$ ).

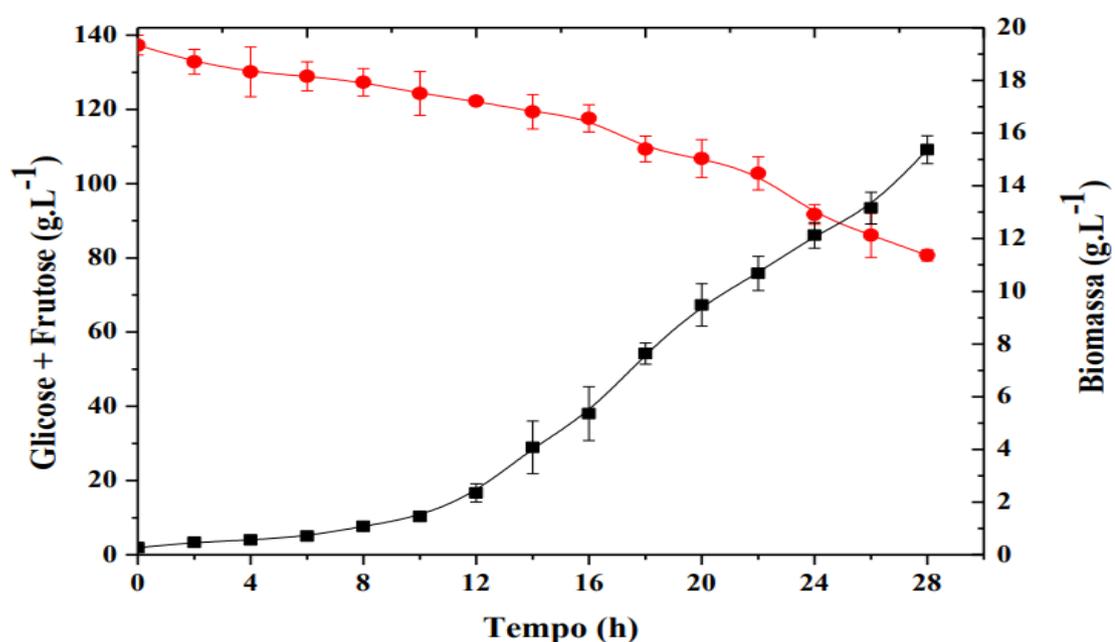
Referência	C	A	B	Faixa de $U_G$ (mm/s)	Faixa de $P_G/V$ (W/m <sup>3</sup> )	Fase Gasosa	Fase Líquida	Impelidor	H (m)	T (m)
Riggs & Heindel (2006)	0,0	0,5	0,65	0,5-2,88	200-600 RPM	CO	água	1 (RT)	0,21	0,21
	51	1								
Smith <i>et al.</i> (1977)	0,0	0,4	0,40	4,0-20,0	20-5000	ar	água	1 (RT)	0,60;	0,44;
	10	8								
	0,0	4,7								
20	5	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,91;	0,91;						
								1,63	1,83	
Van't Riet (1979)	0,0	0,4	0,50	n/a	n/a	n/a	Coalescente	1(RT)	n/a	n/a
	26	0								

	0,0	0,7						Não-			
	20	0	0,20					Coalescente			
<b>Vasconcelos et al.</b> (2000)	0,0	0,6						água	2(RT)	n/a	n/a
	6	6	0,51	n/a	n/a	n/a					
<b>Zhu et al.</b> (2001)	0,0	0,4						água	1(RT)	n/a	0,39
	31	0	0,50	1,0-7,5	100-1500	ar					

Fonte: Reproduzido de Kadic & Heindel, 2014. As correlações de Hickman (1988), Linek *et al.* (1987), Van't riet (1979) e Zhu *et al.* (2001) são, também, citadas em Yawalkar *et al.* (2002).

## ANEXO B

**Figura 12** – Perfil de crescimento e consumo de substrato durante a preparação do inóculo da levedura *K. marxianus* ATCC36907 a 35 °C, 180 RPM usando suco de caju como meio de cultivo. Concentração de Biomassa (■) e Concentração de Glicose mais Frutose (●).



Fonte: Reproduzido de Costa (2018).

**Tabela 1** – Rendimento em biomassa,  $Y_{X/S}$  ( $\text{g.g}^{-1}$ ), rendimento de 2-FE,  $Y_{P/S}$  ( $\text{g.g}^{-1}$ ), produtividade de 2-FE  $Q_P$  ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ), produtividade de biomassa  $Q_X$  ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) e máxima velocidade específica de crescimento  $\mu_{X\text{máx}}$  ( $\text{h}^{-1}$ ) em função da concentrações de açúcar total (glicose + frutose) nos cultivos realizados a 35 °C, 250 RPM, aeração de 2  $\text{L.min}^{-1}$  e 3,0  $\text{g.L}^{-1}$  de L-Phe.

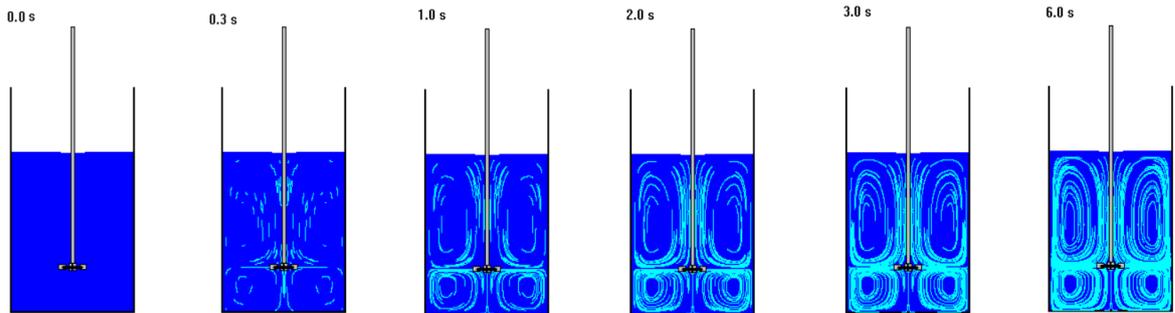
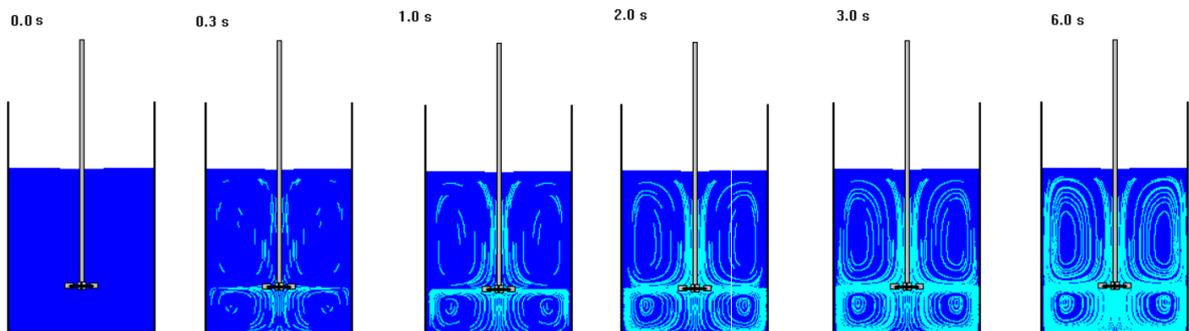
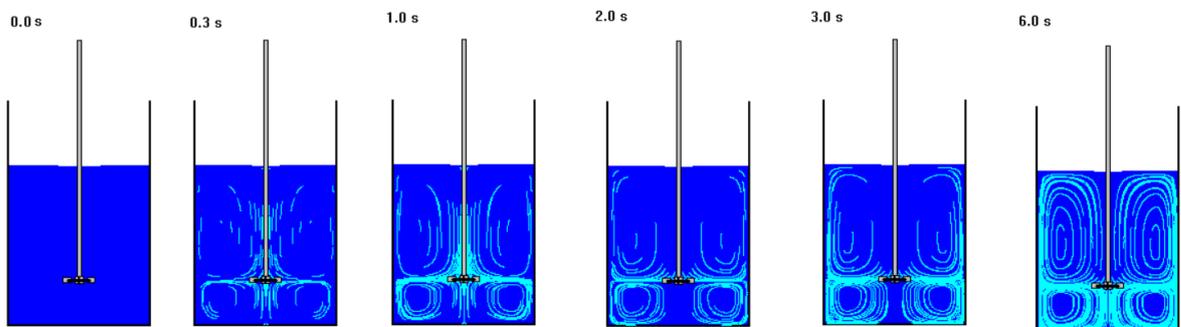
Parâmetro	Concentração de açúcar ( $\text{g.L}^{-1}$ )		
	131 ± 5,7	106 ± 1,2	74 ± 2,8
$Y_{X/S}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,1330	0,1383	0,1801
$Y_{P/S}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,0066	0,0045	0,0060
$Y_{P/X}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,0496	0,0323	0,0334
$Q_P$ ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	0,0116	0,0064	0,0060
$Q_X$ ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	0,2526	0,2042	0,1937
$\mu_{X\text{máx}}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	0,3428	0,3448	0,5039

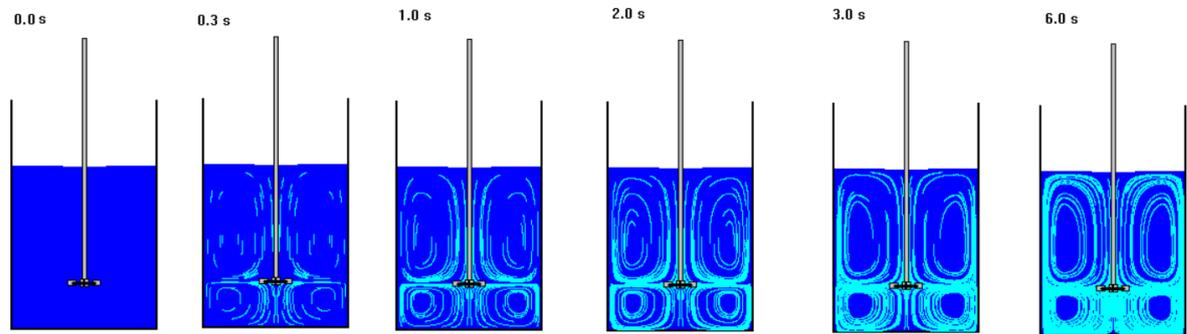
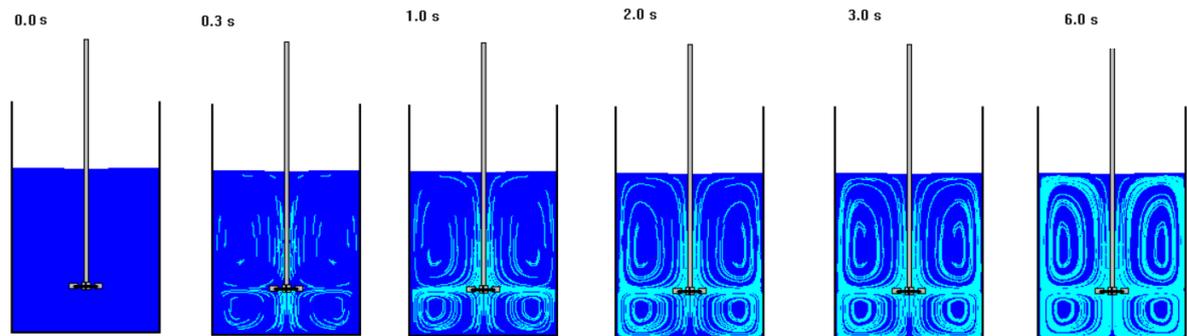
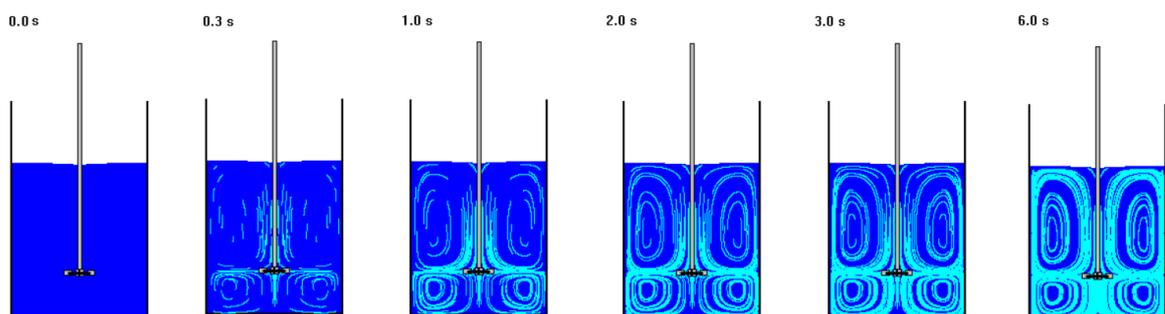
Fonte: Reproduzido de Costa (2018).

**Tabela 2** – Rendimento em biomassa,  $Y_{X/S}$  ( $\text{g.g}^{-1}$ ), rendimento de 2-FE,  $Y_{P/S}$  ( $\text{g.g}^{-1}$ ), produtividade de 2-FE  $Q_P$  ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ), produtividade de biomassa  $Q_X$  ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) e máxima velocidade específica de crescimento  $\mu_{X\text{máx}}$  ( $\text{h}^{-1}$ ) em função da concentração de L-Phe para os cultivos realizados com suco integral (133 ± 2,4  $\text{g.L}^{-1}$ ), 35 °C, 250 RPM e aeração de 2  $\text{L.min}^{-1}$ .

Parâmetro	Concentração de L-Phe ( $\text{g.L}^{-1}$ )			
	1	3	4	10
$Y_{X/S}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,1151	0,1279	0,1335	0,135
$Y_{P/S}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,0041	0,0066	0,0062	0,006
$Y_{P/X}$ ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,0352	0,0514	0,0462	0,049
$Q_P$ ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	0,0072	0,0116	0,0112	0,012
$Q_X$ ( $\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	0,2058	0,2444	0,2455	0,254
$\mu_{X\text{máx}}$ ( $\text{h}^{-1}$ )	0,5115	0,3428	0,863	0,589

Fonte: Reproduzido de Costa (2018).

**APÊNDICE A****Figura 1 – Ilustração dos Padrões de Fluxo e Tempos de Mistura.****A-) Simulação 250 RPM.****B-) Simulação 300 RPM.****C-) Simulação 350 RPM.**

**D-) Simulação 400 RPM.****E-) Simulação 450 RPM.****F-) Simulação 500 RPM.**

Fonte: Elaborado pelo autor.