

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**PERSPECTIVAS DE IMPLEMENTAÇÃO DE CONCEITOS DA
INDÚSTRIA 4.0 NO BIOPROCESSO DE PRODUÇÃO DE *Bacillus*
*thuringiensis***

PABLO ALMEIDA CHAGAS

Trabalho de Graduação apresentado ao
Departamento de Engenharia Química da
Universidade Federal de São Carlos

Orientadora: Prof^a.Dr^a. Fernanda Perpétua Casciotori

São Carlos - SP
2021

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: **Fernanda Perpétua Casciotori, DEQ/UFSCar**

Convidado: **André Bernardo, DEQ/UFSCar**

Professor da Disciplina: **José Maria Corrêa Bueno, DEQ/UFSCar**

Trabalho de Graduação apresentado no dia 16 de Novembro de 2021

DEDICATÓRIA

A minha mãe, **Rafaela Chagas**, pela preocupação, dedicação e amor que sempre teve comigo.

Ao meu pai, **Alexsandro Chagas**, por ter me possibilitado educação de qualidade mesmo com todas as dificuldades.

Ao meu avô, **Jairo Almeida**, por ter apoiado todo o meu desenvolvimento.

A minha avó, **Nancy Chagas**, por sempre ter acompanhado minha vida em todas as fases.

A minha companheira, **Júlia Sonda**, por fazer todos os momentos difíceis serem mais fáceis de lidar

Aos amigos de faculdade que tive o prazer de compartilhar inúmeras experiências, **Leonardo, Reginaldo, Luís, Pedro, Mariana** e tantos outros que auxiliaram na jornada dessa graduação.

A Prof^ª. Dra. **Fernanda Casciatori** por ter me orientado na realização deste trabalho

Aos Prof. **José Maria** e **André Bernardo** por terem aceitado a participar da banca deste trabalho.

Ao **TutorMundi**, por abrir tantas oportunidades em minha vida pessoal e profissional.

A **UFSCar**, onde pude aprender a dar meus primeiros passos e me desenvolver pessoalmente e profissionalmente.

Muito Obrigado!

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores agrícolas do mundo, sendo conseqüentemente um grande utilizador de pesticidas agrícolas para a garantia de venda das safras. É de conhecimento global que muitos tipos de pesticidas utilizados nas plantações são nocivos à saúde humana e causam danos sérios ao meio ambiente, o que sugere uma urgência a uma rota de defensivos agrícolas que possua alta eficiência, não seja prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana, e seja economicamente viável. Nesse sentido, o biopesticida à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* é uma alternativa que atende aos critérios supracitados para substituir o uso de pesticidas. No entanto, o processo produtivo atualmente utilizado não acompanha as tendências mundiais da Indústria 4.0, o que pode resultar em menor competitividade no mercado de pesticidas. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o processo produtivo do biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis* e trazer possíveis interfaces com a Indústria 4.0, sugerindo perspectivas de aplicações de inteligência artificial e internet das coisas em diversas etapas do bioprocessamento produtivo, a fim de se obter um bioprocessamento mais integrado, otimizado e economicamente viável.

ABSTRACT

Brazil is one of the largest agricultural producers and exporters in the world, and is consequently a major user of agricultural pesticides to guarantee the sale of crops. It is globally known that many types of pesticides used on plantations are harmful to human health and cause serious damage to the environment, which requires an urgent need for a route of pesticides that has high efficiency, is not harmful to the environment and health human, and is economically viable. In this sense, the biopesticide based on the bacterium *Bacillus thuringiensis* is an alternative that meets the aforementioned criteria to replace the use of pesticides. However, the production process is currently not conducted as industry 4.0 global trends, which may result in less pesticides being eliminated in the market. Given the above, the objective of this work was to evaluate the production process of the biopesticide based on *Bacillus thuringiensis* and to bring possible interfaces with Industry 4.0, suggesting possibilities of artificial intelligence and internet of things applications in different stages of the productive bioprocess, in order to to obtain a more integrated, optimized and economically viable bioprocess.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Matriz proposta por Falcão (2019) para a sistematização dos pilares da Indústria 4.0	5
Figura 2.2. - Unidade de processamento da Rede Neural Artificial.....	10
Figura 2.3 - Estrutura básica das redes neurais.	11
Figura 2.4 - Maiores consumidores de agrotóxicos do mundo	15
Figura 2.5 - Consumo de agrotóxicos no mundo por área cultivada.....	16
Figura 2.6 - Mercado global de biopesticidas por ano.	19
Figura 4.1 - Diagrama do Processo de produção de biopesticidas a partir do <i>Bacillus thuringiensis</i>	31
Figura 4.2. – Representação do sensor SEN0237-A.	37
Figura 4.3. – Sensor SEN0161.....	38
Figura 4.4. – Representação do sensor SEN0161.....	38
Figura 4.5. - Módulo sensor de luminosidade MH-Sensor-Series/Flying-Fish.....	39
Figura 4.6. – Modelo híbrido de perfil de densidade relativa pelo tamanho celular.....	40
Figura 4.7. – Representação do modelo de perfil de velocidade específica híbrido do fermentador.	40
Figura 4.8. – Fluxograma com modelo de proposta de implementação de conceitos da Indústria 4.0.....	41
Figura 4.9. – Representação do potenciômetro.....	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 - Aquisições e acordos no mercado de pesticidas, sementes e biopesticidas	17
Quadro 4.1 – Propostas de solução, resultados esperados e conceitos da Indústria 4.0 abordados no bioprocessamento de produção <i>Bacillus thuringiensis</i>	42

SUMÁRIO

BANCA EXAMINADORA	i
DEDICATÓRIA.....	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE QUADROS	vi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Objetivo	2
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. Indústria 4.0	3
2.1.1. Os Pilares da Indústria 4.0.....	4
2.2. Redes Neurais	10
2.3. A Indústria Química e o uso de tecnologia 4.0.....	12
2.4. Defensivos Agrícolas	14
2.4.1. Histórico	14
2.4.2. Mercado de defensivos agrícolas.....	15
2.5. Biopesticidas	18
2.5.1. Mercado de biopesticidas	18
2.5.2. As Vantagens dos Biopesticidas.....	20
2.5.3. Bacillus thuringiensis, Bt.....	21
3. METODOLOGIA	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
4.1. Descrição do bioprocesso	25
4.1.1. Fluxograma.....	30
4.2. Discussão de implementação de conceitos da Indústria 4.0	33
4.3. Proposta de implementação de instrumentos e métodos avançados de controle do bioprocesso	36
5. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

O uso de técnicas de controle de pragas é essencial para a manutenção da colheita em larga escala, o que promove a manutenção da vida humana (PELAEZ e MIZUKAWA, 2017). Nesse sentido, com o invento de pesticidas sintéticos ao longo dos anos 40, a produtividade de lavouras foi ampliada consideravelmente, porém, anos depois, análises em um dos principais pesticidas utilizados na época, o DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane), demonstraram que seu uso era de risco à saúde humana e ao meio ambiente (SOARES, 2017). Diante desse contexto, viu-se uma necessidade de um pesticida que não fosse agressivo ao meio ambiente, não causasse danos à saúde humana, fosse economicamente viável e de produção simplificada – o que deu início aos estudos envolvendo biopesticidas (SILVA, 2011). Os biopesticidas são feitos a partir de plantas e micro-organismos, sendo umas das principais alternativas aos pesticidas químicos, por apresentarem as características ideais para o combate de pragas nas lavouras (SILVA, 2011). Tanto os biopesticidas à base de plantas, quanto os microbianos empregam substâncias que combatem doenças e insetos por antibiose, competição ou bloqueio de atividades metabólicas.

Um dos principais defensivos agrícolas orgânicos do mercado brasileiro é o biopesticida à base do *Bacillus thuringiensis*, se destacando pelos resultados na defesa contra pragas de plantações e sua facilidade de produção (OLIVEIRA, 2014), no entanto, os atuais objetos de pesquisa relacionados ao tema buscam se aprofundar em análises técnicas do processo fermentativo, não possuindo foco nas tendências mundiais de avanço tecnológico de processos químicos, que visam sobretudo o uso de análise de dados e processos integrados via internet para otimização de tempo e custo.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar novas perspectivas de implementação de conceitos da Indústria 4.0 no bioprocesso de produção de *Bacillus thuringiensis*, com o propósito de se conduzir uma nova visão desse bioprocesso, onde serão empregadas noções de inteligência artificial, análise de dados e Internet das Coisas, resultando em possíveis otimizações de custos e tempo, além de aceleração nos meios de inovação (STHEL; LOUREIRO, 2018).

1.1. Objetivo

O objetivo deste projeto é avaliar novas perspectivas de implementação de conceitos da indústria 4.0 no bioprocesso de produção de *Bacillus thuringiensis*, aplicando o uso de inteligência artificial e Internet das Coisas no processo fermentativo com base nos parâmetros de produção do biopesticida, integrando o bioprocesso com indicadores do mercado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Indústria 4.0

A indústria 4.0, ou historicamente, a Quarta Revolução Industrial é a denominação dada à nova era da indústria e que se caracteriza pela utilização de recursos de Tecnologia da Informação e Comunicação para melhorar os processos produtivos e negócios em geral. (AZEVEDO, 2017).

O princípio básico dessa nova era do desenvolvimento industrial pauta-se no processo de conexão de maquinários, ativos e sistemas, fornecendo um ambiente controlado e autônomo. Com a utilização dessas novas tecnologias, as organizações passam a ser capazes de criar redes inteligentes ao longo de toda cadeia de valor, adquirindo uma capacidade maior de autogestão e monitoramento desta, conectando máquinas e pessoas em tempo real e controlando a produção de maneira autônoma. É comum a utilização de termos como “indústria inteligente” ou “internet industrial” para se referir a essa quarta parte do processo de Revolução Industrial, ainda se referindo ao cenário em que os processos industriais são transformados rapidamente pela tecnologia da informação. (CHIACA e ABRANTES, 2020)

A indústria, neste cenário inteligente e de inovação, consegue trazer foco maior na personalização em massa com custo mínimo de produção e melhores soluções para as necessidades dos clientes, sistemas inteligentes e formas eficientes de suprir demandas da produção. O fato é que, isso só se tornou possível pelos recentes avanços da digitalização industrial e da integração da internet com o mundo. (FALCÃO, 2019)

Os avanços desse novo tipo de indústria propiciam também atender de forma facilitada e mais efetiva as necessidades dos clientes, uma vez que permitem satisfazer necessidades de flexibilidade, eficiência, sustentabilidade, qualidade e redução dos custos, de maneira sinérgica com o auxílio de tecnologias nos processos de negócios e engenharia. Essa indústria, permite que os clientes participem de forma mais ativa, possibilitando simular todas as etapas do processo, analisando suas influências e, conseqüentemente, melhorando seu desempenho, controle e gerenciamento de informação dentro da cadeia produtiva. (FALCÃO, 2019)

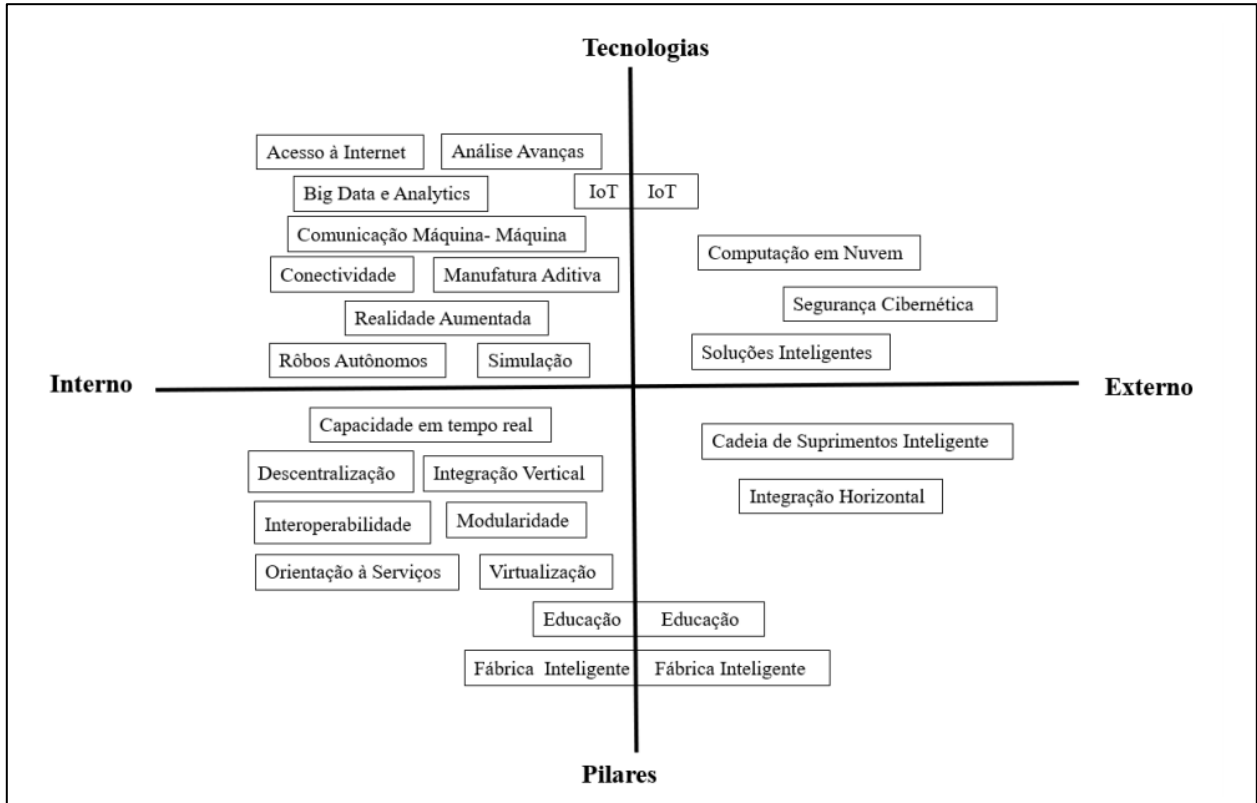
2.1.1. Os Pilares da Indústria 4.0

Como já visto, cada estágio da Revolução Industrial teve como marco e foi caracterizada por um tipo de ferramenta ou avanço. Citando, por exemplo, as máquinas à vapor durante a Primeira Revolução Industrial, a adoção da eletricidade, do petróleo e seus derivados na Segunda Revolução e o avanço da eletrônica e automação digital na Terceira. Para a quarta parte dessa revolução não é diferente. Na atual Quarta Revolução Industrial há um grupo de ferramentas consideradas essenciais para atingir a integração total do sistema e construir novas indústrias inteligentes. (REPOLHO, 2021; BLOEM et al, 2014)

A nova indústria se caracteriza pela junção de um conjunto distinto de tecnologias e inovações. Assim, as organizações controlam seus processos por meio de sistemas ciberfísicos e utilizando de tipos específicos de conexão da Era da Informação, tornando-os mais eficientes, autônomos e personalizáveis (CHIAÇA; ABRANTES, 2020). Dentre os pilares dessas tecnologias pode-se citar: big data e analytics, internet das coisas (IoT), nuvem, segurança cibernética, integração de sistemas (inteligência artificial), robôs autônomos, etc. (REPOLHO, 2021)

Falcão (2019) realizou um estudo a respeito desses pilares através de uma análise utilizando de Revisão Bibliográfica Sistemática chegando em 27 pilares, a Figura 2.1 mostra os resultados da pesquisa na forma de uma matriz, separados em pilares internos e externos e tecnologias internas e externas.

Figura 2.1 - Matriz proposta por Falcão (2019) para a sistematização dos pilares da Indústria 4.0.



Fonte: Falcão (2019).

2.1.1.1. Big data e analytics

A quantidade de dados gerados pela humanidade aumentou indiscriminadamente nas últimas décadas. No ano 2000, por exemplo, 25% (vinte e cinco por cento) dos dados eram digitalizados, saltando para 93% em 2007, e 98% no ano de 2013. Esse crescimento trouxe uma verdadeira revolução no tratamento de dados, sendo ocasionado principalmente pelo aumento do acesso a dispositivos eletrônicos e a popularização da internet. (GALDINO, 2016)

Assim, um mar de dados oriundos da web e das redes sociais, dados de transações, dados de biometria, dados gerados por pessoas e dados *machine to machine* passaram a figurar o cenário atual, tanto industrial quanto social. (GALDINO, 2016)

Por conta desse incontrolável aumento da geração e captação de dados através da internet e de diversos dispositivos como celulares e computadores, houve grande evolução no que diz respeito

a gestão da informação. Dentro desta perspectiva têm-se o Big Data, cuja utilização está ligada ao tratamento desse grande volume de dados, de variadas fontes e que demandam alta velocidade de processamento. (GALDINO, 2016)

Esse tipo de processamento é, atualmente, essencial na estratégia empresarial e tomada de decisões, e é através do Big Data que se pode, por exemplo, buscar padrões, preferências e necessidade de usuários, aumento no número de vendas durante períodos, descobrir cura de doenças, entre diversos outros benefícios. (GALDINO, 2016)

As características do Big Data implicam em uma nova estrutura conhecida como “Vs” do Big Data que trazem o objetivo de manter as plataformas e sistemas em harmonia de tal forma que gerem o resultado esperado, e que são: (GALDINO, 2016)

- Volume (tamanho do conjunto de dados);
- Variedade (dados a partir de múltiplos repositórios, domínios ou tipos);
- Velocidade (taxa de fluxo de dados);
- Variabilidade (coerência no conjunto de dados).

Além disso, os dados podem ser qualificados em três categorias: (GALDINO, 2016)

- Dados estruturados, aqueles que possuem estruturas bem definidas, rígidas, pensadas antes da própria existência do conjunto, geralmente
- Dados semiestruturados, que são irregulares ou incompletos, sendo interpretados por máquinas, mas não por seres humanos;
- E dados não estruturados, que não possuem estruturas bem definidas ou padronizadas, podendo ser compostos por diversos elementos diferentes, sem a possibilidade de agrupamento em tabelas.

A manipulação de dados semiestruturados e não estruturados no intuito de extrair valor destes através de correlações e outros processamentos de análise e compreendê-los é, atualmente, o maior desafio para as ferramentas de Big Data. Sendo o tratamento dos dados realizados com o apoio de algoritmos inteligentes, que são sequências de instruções que permitem que se chegue a uma conclusão sobre a ação mais indicada. (REPOLHO, 2021)

2.1.1.2. A Internet das Coisas (IoT)

“Internet of Things”, do inglês, foi um termo usado por Kevin Ashton, pesquisador britânico, em uma apresentação para a Procter & Gamble no ano de 1999 onde apresentou uma nova ideia para a rastreabilidade eletrônica de produtos na cadeia de suprimentos de uma empresa. Hoje, a definição desse conceito está relacionada, de maneira geral, a de equipamentos conectados à internet, que se comunicam entre si por meio desta, tecnologia conhecida como *Machine to Machine* (PINTO, 2020).

Definindo-se, o termo internet das coisas pode ser configurado segundo CERP IoT (2009) como uma infraestrutura de rede global com capacidades de auto configuração baseadas em comunicação padronizada e interoperáveis nos quais as “coisas” físicas e virtuais têm identidades, atributos físicos, personalidades virtuais, usam interfaces inteligentes e são completamente integradas na rede de informação. Na Internet das Coisas espera-se que as “coisas” participem ativamente dos negócios e dos processos informacionais e sociais, interagindo e se comunicando com o ambiente (e entre “coisas”), reagindo de forma autônoma à eventos e influenciando o ambiente com ações e criação de serviços com ou sem intervenção humana direta. (Mancini, 2017)

Na indústria, pode-se ter uma visão desses conceitos, por exemplo, por conta dos sensores e elementos de controle que permitem a conexão das máquinas à internet. Junto com outras tecnologias, a internet das coisas possibilita uma produção mais eficiente e otimizada. Dentre suas principais contribuições estão: possibilidade de compartilhamento de informações entre os equipamentos em tempo real e o controle de objetos de forma remota (REPOLHO, 2021).

2.1.1.3. Nuvem

Nuvem, ou Cloud computing, é uma tecnologia que usa a conectividade com a Internet para guardar grande variedade de programas, recursos, e informações, de forma que o usuário possa acessar essas informações por meio de um dispositivo conectado, não necessitando, para isso, de acesso ao computador pessoal ou conexão local. Assim, essa ferramenta se dá como uma maneira de disponibilizar informações e melhorar o acesso à diversos recursos tecnológicos (ASSAD, et al., 2012).

Dentre as grandes vantagens desse novo tipo de serviço, estão: segurança no armazenamento de dados, sincronização automática e grande espaço para armazenamento. (REPOLHO, 2021)

Como citado anteriormente, as informações guardadas em servidores seguros podem ser acessadas por dispositivos conectados sem a necessidade de armazenamento local, o que conduz a redução de gastos com discos. (REPOLHO, 2021).

2.1.1.4. Segurança cibernética

A Indústria 4.0, com o aumento da conectividade entre os diferentes recursos e o uso de protocolos de comunicação, com o trânsito de uma grande quantidade de informações (muitas dessas, sigilosas), está sujeita a ameaças diariamente. Com isso, surge uma grande necessidade de proteger os sistemas industriais e processos produtivos de ameaças relacionadas à segurança cibernética. (REPOLHO 2021)

A segurança cibernética tem sido um dos grandes desafios a ser enfrentado pelos governos dos países, sobretudo no que diz respeito a garantir o funcionamento de setores como energia, defesa, transporte, telecomunicações, finanças, etc (SOUZA JUNIOR & STREIT, 2017). Na indústria 4.0 não é diferente.

O “Crime cibernético”, que esse novo tipo de segurança tenta proteger a nova indústria e a sociedade no geral pode ser definido, segundo a Symantec, uma empresa especializada em segurança de computadores, proteção de dados e software de gerenciamento remoto, como qualquer delito em que tenha sido feito uso de computador, uma rede ou um dispositivo de hardware. (SOUZA JUNIOR & STREIT, 2017)

2.1.1.5. Integração de Sistemas (Inteligência Artificial)

Inteligência Artificial envolve o conjunto de diversas tecnologias, como redes neurais artificiais, sistemas de aprendizado, algoritmos capazes de analisar volumes enormes de dados, ampliam seus conhecimentos e capazes de simular aspectos da inteligência humana. Isto é, está associada a um conjunto de softwares, lógica e computadores, que tem por objetivo a realização de funções até então consideradas exclusivamente humanas (GOMES, 2010).

O uso de Inteligências Artificiais na nova indústria ganha bastante intensidade pois, através da integração dos sistemas, por exemplo, fazendo uso de sensores em um sistema de produção, é possível identificar defeitos e problemas relacionados à qualidade, podendo assim, reduzir significativamente peças defeituosas e a necessidade de retrabalho. (PASQUINI, 2018).

2.1.1.6. Robôs Autônomos

Para ser considerado autônomo, um robô precisa possuir a capacidade de desempenhar uma série de tarefas e de tomar decisões sem necessidade de intervenção humana. Esse tipo de máquina pode ser capaz de, por exemplo, conhecer variáveis do ambiente em que está inserida, descrever movimentos segundo a variação destas e executar rotinas segundo uma lógica de controle. (MELO, 2020)

Esses robôs autônomos geralmente são planejados a partir do nível de autonomia desejado, que vai de encontro com a função à que ele é destinado. Tendo isso em vista, dentro da indústria 4.0, pode-se citar algumas habilidades necessárias a esse tipo de máquina: (REPOLHO, 2021)

- Precisam ser capazes de substituir a mão-de-obra humana em situações de perigo, em atividades repetitivas ou mesmo inviáveis para o ser humano.
- É necessário que possuam um sistema de localização eficiente para coletar dados do ambiente e serem capazes de se deslocar entre pontos sem necessidade de auxílio humano.
- Necessitam ter autonomia, isto é, terem a capacidade de executar suas funções sem interferência humana e realizar sua automanutenção;

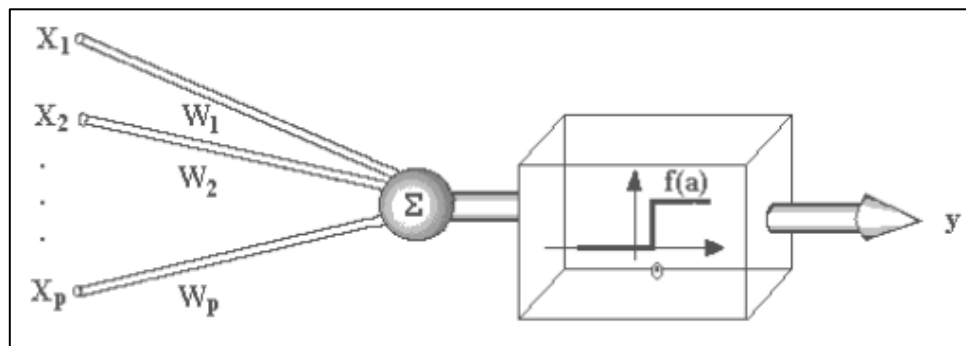
Além disso, dentro da Indústria 4.0, esses robôs passam a ser capazes de "aprenderem sozinhos". São capazes de obter novas habilidades e desenvolver novas estratégias no ambiente em que estão inseridos de forma independente. Podem interagir com outras máquinas, pessoas utilizando das novas ferramentas e tipos de conexão da indústria, de forma a reduzir custos por meio de um trabalho mais ágil e seguro. (MELO, 2020)

2.2. Redes Neurais

McCulloch e Pitts (1943) foram os responsáveis por uma das primeiras publicações importantes sobre redes neurais, publicando um artigo em que modelava uma rede neural simples simulando máquinas. Anos depois, Hebb (1949) publicou o modelo básico de rede de auto-organização e Roseblatt (1958) o modelo Perceptron de aprendizado supervisionado. (CARVALHO, 2009). Com um volume maior de dados estruturado e não estruturados, foram desenvolvidos sistemas de *deep learning* que são, em essência, redes neurais com várias camadas e que permitem a obtenção de volumes de dados em maiores quantidades (SAS, 2019).

Uma rede neural artificial possui características bastante simples, sendo composta basicamente por várias unidades de processamento, sendo essas conectadas por canais de comunicação que estão geralmente associados a pesos determinados. Cada uma dessas unidades de processamento executa operações unicamente sobre seus dados locais, isto é, sobre entradas recebidas pelas suas conexões. Por fim, a integração e as interações entre as unidades de processamento são responsáveis pelo comportamento inteligente de uma Rede Neural Artificial. A Figura 2.2 resume o esquema descrito de unidade de processamento e que foi proposta por McCulloch-Pitts. (CARVALHO, 2009)

Figura 2.2. - Unidade de processamento da Rede Neural Artificial.



Fonte: Carvalho (2009).

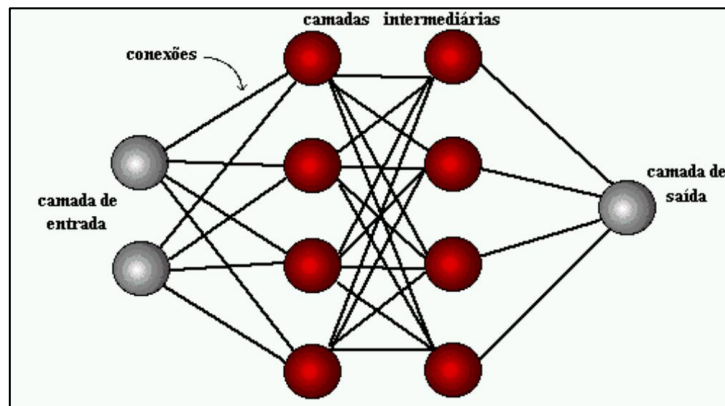
Esclarecendo a respeito do funcionamento desse tipo de rede ilustrado: sinais são apresentados à entrada (x); cada um desses é multiplicado por um peso (w), que representa sua influência na saída da unidade; por fim, é feita uma soma ponderada desses sinais que produz um

nível de atividade e, este exceder um certo limite a unidade produz uma determinada resposta de saída (y). (CARVALHO, 2009)

Os modelos de redes neurais trazem, geralmente, regras de treinamento, esses têm o intuito de ajustar os pesos das conexões com padrões apresentados, isto é, os modelos são “ensinados” por meio de exemplos.

A organização dessas redes artificiais é feita, de maneira geral, por meio de camadas, onde as unidades de uma camada podem estar conectadas às unidades de uma outra. Geralmente, as camadas existentes na rede seguem uma classificação dividida em três grupos: Camada de entrada, em que os padrões são apresentados à rede; Camadas intermediárias onde é realizado o processamento por conexões ponderadas em grande parte; e de saída onde o resultado do processamento é apresentado. (CARVALHO, 2009). A Figura 2.3 a seguir ilustra essa montagem em camadas.

Figura 2.3 - Estrutura básica das redes neurais.



Fonte: Carvalho (2009).

A capacidade de melhorar seu desempenho a partir do aprendizado com o ambiente pode ser considerada a maior das qualidades em redes neurais. Como já salientado, esse aprendizado ocorre por meio de um treinamento, que se dá como um conjunto bem definido de regras (um algoritmo de aprendizado) que tem o objetivo de ajustar os pesos quando a rede alcança a solução generalizada para uma classe de problemas. (CARVALHO, 2009)

Um ponto de extrema importância em redes neurais é a forma de interação com o ambiente e, por conta disso, existem os paradigmas de aprendizado:

- Aprendizado supervisionado - um agente externo indica à rede a resposta desejada para o padrão de entrada;
- Aprendizado não supervisionado - não usa de um agente externo para indicar a resposta esperada; e
- Reforço - quando um crítico externo avalia a resposta fornecida pela rede.

O processo de treinamento de aprendizado forma um ciclo. A execução das correções dos pesos num ciclo pode utilizar do modo padrão, onde os pesos são corrigidos a cada apresentação à rede de um exemplo do conjunto de treinamento e essa correção tem por base apenas o erro do exemplo apresentado naquela iteração. Assim, ocorrem as correções em cada ciclo e apenas uma correção por ciclo, sendo que todos os exemplos do conjunto de treinamento são apresentados à rede, é então calculado seu erro médio e corrigido os pesos a partir destes. (CARVALHO, 2009).

2.3. A Indústria Química e o uso de tecnologia 4.0

Em uma pesquisa desenvolvida pelo Confederação Nacional da Indústria no ano 2016 foi possível observar que o conhecimento a respeito de tecnologias digitais e a sua incorporação à produção ainda não era tão bem divulgado no país. A pesquisa mostrou que 42% das empresas desconheciam a importância dessas tecnologias para a competitividade da indústria e 52% não utilizam nenhuma tecnologia digital de uma lista com 10 opções apresentadas. Sendo que o estudo mostrou que em empresas menores esse conhecimento é ainda menor. (CNI, 2016)

Assim, no Brasil, a implementação e expansão da Indústria 4.0, embora seja capaz de revolucionar as fábricas atuais, minimizando muito dos problemas que impactam na produção nacional, ainda depende de uma maior compreensão das empresas sobre seus benefícios. Esse desconhecimento aliado à altos custos e a falta de mão de obra qualificada são os principais obstáculos para as empresas brasileiras, o que faz com que esse tipo de avanço fique limitado a setores específicos. (REPOLHO, 2021).

Várias empresas já vêm automatizando seus processos no país, no entanto, ainda não se chegou de fato à uma indústria digital. Precisa desenvolver-se muito nas vertentes relacionadas à Indústria 4.0: processos integrados que garantem a produção customizada e produtos inovadores.

Vários trabalhos relacionados a esse tipo de indústria estão sendo desenvolvidos por empresas e universidades, no entanto ainda há um longo trajeto a ser percorrido. (REPOLHO, 2021)

Com o intuito de disseminar a Indústria 4.0 no Brasil, a Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI) junto à Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP) lançaram em 2017 o programa Rumo a Indústria 4.0 com o objetivo de traçar o nível de maturidade das empresas nacionais e o melhor caminho para alcançar projetos e ações com as tecnologias na Indústria. (ELIENESIO, 2018)

O país tem um potencial enorme para fortalecer alguns setores utilizando de ferramentas desse novo tipo de indústria, citando, por exemplo, setores como petróleo e gás, a agropecuária e energias renováveis. Essa nova indústria traz uma oportunidade de avanço enorme, sobretudo no que tange pequenas e médias empresas, e startups. (REPOLHO, 2021).

Com a indústria digital, empresas com um grande portfólio de produtos conseguirão ter uma flexibilidade maior, enquanto as indústrias que focam na alta qualidade gozarão de um controle mais eficiente do processo. Além disso, essa nova indústria, em seu funcionamento pleno, permitirá uma integração maior entre clientes e empresa. (REPOLHO, 2021)

Repolho (2021) que realizou um estudo bibliográfico sobre a Indústria 4.0 e a Indústria Química notou uma demanda significativa da utilização dos pilares da indústria 4.0 em vários estudos de caso, o que mostra que essas novas tecnologias têm tudo para possibilitar a melhora dos processos industriais, influenciando não apenas na produtividade, como também na redução de acidentes e na preservação do meio ambiente.

As novidades da indústria inteligente podem trazer inovações em diversos setores de uma Indústria Química. A completa integração no planejamento e programação de produção proporcionados por uma aplicação plena da Indústria 4.0, pode trazer grandes vantagens no que tange a produtividade, economia de recursos e desenvolvimento do setor. Além disso, a possibilidade de implementação de sistemas de prevenção de falhas, observação das respostas do processo e identificação de possíveis erros em tempo real, faz com que se diminua enormemente os riscos de operação de uma planta química. (REPOLHO, 2021)

O processo contínuo de digitalização da indústria química vem atrelado a tópicos como: economia circular, matérias-primas renováveis, energias renováveis, utilização e captura de carbono, biorefinarias e bioplásticos. Dessa forma, está havendo um grande investimento em

tecnologia, portfólios produtivos e estrutura de criação de valores, além dos novos modelos de negócio na indústria química (ABIQUIM, 2018).

2.4. Defensivos Agrícolas

As perdas em razão de pestes agrícolas é o grande incentivador da busca por produtos defensivos no setor. Grande volume dos estudos científicos a respeito desse tema mostra que as perdas em decorrência de pragas se encontram entre 30% e 40% da cultura plantada (SILVA & COSTA, 2011).

Os defensivos agrícolas, de acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization), podem ser definidos como “qualquer substância ou mistura de substâncias destinadas a repelir, destruir ou controlar qualquer praga, ou regular o crescimento das plantas”. A Organização também esclarece que a exposição a esse tipo de produto apresenta riscos à saúde humana, tanto aos trabalhadores que manuseiam esses produtos, quanto aos consumidores de alimentos advindos do setor e ao meio ambiente.

Em contrapartida, o uso de produtos defensivos é impulsionado e justificado principalmente quando se observa a produtividade agrícola. Com o aumento da demanda mundial por alimentos, a atividade agrícola precisou reagir proporcionalmente e, portanto, sofreu um processo de transformação (SILVA & COSTA, 2011). Dentre as mudanças, pode-se citar: a mecanização da irrigação e das atividades manuais, o aumento do uso de defensivos agrícolas com o objetivo de combater as pragas e garantir a produtividade, etc. No entanto, com essa crescente atividade no setor, a necessidade e intensidade do apelo para a redução do impacto ambiental também cresceu muito, tanto relacionado ao uso abusivo de pesticidas quanto relacionado à questões de desmatamento e desperdício de água (SILVA & COSTA, 2011).

2.4.1. Histórico

Culturas agrícolas são devastadas por pragas desde o início dos tempos, um exemplo disso são esculturas em túmulos egípcios datadas de 2.300 a.C. que mostram gafanhotos comendo grãos. Assim, é esperado que o desenvolvimento de soluções para essa empreitada tenha se iniciado há

tempo também. Existem apontamentos a respeito do uso de produtos químicos para o controle de pestes, como o arsênio, em escrituras gregas com três mil anos de idade. (SILVA & COSTA, 2011)

Na primeira geração de defensivos agrícolas, compostos inorgânicos à base de metais, como enxofre, cobre e mercúrio, já eram utilizados no início do século XIX no combate de doenças em hortaliças na Europa. Também foram empregados até o início do século XX no controle de diversos tipos de pragas, outros compostos com elevada toxicidade, contendo arsênico, selênio e chumbo. (SILVA & COSTA, 2011)

Com a Segunda Revolução Industrial, e conseqüente desenvolvimento da indústria Química, a indústria de pesticidas sofreu um crescimento bastante elevado. No fim do século XIX, foram descobertos diversos novos compostos, sobretudo por empresas americanas e europeias, responsáveis por enormes impactos na agricultura e na saúde humana. Essa foi a “segunda geração de defensivos agrícolas”. (SILVA & COSTA, 2011)

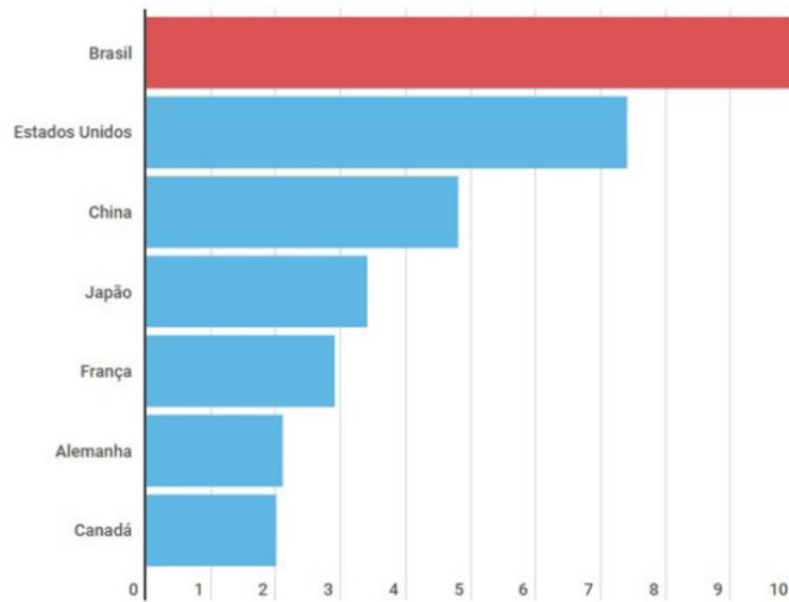
A terceira geração de defensivos agrícolas se deu por volta da década de 60, onde começaram a surgir produtos com necessidade de menores quantidades por área cultivada e menores riscos para a saúde humana e ambiental. (SILVA & COSTA, 2011)

Por fim, produtos defensivos com atuação no sistema endócrino dos insetos e que interferem em seu crescimento surgiram como uma quarta geração de soluções para pragas. Esses se caracterizavam por uma especificidade maior, proporcionando menor degradação ambiental e menores riscos à saúde humana. (SILVA & COSTA, 2011)

2.4.2. Mercado de defensivos agrícolas

Os três países que podem ser citados como líderes do ranking de maiores agricultores em toneladas no cenário mundial, são: Brasil, Estados Unidos e China. E, sendo assim, é natural que esses três países figurem também no topo como maiores consumidores de defensivos agrícolas no mundo como se pode observar na Figura 2.4 a seguir, que mostra dados em dólares (US\$) de investimentos na compra de agrotóxicos.

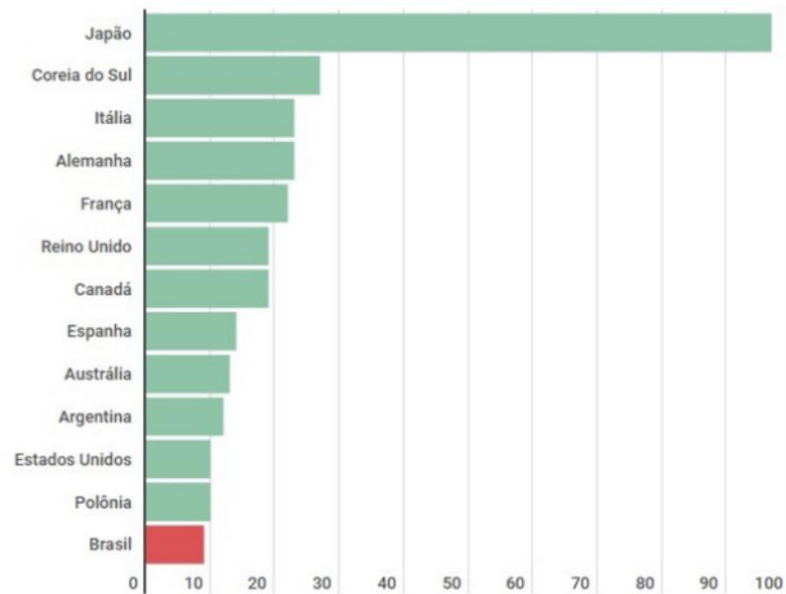
Figura 2.4 - Maiores consumidores de agrotóxicos do mundo



Fonte: FAO/Consultoria Phillips Mcdougall/UNESP/ANDEF (2013).

No entanto, se for considerado o investimento por tonelada produzida ao invés do investimento total, o ranking de maiores consumidores de pesticidas não se dá da mesma forma, como pode se notar na Figura 2.4. Com os dados expostos em US\$/tonelada, o Brasil passa a ser o 13º colocado, os Estados Unidos figuram a 11ª colocação e a China não aparece entre os 13 maiores consumidores, como pode-se notar.

Figura 2.5 - Consumo de agrotóxicos no mundo por área cultivada



Fonte: FAO/Consultoria Phillips Mcdougall/UNESP/ANDEF (2013).

Os ranks apresentados foram extraídos de um relatório realizado pela Consultoria Phillips Mcdougall em parceria com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, do inglês, Food and Agriculture Organization) e é referente ao ano de 2013.

Pode-se dizer que o mercado de produtos defensivos agrícolas é bastante centralizado. Observa-se que aproximadamente 68% das vendas mundiais é realizada por apenas seis das maiores empresas do setor: Sygenta, Bayer, BASF, Dow, Monsanto e DuPont. A principal forma de competição entre essas empresas é por meio do preço, uma vez que o segmento é especializado em produtos patenteados.

Essas empresas passaram por um processo de diversificação por meio de aquisições e acordos a partir da década de 90 com foco em pesquisa e desenvolvimento (P&D) e produção de sementes modificadas geneticamente. Acompanhando, dessa forma, o aumento da pressão mundial pela diminuição dos impactos ambientais causados pelo setor agrícola. Essa diversificação se deu principalmente pela aquisição e acordos entre empresas do setor.

O Quadro 2.1, a seguir, mostra as aquisições e os acordos realizados pelas seis grandes empresas citadas em relação a produtos pesticidas, sementes e biopesticidas entre 1996 a 2015.

Companhia	Aquisições (1996-2015)				Acordos (2000-2015)			
	Pesticidas	Sementes	Biopesticidas	Total	Pesticidas	Sementes	Biopesticidas	Total
Monsanto	0	51	2	53	25	39	7	71
Bayer	12		4	37	43	34	6	83
Dow	7	28	0	35	25	25	2	52
Sygenta	4	28	3	35	41	31	8	80
DuPont	4	17	1	22	21	19	2	42
BASF	8	3	1	12	33	42	3	78
TOTAL	35	148	11	194	163	151	21	406

Fonte: Adaptado de Pelaez & Mizekawa (2017).

2.5. Biopesticidas

Os biopesticidas, ou defensivos agrícolas biológicos, podem ser definidos como organismos vivos como plantas e microrganismos, incluindo bactérias, vírus e fungos, ou produtos naturais derivados desses organismos que podem ser utilizados para suprimir populações de pragas.

Dependendo da cultura em que esses compostos serão aplicados, pode-se optar por diferentes formas de aplicação: fórmulas de base líquida, grânulos dispersíveis em água, pó-molhável ou pastilha.

Considerando as necessidades envolvidas no processo logístico até a utilização final do produto, a formulação dos pesticidas biológicos necessita garantir a estabilidade do produto durante a estocagem e aplicação, facilitar a aplicação e também proteger os microrganismos e cristais das condições adversas do ambiente.

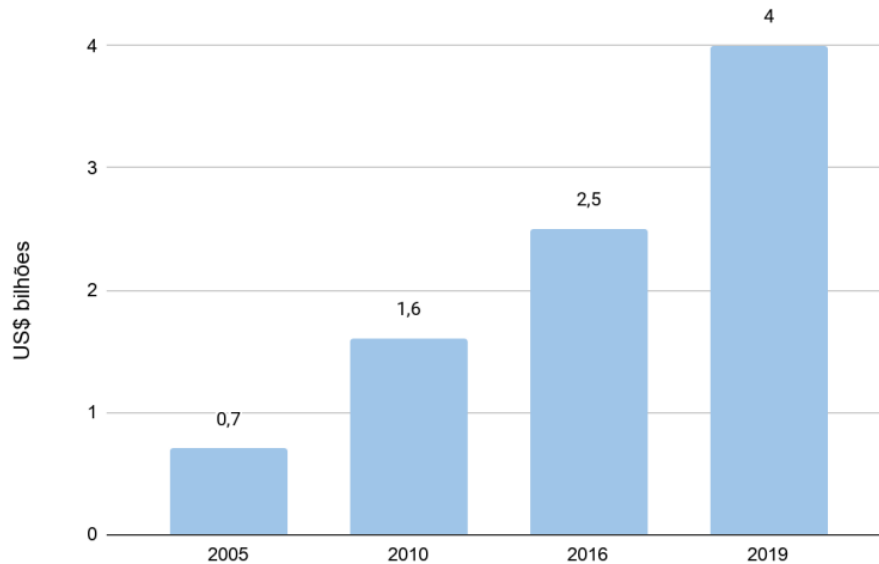
Vários tipos de matérias primas podem ser utilizados como fonte de produção para defensivos agrícolas biológicos, sendo esses tipos uma forma de classificação desses. O microbiano é o tipo de pesticida mais comum atualmente. Têm-se também defensivos biológicos com a incorporação de proteínas às plantas, as PIPs, desenvolvidos a partir de DNA recombinante. Finalizando, existem também os produtos químicos que são totalmente ou parcialmente derivados de fontes biológicas, citando: os metabólitos, hormônios, extratos ou reguladores naturais de plantas com ação sobre o crescimento de insetos.

2.5.1. Mercado de biopesticidas

Com o grande apelo por uma diminuição do impacto ambiental das atividades agrícolas, o mercado de defensivos biológicos tem tido um crescimento acelerado e recebido maior interesse nos últimos anos em se tratando do manejo integrado de pragas. No entanto, esta nova alternativa está distante da dominação do mercado, como vem se especulando após os muitos resultados positivos conseguidos com sua aplicação em diversos tipos de culturas.

É nítido que o mercado de defensivos biológicos cresceu rapidamente nos últimos anos e tem perspectivas ainda maiores de crescimento devido aos novos estudos, a novas patentes de soluções e o início da comercialização de produtos em massa. Como ilustrado na Figura 2.6, o mercado vem crescendo em ritmo acelerado com o passar do tempo. No entanto, em panorama com o mercado agroquímico global, ainda representa um percentual de participação baixo, representando cerca de 3 a 4%.

Figura 2.6 - Mercado global de biopesticidas por ano.



Fonte: Adaptado de Pelaez & Mizekawa (2017).

O cenário nacional se mostra, da mesma forma, bastante favorável para o crescimento da produção e uso de soluções biológicas para a defesa agrícola. No ano de 2020, o país contou com o registro de 95 novos produtos biopesticidas de baixo impacto, número que superou o crescimento anterior, já que em 2018 foram registrados 52 produtos de baixo impacto. Estes números parecem bastante animadores, no entanto, ainda estão longe do representado pelos químicos. Comparando,

enquanto no ano de 2020 foram registrados apenas 95 novos produtos biológicos, pesticidas químicos somaram 493 novos produtos à lista brasileira.

O crescimento desse novo mercado, embora esperado, ainda enfrenta resistência, sobretudo por parte dos agricultores. Os principais motivos para o agricultor não buscar aderir aos novos produtos, citados por Samuel e Graham (2003), são: preço mais alto (41%), descrença em sua eficácia (30%), falta de informação de como plantar organicamente (25%), nunca consideraram estes métodos (24%) e não encontram o produto correto (24%). Assim, chega-se à conclusão que, além da necessidade de investimento na produção dessas novas opções de produtos, se faz necessária também uma reformulação no setor com incentivo maior a informação para os produtores agrícolas, uma vez que foi criada uma relação forte com o uso defensivos químicos.

2.5.2. As Vantagens dos Biopesticidas

Comparados aos seus substitutos químicos, os defensivos biológicos possuem como diferencial uma atuação mais seletiva, voltada para o controle das pragas ao invés de sua erradicação. Dessa forma, os impactos ao meio ambiente são minimizados e o risco para outras espécies que possam estar presentes no cenário de aplicação, como mamíferos e pássaros, bem como uma diminuição dos riscos relacionados à saúde humana, trazendo uma segurança maior aos trabalhadores rurais e também aos consumidores finais dos produtos agrícolas.

A substituição de parte dos defensivos químicos por soluções biológicas apresenta inúmeras vantagens. Pode-se citar, além de maior segurança para os seres humanos e outros organismos não-alvo, também a redução de resíduos contidos nos alimentos, o aumento da atividade de outros inimigos naturais e a recuperação da biodiversidade nos ecossistemas tratados (CAPALHO et al., 2005).

A baixa toxicidade é uma outra grande vantagem dos defensivos biológicos, sendo importante na manutenção da vida dos polinizadores, e outros inimigos naturais dos organismos não-alvos. Também apresentam alta especificidade, facilidade de multiplicação, dispersão e produção, forma aplicação semelhante à utilizada com químicos, controle maior, evitam novo surgimento de pragas, custo relativamente baixo de desenvolvimento, etc. Também podendo ser utilizados em rotação com os defensivos sintéticos para atrasar a resistência a pragas.

(OLIVEIRA, 2014)

No entanto, fazendo outra relação com os defensivos químicos, a principal desvantagem do uso de biopesticidas está no fato de não ser uma solução tão imediata como a solução que utiliza os primeiros. Por conta disso, o manejo integrado de pragas, isto é, o uso conjunto de defensivos agrícolas químicos e biológicos, está ganhando um destaque maior dentro do setor agrícola. Assim, com a inserção e intensificação do uso de biocompostos, têm-se uma redução do uso de pesticidas químicos e, com isso, uma mitigação dos riscos associados, aproveitando os pontos fortes de cada um dos produtos. Requer também planejamento e gerenciamento intensivos, pois pode demandar tempo, controle, paciência, educação e treinamento. Para que haja sucesso utilizando esse controle é necessário um grande entendimento da biologia da praga e a de seus inimigos (OLIVEIRA, 2014)

Deve-se ter muito cuidado ao utilizar pesticidas em um programa de controle biológico, pois muitos inimigos naturais de pragas são sensíveis a eles, e, em alguns casos pode acarretar mais gastos que o uso de apenas pesticidas químicos. Além disso, os resultados do uso de defensivos biológicos não são tão drásticos ou rápidos como aqueles do uso de pesticidas químicos, pois a maioria dos inimigos naturais ataca somente tipos específicos de animais, ao contrário dos pesticidas de amplo espectro. Outro problema é a dificuldade em criar organismos predadores ou parasitas em laboratório, quer seja em hospedeiro natural ou artificial. Quando os agentes de biocontrole são criados sobre hospedeiros naturais, há uma maior dificuldade para sua multiplicação. Além da grande dificuldade em se imitar o ambiente de criação natural dos insetos, os custos com mão de obra são dispendiosos, representando cerca de 80% dos custos de produção de um laboratório (OLIVEIRA, 2014).

2.5.3. *Bacillus thuringiensis*, Bt.

O *Bacillus thuringiensis* (ou, popularmente, Bt), foi descoberto em 1902 por Ishiwata no Japão, através da criação de *Bombix mori*, uma espécie de mariposa que, quando em fase larval, é popularmente conhecida como “bicho da seda”. O Bt foi isolado pela primeira vez em 1911 por Berliner a partir de larvas de *Ephestia kuehniella*, na cidade de Thuringe, na Alemanha, cidade que também deu origem ao seu atual nome. Entre as décadas de 20 e 30, foram realizados os primeiros ensaios na Europa utilizando o Bt, para o controle de uma espécie de lepidóptero da família Pyralidae, o *Ostrinia nubilalis*. Entre as décadas de 30 e 40 os testes prosseguiram, sendo então

testada sua eficácia contra outras espécies de lepidópteros nos Estados Unidos e na Europa. E foi na França, no final da década de 30, que passou a ser comercializado um produto formulado à base de Bt, o Sporeine. (OLIVEIRA, 2014).

A partir de 1950, um produto à base de *Bacillus thuringiensis* passou a ser distribuído comercialmente nos Estados Unidos. E, pela primeira vez, em 1987, genes de Bt responsáveis pela produção de proteínas inseticidas foram introduzidos em plantas de fumo. Pouco tempo depois, cientistas obtiveram plantas que expressavam de modo efetivo os genes desse microrganismo, possibilitando a comercialização de espécimes resistentes a pragas. A ampla ação do Bt cujas proteínas podem atingir até 150 espécies de pragas, o fato de permanecer pelo menos um ano como agente letal, a facilidade de produção em fermentadores artificiais e a baixa propagação natural foram fatores muito importantes para sua industrialização. (OLIVEIRA, 2014).

O *Bacillus thuringiensis* é o defensivo biológico mais utilizado mundialmente. O controle por meio do Bt se dá, principalmente, sobre pragas de maior importância econômica, sobretudo à espécies pertencentes à ordem dos lepidópteros. Em termos de aplicação agrícola, é um produto bastante versátil. Por exemplo, na América do Norte, compõem produtos utilizados no controle de pragas florestais. Na Austrália, são utilizados para controle de pragas em algodão, frutíferas, ornamentais, fumo, entre outras culturas. Na América Latina, têm seu uso no controle de pragas nas culturas do algodão, banana, batata, citros, hortaliças, fumo, milho, pastagens. Já na China, estes produtos são usados contra pragas de grandes culturas, florestas e hortaliças. No Egito, utilizam-se para controle de pragas do algodão. Podendo ainda ser aplicado em culturas de arroz, tomate, couve-flor, repolho, e outras culturas comerciais. (OLIVEIRA, 2014)

O *Bacillus thuringiensis* se dá como uma bactéria gram-positiva, aeróbica ou anaeróbica facultativa. É uma bactéria naturalmente encontrada no solo e é entomopatogênica, isto é, é uma bactéria que pode parasitar insetos, matando-os ou incapacitando-os de alguma maneira. Assim como outras bactérias, o BT pode se manter incubado em condições adversas como endósporos. Quando em fase de esporulação, forma cristais proteicos que se acumulam ao redor dos esporos em um dos extremos da célula. Estes cristais são compostos por uma ou mais proteínas “Cry”, também denominadas δ -endotoxinas ou Insecticidal Crystal Proteins (ICPs). Essas proteínas são altamente tóxicas para alguns tipos específicos de insetos e, dessa maneira, inofensivas para outros organismos, incluindo insetos benéficos. Assim, diferentes linhagens de Bt podem sintetizar diferentes tipos de ICPs e ter ação para diferentes grupos de insetos. (OLIVEIRA, 2014)

As toxinas produzidas pelo Bt têm um modo de ação que envolve várias etapas que vão desde a ingestão dos cristais protéicos até a consequente morte da praga. Elas são ingeridas por via oral e seu mecanismo de ação pode ser descrito através das seguintes etapas: (OLIVEIRA, 2014)

- Após a ingestão, as toxinas liberadas são solubilizadas no intestino dos insetos e, em seguida, processadas por enzimas específicas, originando um fragmento considerado a toxina inseticida na sua forma ativada;
- A toxina ativada liga-se de forma irreversível à receptores específicos situados na membrana das células epiteliais do intestino médio do inseto; e
- Há a formação de poros nesta membrana que interferem na permeabilidade das células. Com isso, ocorre a “lise” celular, isto é, a ruptura da membrana plasmática e, por consequência, a ruptura da integridade intestinal do inseto, levando-o à paralisia e morte.

3. METODOLOGIA

Este Trabalho de Graduação realizou uma investigação de pontos a serem explorados pela indústria Bioquímica junto ao novo cenário da Indústria 4.0. Assim, o trabalho concentrou-se na busca e sugestão de implementações de novas tecnologias de produção no cenário dessa indústria, com foco na produção de biopesticida a partir do *Bacillus thuringiensis*.

Foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o bioprocesso de produção de *Bacillus thuringiensis* e sobre os principais conceitos da Indústria 4.0, definindo tópicos como: Internet of Things, Big Data, Redes Neurais e materiais avançados.

Assim, com base na literatura revisada, foram sugeridas propostas de aplicação da Indústria 4.0 com base em uma análise crítica do bioprocesso de *Bacillus thuringiensis*

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Descrição do bioprocesso

O processo de produção industrial do *B. thuringiensis* conta com algumas etapas principais: Seleção da linhagem, estocagem, fermentação, recuperação do princípio ativo, formulação do produto e a análise da qualidade. Esses fatores são de fundamental importância para uma produção eficiente do biopesticida. (MOURÃO, 2017)

Desde o início de sua produção, os produtos obtidos através do *B. thuringiensis* têm sido obtidos através da fermentação submersa, ou processo em batelada, variando apenas o procedimento utilizado para recuperação e formulação final do produto. Sendo que o uso de fermentação contínua é bastante incomum para o processo com o *B. thuringiensis* e outros microrganismos esporuláveis uma vez que o crescimento nesse tipo de processo favorece a formação de colônias diferentes da colônia mãe. (PEREIRA & MARTINS, 2016)

A fermentação submersa se inicia com a disponibilização de um meio de cultura para que haja o crescimento da população de microrganismos até que se esgotem os nutrientes, de modo que a falta de nutrientes acabe limitando o crescimento. Durante o processo citado, é possível adicionar continuamente algum nutriente ou o próprio meio de cultivo, se caracterizando como um processo por batelada alimentada. O processo é realizado em um biorreator ou fermentador que, além de possibilitar o cultivo do microrganismo, deve permitir o controle de espuma, pH, temperatura, agitação e de saturação de oxigênio. (MONNERAT et al, 2018)

Iniciando as etapas de fermentação propriamente ditas, no processo industrial, os passos a serem seguidos são: (ANGELO et al, 2010)

- Pré-inóculo, sendo feito, geralmente, em pequenos frascos;
- Pré-fermentador, fermentador menor (comumente com 1/5 do volume da fermentação);
- e o fermentador final.

Assim, o processo de multiplicação dos microrganismos inicia-se em laboratório com a confecção do pré-inóculo. Este processo é realizado em recipientes como Kitazato ou Erlenmeyer com uma estirpe comprovadamente pura, que é transferida para o pré-fermentador. O pré-inóculo no processo fermentativo tem como principal função garantir que o microrganismo que está sendo

inoculado esteja na fase de desenvolvimento vegetativo exponencial, o que leva, geralmente, 8 a 12 horas. Com isso, há uma redução no período de adaptação do microrganismo ao meio de cultivo e, dessa forma, há uma diminuição no tempo total de processo. (MONNERAT et al, 2018)

O processo de inoculação até chegar aos processos de fermentação passa por diversas etapas de aumento de escala, sendo realizada em pequenos reatores de 1 a 5 litros, seguidas de etapas em reatores de até 20 litros, sendo que as etapas posteriores atingem até 10.000 litros ou mais por fermentador. (PEREIRA & MARTINS, 2016; CAPALBO, 1987)

O meio de cultura utilizado para realizar o crescimento bacteriano em laboratório ou na indústria se dá como uma solução nutritiva que pode se dar em forma líquida, sólida ou semissólida. Esse meio deve proporcionar as condições básicas para o desenvolvimento das bactérias. Dessa forma, requer, para o processo de produção do *B. thuringiensis*, de fontes de carbono e nitrogênio e traços de minerais (Mn, Mg, Fe, Zn, dentre outros), sendo que estes últimos atuam como cofatores de algumas enzimas, sendo suas quantidades dependentes do processo fermentativo escolhido. (MOURÃO, 2017)

Acrescenta-se ainda que, na seleção dos componentes que constituirão determinado meio, devem ser ponderados três principais pontos: a disponibilidade dos constituintes, o custo para o desenvolvimento e o desempenho dos microrganismos nesse meio. Além, também, da quantidade de possíveis contaminantes presentes nos componentes que formam o meio, sendo que, uma maior contaminação requer tempos de esterilização maiores, aumentando custos de processo. (MONNERAT et al, 2018)

Como já dito, quantidades e tipos de elementos presentes no meio dependem do processo de fermentação utilizado. Dessa forma, uma fonte de carbono apropriada para fermentação semi-sólida do *B. thuringiensis* (comumente, farelo de arroz, tortas de oleaginosas, etc.) pode não ser tão efetiva numa fermentação submersa, onde poder-se-ia optar, por exemplo, por melaço de beterraba ou de cana-de-açúcar, amido de cereais, etc. (MONNERAT et al, 2018)

Já as necessidades referentes ao nitrogênio podem ser supridas com a incorporação ao meio de sais de amônio, água de maceração de milho e farinha de soja. Também, para produções ótimas de *B. thuringiensis*, aconselha-se manter uma relação C:N (relação carbono/ nitrogênio) entre 0,66 e 1. (MONNERAT et al, 2018; CAPALBO, 1987)

Ainda sobre os meios de cultura, o seu desenvolvimento tem sido um dos principais desafios para o sucesso da produção e comercialização do inseticida bacteriano. Grande parte dos

meios de cultura empregados usa produtos naturais como fonte de carbono, nitrogênio e sais. Também, a utilização de subprodutos industriais diminui o custo de produção. Tem-se, portanto, que seleção dos constituintes do meio de cultura é uma peça estratégica a fim de se obter uma produção viável do defensivo biológico e não deve ultrapassar 30% do custo total de produção. (MONNERAT et al, 2018)

Por haver a influência de diferentes variáveis, o desenvolvimento de meios de cultivo para a produção de *B. thuringiensis* é bastante complexo. Assim, existe grande necessidade de maior planejamento e busca por otimização na construção desses meios, que variam muito entre as linhagens do microrganismo. (MOURÃO, 2017)

Dadas as considerações, os substratos escolhidos são adicionados de água, em proporções pré-estabelecidas fornecendo as proporções nutricionais ideais para o microrganismo e têm-se início o processo fermentativo. Após a adição do meio e inoculação, zelando-se pela assepsia e esterilidade durante a manipulação, o fermentador é fechado e são realizadas a agitação e aeração adequadas ao processo. (CAPALBO, 1987)

Industrialmente, recomenda-se um pH inicial de 7,2 a 7,6 para o meio de fermentação, temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e a aeração variável de acordo com o tipo de fermentador, sendo que temperaturas inferiores retardam a cinética e aumentam em muito o tempo do processo, ao passo que temperaturas muito elevadas podem interferir na formação das proteínas Cry. (CAPALBO, 1987)

Normalmente, os reatores utilizados permitem o controle das condições principais de cultivo, citando: temperatura, pH, aeração e agitação. (ANGELO et al, 2010; DULMAGE et al, 1990)

Ajustes na agitação e aeração variam de acordo com volume do equipamento, linhagem do microrganismo e características relacionadas ao *design* do reator. A agitação é necessária para, além de garantir a homogeneização do meio e distribuição ideal dos nutrientes, proporcionar melhor aeração do meio de cultura. A aeração se faz importante uma vez que o oxigênio atua receptor final de elétrons nos organismos aeróbicos, sendo também essencial para a biossíntese das proteínas Cry, além de ter papel como oxidante de açúcares no meio. Assim, para uma boa síntese das proteínas de interesse, o oxigênio dissolvido no meio não deve ficar abaixo de 20%. Têm-se também um aumento na produção de δ -endotoxina quando o oxigênio dissolvido se mantém acima

de 26%. Assim, em termos práticos, os fermentadores para o processo possuem impelidores para garantir uma boa oxigenação do meio. (MONNERAT et al, 2018)

Além disso, o complexo de ácidos formados pelo metabolismo do *B. thuringiensis* no início da fermentação necessita do monitoramento do pH no processo, sendo regulado pela adição de bases. À medida que o processo se desenvolve e se encaminha para o final do processo, valores alcalinos são observados, sendo necessária a regulação com a adição de ácidos. Essa elevação do pH resultante do metabolismo bacteriano das fontes proteicas, é causado pela liberação de amônia na desaminação dos aminoácidos. (MONNERAT et al, 2018)

O pH do meio de cultivo deve ser mantido próximo à neutralidade durante a fermentação, de modo a se evitar uma produção de toxinas baixa. Valores em torno da neutralidade são os mais adequados para a absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, para o crescimento do *B. thuringiensis*. Além disso, em sistemas vivos, as reações químicas são extremamente sensíveis a mudanças no pH do meio. Havendo concentração de ácido (H^+) ou de base (OH^-) extrema (muito alta ou muito baixa), há também uma mudança de conformação por parte das enzimas, fazendo com que percam atividade e não proporcionem as reações químicas no interior da célula de forma eficiente. (MONNERAT et al, 2018)

Além da regulação por meio de ácidos e bases, a manutenção do pH também é possível pela utilização de solução tampão, havendo controvérsias quanto a utilização deste método, sendo que alguns estudos apontam que as variações de pH advindas deste método podem proporcionar melhorias na produção, enquanto outros sugerem desvantagens. (MOURÃO, 2017)

Como dito, a temperatura ótima para o crescimento e produção das proteínas Cry é em torno de 30 °C. Saindo das proximidades da temperatura ótima surgem alguns problemas, já que temperaturas altas podem diminuir o rendimento da produção devido a supressão da formação da proteína de interesse e desnaturação do material celular. Também, se a temperatura utilizada for baixa pode haver uma desaceleração do crescimento celular e das reações metabólicas, proporcionando um aumento no tempo de crescimento, onerando a produção. (MOURÃO, 2017)

A etapa de fermentação ocorre sob um período de tempo pré-estabelecido que, para o processo em questão pode variar entre poucas horas até três dias, a depender do tamanho dos equipamentos e das condições do processo. (CAPALBO, 1987)

A parada do processo (ou “ponto de colheita”) é definida a partir do acompanhamento da presença de esporos livres, tendo seu marco quando esses estão em quantidade maior que 90% das

células bacterianas no mosto. Normalmente, as proteínas tóxicas de interesse são formadas no fim do processo fermentativo, quando as condições do meio ficam desfavoráveis, sendo que neste momento cerca de 6 a 8% da cultura é formada por sólidos, e os esporos e cristais chegam a representar 50% dessa fração. (MONNERAT et al, 2018)

Seguindo, o produto da fermentação passa por operações de separação, sendo vários os métodos empregados (de forma combinada ou não), na indústria, mencionando-se: a centrifugação, sedimentação, filtração tangencial, ultrafiltração, etc. Sendo importante pontuar que essas operações de separação permitem a recuperação, principalmente, das proteínas Cry, sendo que várias outras toxinas produzidas, e que poderiam contribuir para a toxicidade do produto final são perdidas. Dessa forma, novas técnicas de recuperação e concentração do produto da fermentação estão sendo trabalhadas para complementar o processo atual, citando: a liofilização e a flotação. (ANGELO et al, 2010) A etapa de recuperação citada, fornece um concentrado cremoso (caldo técnico, mosto concentrado ou lodo) que, em geral, segue para etapas de secagem a fim de se obter o pó técnico ou formulado. (MONNERAT et al, 2018)

Por fim, anteriormente ao envase, têm-se a formulação, a última etapa do processo de produção, que corresponde à combinação do caldo ou pó técnico bacteriano (ingrediente ativo) com um ou mais materiais. A depender da forma de disponibilização do produto buscada (líquida, semi-sólida ou sólida), são acrescentados diferentes adjuvantes, como adesivos, aglutinantes, emulsificantes, conservantes, molhantes, fagoestimulantes, desagregantes, entre outros. Além da possibilidade de utilização de inertes, servindo como veículos ou enchimentos. (MONNERAT et al, 2018)

A etapa de formulação do biopesticida citada tem como objetivo principal preservar o ingrediente ativo vivo, proporcionando um tempo de validade maior ao produto. Em se tratando do produto obtido do *B. thuringiensis*, essa formulação precisa preservar a toxina de interesse. Paralelamente, a formulação utilizada deve ser uma facilitadora para o armazenamento, transporte e aplicação do produto, e deve potencializar a ação residual após o uso e, assim, a eficiência do controle de pragas. (MONNERAT et al, 2018)

Quase que obrigatoriamente, as formulações desses produtos biológicos se dão como segredos industriais e há uma disponibilidade muito baixa de informações a respeito dessas. Além disso, geralmente, a etapa de formulação é a mais cara em todo o processo, podendo superar 50% do custo final do produto. Essas formulações, embora pouco detalhadas em literatura por motivos

já citados, devem ser constituídas por uma combinação de aditivos reconhecidos pela USA/FDA (Food and Drug Administration) ou pelo órgão competente do país. (MONNERAT et al, 2018)

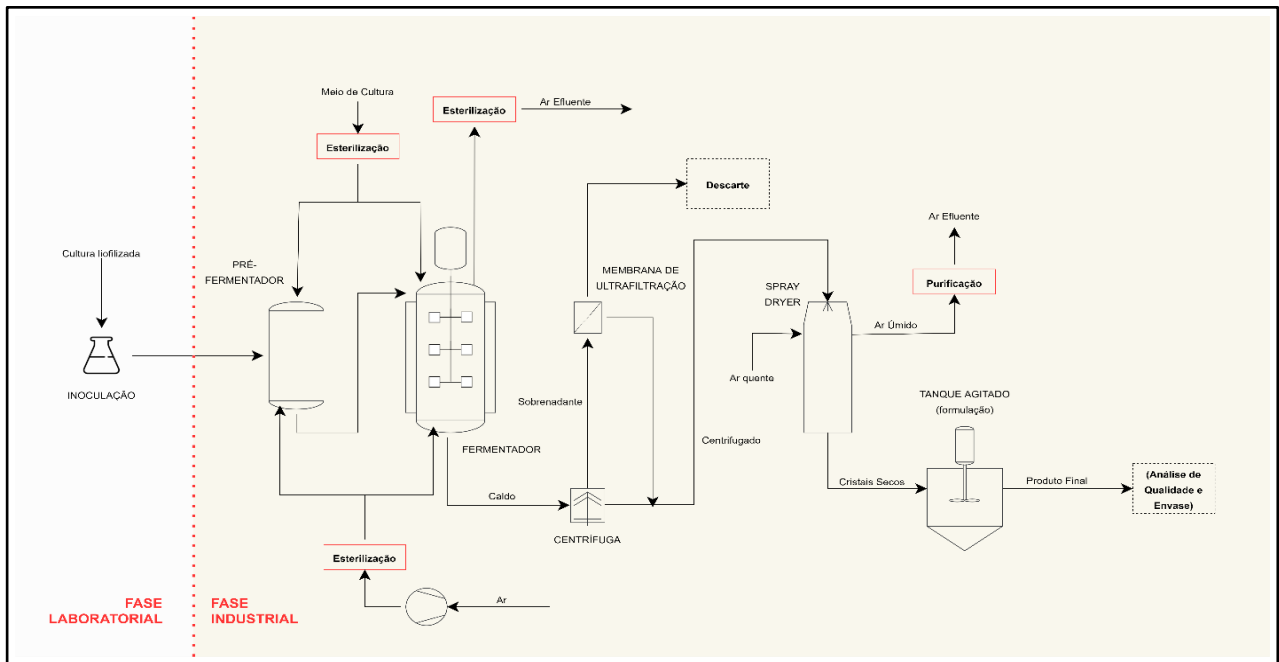
Por fim, antes de poder ser comercializado, o produto deve passar por análises de qualidade, responsáveis por atestar sobretudo sua toxicidade. Para o produto de interesse do presente trabalho, o potencial tóxico é analisado, normalmente, através de bioensaios com a praga agrícola à que se busca ter efeito. Mais que análises a respeito da toxicidade do produto, a etapa deve contemplar uma série de testes que assegurem sua segurança ambiental e à saúde. Testes voltados à segurança da saúde são normalmente realizados com mamíferos sadios, os quais são submetidos à exposição dérmica, ocular, inoculação intraperitoneal e subcutânea. Quanto aos efeitos ao meio ambiente, são realizados testes para avaliar efeitos do produto sobre aves, vertebrados aquáticos, invertebrados, incluindo insetos não-alvo, vegetais, etc. Tendo sido realizados esses testes de segurança ambiental, esses não devem mostrar efeitos adversos significativos nos organismos testados. Nos Estados Unidos, esses testes são regulamentados pela É exigida uma licença para que o produto seja comercializado, sendo essa, no Brasil, expedida pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que exige testes padrões para essa liberação. (ANGELO et al, 2010)

4.1.1. Fluxograma

Em se tratando de um bioprocessamento fermentativo, como já descrito, inicialmente ocorre uma fermentação em pequena escala em laboratório, a escala é aumentada gradativamente, até a fermentação em reatores industriais. Como citado, antes da operação no fermentador, há um processo no pré-fermentador para que os microrganismos atinjam o estágio ideal de crescimento. (DULMAGE et al, 1990)

Dessa forma, com a composição do meio de produção definida, este é alimentado nos equipamentos de fermentação, após um período no pré-fermentador, o cultivo é transferido para inocular no biorreator que funcionará em batelada. O biorreator irá operar com agitação e aeração, e temperatura no intervalo de 28 a 32°C, sendo que uma temperatura superior a esse intervalo pode interferir na formação dos esporos e proteínas. (MONNERAT et al, 2018; DULMAGE et al, 1990)

Figura 4.1 - Diagrama do Processo de produção de biopesticidas a partir do *Bacillus thuringiensis*



Fonte: Elaboração Própria a partir de [MONNERAT et al, 2018; DULMAGE et al, 1990].

O ar entra em um tanque de fermentação através de um aspersor colocado centralmente no fundo do tanque. O ar que entra em um fermentador deve ser estéril, sendo este esterilizado comumente por filtração. Esta filtragem deve reduzir o transporte aéreo de partículas em mais de 99,999%. Também, é um procedimento comum filtrar também o ar efluente do processo de fermentação. Os filtros usados para isso não são muito diferentes dos usados para o ar influente. (DULMAGE et al, 1990)

A agitação é essencial para se obter homogeneidade ao longo do meio no fermentador. Isso pode ser obtido por meio de agitação por um impulsor com o auxílio de defletores. O design do impulsor mudou ao longo dos anos, variando de impulsores semelhantes a hélices com lâminas ajustáveis, a discos com palhetas, e ao impulsor de turbina amplamente adotado atualmente. É quase impossível obter agitação adequada com um único impulsor e, portanto, dois ou três impulsores são normalmente usados. (DULMAGE et al, 1990)

Dentro do fermentador, conforme o substrato é consumido e, conseqüentemente, a oferta de nutrientes diminui no meio, as bactérias começam a esporular, isto é, sofrem lise e formam esporos. Nessa fase, a bactéria não realiza atividade biossintética e a atividade respiratória é

reduzida. (DULMAGE et al, 1990) Dessa forma, após todo o período de crescimento celular dentro do biorreator, a corrente de produto será composta pelos esporos, proteínas e por pequena quantidade de água e subprodutos líquidos da fermentação, pois todo o substrato fornecido terá sido consumido. Essa corrente, seguirá para uma centrífuga que terá como principal objetivo realizar a separação dos sólidos e do líquido presentes na corrente de produto do fermentador. (MONNERAT et al, 2018; DULMAGE et al, 1990)

A primeira será o líquido sobrenadante que não é mais interessante ao processo e deverá ser descartado, sendo antes, comumente, concentrado usando ultrafiltração para recuperação de produto. E a segunda corrente será composta por uma pasta composta pelas partículas sólidas (esporos e proteínas) ainda com certa umidade. (DULMAGE et al, 1990)

Geralmente, o objetivo da fermentação é produzir um dispersível em água, pó ou uma formulação encapsulada, de modo que a próxima etapa após centrifugação é secar o produto pastoso através do uso de um secador, geralmente um *spray dryer*. Um secador por spray é um aparelho simples e eficaz. A pasta resultante dos processos anteriores é alimentada na câmara de secagem como um spray fino. Estas pequenas gotas caem através de uma camada de ar quente. Dessa forma, a solução é finamente dispersa dentro do equipamento, de modo a conferir grande área de superfície ao volume total do material que está sendo seco. A evaporação da água é muito rápida - 5 a 20 segundos, comumente - e as partículas secas caem do ar aquecido. O pó seco é recolhido por um soprador e transportado para o coletor de ciclone. A velocidade de secagem é regulada pelo tamanho da gota, a temperatura de entrada do ar aquecido e a temperatura de saída para a qual o pó é resfriado. Uma vez que o teor de umidade do produto atinge o nível desejado, a temperatura da partícula não aumenta muito, porque o ar circundante é agora muito mais frio. (DULMAGE et al, 1990)

Assim, na base do secador tem-se uma corrente de ar úmido, e a corrente do produto seco. O ar passará por um tratamento antes de ser liberado na atmosfera e a corrente de produto seguirá para o processo de formulação. (MONNERAT et al, 2018; DULMAGE et al, 1990) No tanque de formulação, como já ressaltado, diferentes adjuvantes são adicionados junto ao produto seco para formulações dispersíveis. Por fim, tem-se o produto final que deve passar por análises de qualidade, envase e comercialização. (MONNERAT et al, 2018; DULMAGE et al, 1990)

4.2. Discussão de implementação de conceitos da Indústria 4.0

Os bioprocessos possuem diversas particularidades que o promovem para possíveis aplicações de conceitos da Indústria 4.0. Usualmente, há um risco muito grande de mudanças sensíveis de parâmetros de processo, como temperatura e pressão, e existe um risco potencial de prejuízos atrelados à contaminação - como por exemplo a entrada de um contaminante em uma produção de um lote de vacina, que pode ocasionar prejuízos milionários. (SILVA et al, 2020). Nesse sentido, a tendência ao observar esses riscos é que a indústria tenha linhas produtivas cada vez mais automatizadas, com erros premeditados, reduzindo potencialmente episódios de contaminação do bioprocessos.

Nesse contexto, além da particularidade de contaminação, outra característica que torna o bioprocessos uma produção sensível, são os produtos instáveis, por conta da subitaneidade de sistemas vivos. (SILVA et al, 2020). Nesse sentido, ao contrário de processos químicos, na qual os parâmetros são conhecidos, controlados e previsíveis, nos bioprocessos uma mudança genética em um organismo ou alterações sensíveis de condições operacionais podem trazer impactos significativos no produto final, logo, o monitoramento e controle são usualmente rigorosos e em tempo real nos bioprocessos, a fim de se evitar prejuízos relevantes. (SILVA et al, 2020)

Como visto no bioprocessos do biopesticida a partir do *Bacillus thuringiensis*, umas das principais variáveis a serem controladas são: o pH, a temperatura, a aeração e a agitação (ANGELO et al, 2010; DULMAGE et al, 1990). Assim, por se tratar de um sistema vivo, o produto pode se tornar instável, com algumas características imprevisíveis, variando a cada batelada. (SILVA et al, 2020)

Com base nisso, a validade da indústria 4.0 nesse bioprocessos é fundamentada na monitorização intensa e rigorosa do processo produtivo. A partir disso, utilizando-se de elementos das smart factories, pode-se observar os sistemas cyber-físicos, na qual são designados como sistemas mecânicos, usualmente compostos por sensores e atuadores, e que possuem controle via software, realizando o monitoramento de processos industriais (SILVA et al, 2020). O objetivo dos sistemas cyber-físicos é a troca de dados do processo, execução de comandos e a observação de processos por via remota. Nesse sentido, é possível que se realizem simulações no processo produtivo via software, trazendo análises preditivas do processo em tempo real, reduzindo

potencialmente a intervenção humana e tomando rotas de produção mais seguras com maior probabilidade de acerto. (SILVA et al, 2020)

Além do conceito supracitado, a Internet das Coisas permite que os parâmetros de bioprocessos sejam detectados e controlados remotamente, possibilitando uma integração do mundo físico com os sistemas virtuais (SILVA et al, 2020). Nesse sentido, há a possibilidade de uma conexão entre os objetos físicos como sensores e atuadores, com objetos virtuais, como softwares, utilizando a internet como canal de comunicação para coleta e troca de dados em tempo real (OZTEMEL & GURSEV, 2018). Nesse contexto, com dados continuamente em tempo real, é possível realizar a correção de falhas durante a produção, minimizar a possibilidade de produtos indesejados, diminuir a variabilidade dos produtos e aumentar a produtividade. Como exemplo no bioprocessos fermentativo de *Bacillus thuringiensis*, quanto mais monitorado o meio reacional for, maior é a possibilidade de obtenção de produtos desejados. (SILVA et al, 2020)

Em relação aos processos inteligentes, na qual faremos uma interface com bioprocessos, no caso de um sensor de temperatura posicionado dentro do fermentador, por exemplo, seria possível que os valores coletados de temperatura fossem enviados a uma central, na qual pode ser acessada via internet em tempo real, permitindo análises por vias remotas. No caso de sensores inteligentes, haverá a captura de dados, a comparação entre esses e os valores programados, resultando em comandos atuadores para correção de temperatura, caso seja necessário, sem intervenção humana. (SACOMANO & SÁTYRO, 2018)

A partir das análises dos sistemas cyber-físico e da Internet das Coisas, faz-se necessário o uso de métodos de Machine Learning para que as análises preditivas sejam de alta confiabilidade. Métodos de Machine Learning, principalmente sistemas neurais artificiais, podem ser utilizados para a análise de um conjunto de dados de bioprocessos e bioensaios para o desenvolvimento de ferramentas de predição, possibilitando a análise do sistema de forma plena, bem como a análise de diversos modelos que podem representar melhor o bioprocessos. (SANTOS, 2019)

Uma das principais opções de análise seria a simulação computacional, na qual consiste na representação de problemas reais simulados com base em equações fenomenológicas, possibilitando a predição de comportamentos de processo, até em condições não testadas empiricamente. (FERREIRA, 2020)

Mais que uma variedade grande de objetivos e produtos, os bioprocessos incluem, em sua cadeia produtiva, o cultivo de microrganismos, o que o torna um processo composto por fenômenos

químicos, físicos e biológicos bastante complexos. Dessa forma, se faz necessário o emprego de sistemas analíticos confiáveis e consistentes, para que seja possível o controle integral das condições de processo, englobando cada parte do processo. (GARGALO et al, 2020) Essas etapas envolvem, no processo-objeto do presente trabalho, além das etapas upstream, isto é, as que envolvem a esterilização, seleção de linhagens microbianas, meios de cultivo, etc; e as etapas downstream, ou seja, separação e purificação de produtos e subprodutos e tratamento de efluentes; como também as etapas de formulação do produto.

Por exemplo, o início do processo, uma vez que inclui o crescimento celular, um sistema multifásico complexo e com sensibilidade considerável devido à natureza intrínseca do crescimento microbiano. Dessa forma, são necessários sensores para medir variáveis como temperatura e pressão, pH e oxigênio dissolvido, bem como parâmetros biológicos, como densidade celular ou concentrações de metabólitos. Esses sensores, por fornecerem informações contínuas, são facilitadores do controle contínuo do processo. (GARGALO et al, 2020)

Monitorar continuamente os biorreatores durante o processo de biofabricação é visto como parte essencial de um controle eficaz do processo, sendo peça chave para alcançar alta eficiência, produtividade e reprodutibilidade. Embora dificilmente estejam disponíveis, informações a respeito de biomassa, substratos, metabólitos, produtos e nutrientes são importantíssimas na tomada de decisões de controle. Além disso, ao medir produtos como células, proteínas e os subprodutos, torna-se possível garantir que o processo se encontra com o desenvolvimento esperado. A possibilidade de avaliação do processo de fermentação e de seu progresso torna possível não apenas otimizar o processo regulando prontamente os parâmetros específicos, mas também para detectar quando o processo não está sob operação ótima. (SANTOS, 2019)

As abordagens trazidas pela indústria 4.0 que combinam tratamentos analíticos e os baseadas em dados são novos desenvolvimentos promissores com potencial para monitorar os principais parâmetros do processo em tempo real. (SANTOS, 2019)

Como os sensores podem fornecer medições relativamente frequentes, torna-se possível acompanhar a dinâmica do processo ao longo da operação. Isso também torna viável usar modelos cinéticos mais complexos e com base em dados para melhorar a precisão do modelo. Mais que isso, é possível utilizar da quantidade exorbitante de dados coletados do processo no desenvolvimento de algoritmos de controle do processo baseados numa modelagem híbrida que acomoda a maior

quantidade de dados disponíveis a partir de sensores de análise em tempo real e a utilização de redes neurais. (GARGALO et al, 2020)

Assim, a utilização de rede neural pode substituir convencionais expressões cinéticas específicas de caso. Isso se dá como uma simplificação e otimização ainda maior desse tipo de controle, uma vez que as expressões cinéticas convencionais normalmente contêm um a cinco parâmetros de modelo que são estimados usando pequenas quantidades de dados e, normalmente, dependem apenas de algumas variáveis de processo. Usando uma rede neural, em vez disso, o número de variáveis de processo de entrada pode ser facilmente estendido além de duas variáveis de processo. (GARGALO et al, 2020)

4.3. Proposta de implementação de instrumentos e métodos avançados de controle do bioprocesso

Com base na discussão, foram analisadas as principais etapas do bioprocesso, a fim de se verificar em quais estágios a implementação da Indústria 4.0 poderia ser mais eficiente. Assim, é notável que a etapa de fermentação da *Bacillus Thuringiensis* é a de maior sensibilidade (MOURÃO, 2017), por possuir modelos cinéticos instáveis com a variação de parâmetros conhecidos, o que pode gerar instabilidade no produto final.

Nesse sentido, uma maior previsibilidade no produto advindo da fermentação é possível ao se obter dados históricos, que são destinados a algoritmos de controle de processos baseados em uma modelagem híbrida, contemplando tanto os modelos cinéticos previstos na literatura, quanto o modelo cinético construído pela rede neural a partir de sensores em tempo real (GARGALO et al, 2020).

Para isso, é sugerido que sejam analisadas e controladas as principais variáveis do processo fermentativo da *Bacillus thuringiensis*, que são a temperatura, pH e oxigênio dissolvido (MOURÃO, 2017), visto que outros parâmetros de processo que não são intrinsecamente ligados ao processo fermentativo podem trazer ruídos de dados para a rede neural, tirando a assertividade da aplicação. (CARVALHO, 2014)

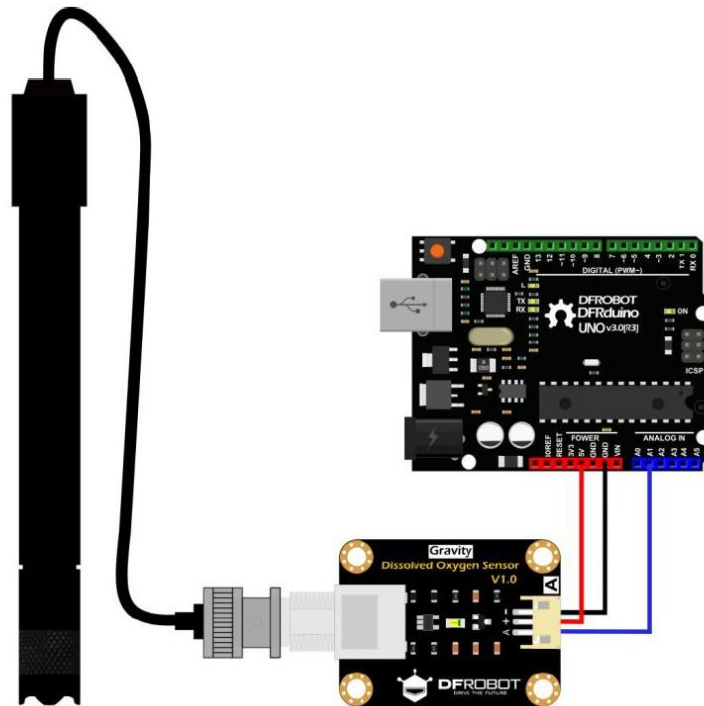
Nesse sentido, é necessário que se utilizem instrumentos analisadores e controladores de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e concentração celular com conexão à internet, para que os dados possam ser processados posteriormente pela rede neural em tempo real. Uma possível

aplicação de instrumentos analisadores com essas características é a partir do Arduíno UNO, que é uma plataforma de código aberto de baixo custo, na qual se consiste em uma placa com um microprocessador, que recebe informações do processo a partir de sensores conectados, sendo possível a conexão com a internet via o Ethernet Shield, utilizando o conector RJ45. (DOS SANTOS, 2021).

Nesse sentido, com o propósito de implementação a baixo custo de sensores, é proposto que o Arduíno UNO seja a base principal para a montagem dos sensores de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e concentração celular. Assim, tem-se, para cada uma das variáveis:

- Oxigênio: Sensor de Oxigênio Dissolvido - SEN0237-A (ALMEIDA, 2019)

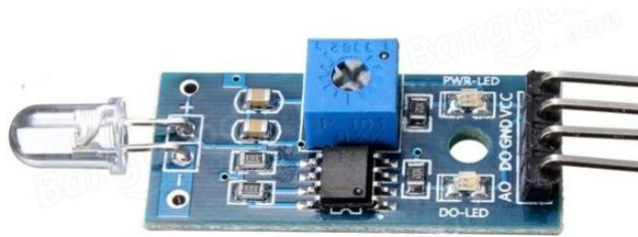
Figura 4.2. – Representação do sensor SEN0237-A.



Fonte: Almeida (2019).

- Biomassa Microbiana: Sensor Óptico de Baixo Custo para Monitoramento On-line e In-situ de Biomassa Microbiana – Módulo sensor de luminosidade MH-Sensor-Series/Flying-Fish (SILVA, 2019)

Figura 4.5. - Módulo sensor de luminosidade MH-Sensor-Series/Flying-Fish.



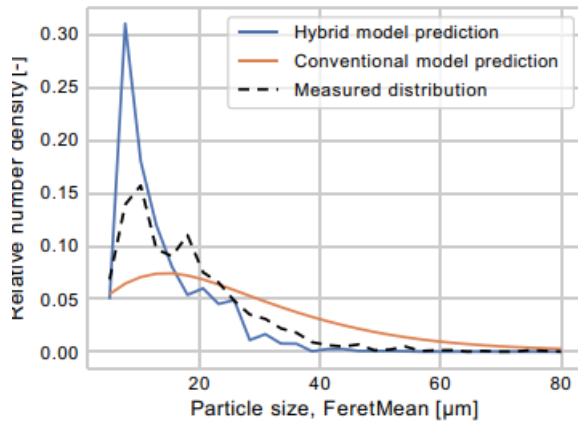
Fonte: Silva (2019).

Com base nisso, os dados são transmitidos via internet, na qual podem ser extraídos, tratados e analisados pela Rede Neural, a variar de acordo com o software desejado para a aplicação da inteligência artificial. Uma sugestão de aplicação de software é o Scilab, por ser uma plataforma de código aberto, na qual é possível desenvolver uma integração com os dados exportados do Arduíno UNO (MARQUES; CARRIJO; JÚNIOR, 2019). O modelo da rede neural depende da aplicação específica a ser analisada, o que pode definir o número de camadas, neurônios e a função de ativação. (FERNEDA, 2006).

O modelo de rede neural proposto terá como objetivo realizar uma simulação do crescimento bacteriano, onde será possível dados de velocidade específica de crescimento em função da concentração dos substratos. O objetivo dessa aplicação, a ser desenvolvida pelo software SciLab, é que existe uma posterior integração entre o modelo gerado pela Rede Neural com o modelo tradicional de velocidade específica de crescimento de Monod, criando a possibilidade de um perfil de um modelo híbrido (GARGALO et al, 2020).

A Figura 4.6 representa um processo similar desenvolvido por Gargalo *et. al.* (2020), onde o modelo híbrido do perfil densidade relativa pelo tamanho das células analisadas é proposto.

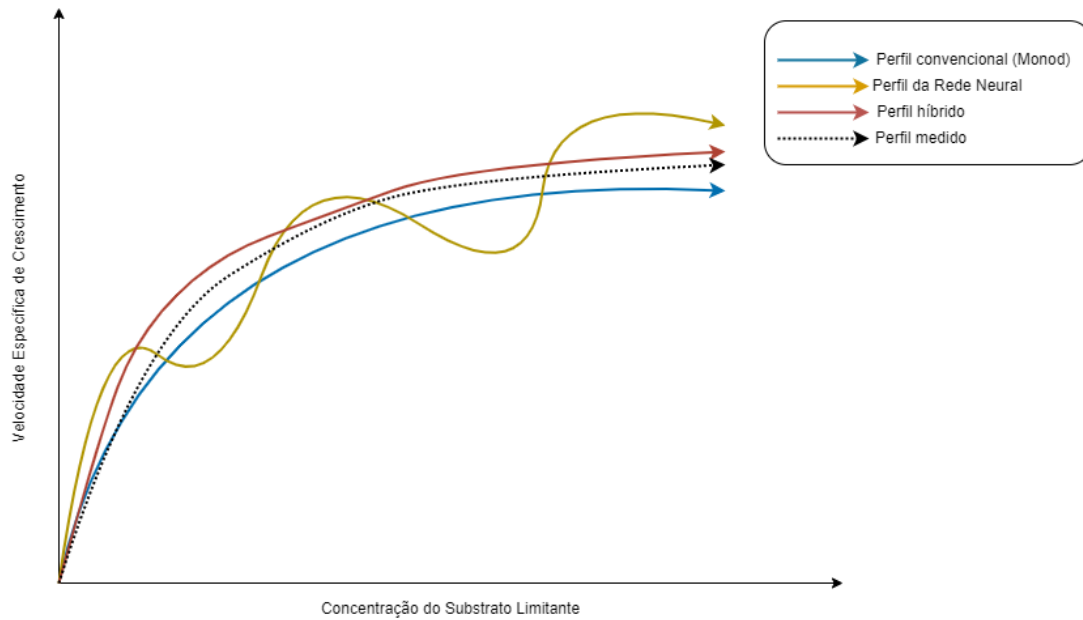
Figura 4.6. – Modelo híbrido de perfil de densidade relativa pelo tamanho celular.



Fonte: Gargalo et. al. (2020).

A Figura 4.7 representa um possível modelo de saída do perfil de velocidade específica híbrida do fermentador.

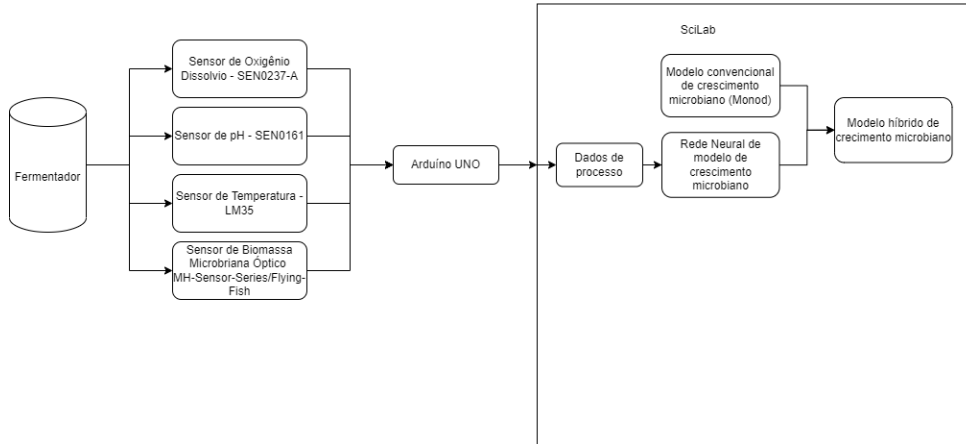
Figura 4.7. – Representação do modelo de perfil de velocidade específica híbrida do fermentador.



Fonte: Elaboração Própria a partir de [Gargalo et. al. (2020).]

O modelo de proposta de implementação de conceitos da Indústria 4.0 pode ser visualizado na Figura 4.8:

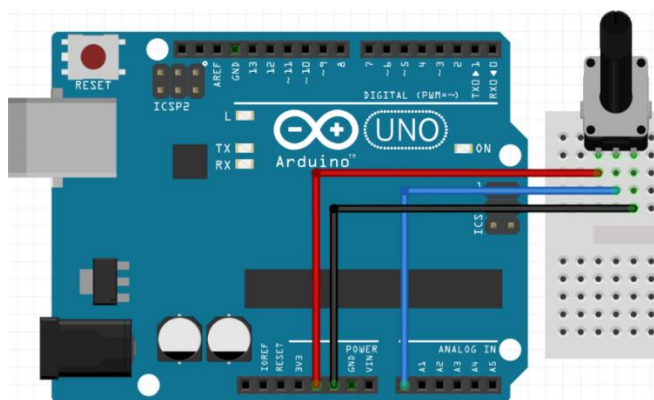
Figura 4.8. – Fluxograma com modelo de proposta de implementação de conceitos da Indústria 4.0.



Fonte: Elaboração Própria

Além disso, para as etapas de centrífuga, spray drier e tanque agitado, é possível realizar a inserção de potenciômetro, para que se obtenha dados de utilização de rede elétrica. Nesse sentido, é possível desenvolver uma Rede Neural capaz de identificar se o processo está dentro ou fora dos padrões esperados, de acordo com o perfil de uso de energia elétrica de cada equipamento. A figura 4.9 representa um modelo de potenciômetro acoplado a um Arduino UNO (SOUSA, 2018).

Figura 4.9. – Representação do potenciômetro



Fonte: Sousa (2018)

A partir disso, foi-se construído um quadro com as propostas específicas de implementação de conceitos da Indústria 4.0 no bioprocesso de produção de *Bacillus thuringiensis*

Quadro 4.1 – Propostas de solução, resultados esperados e conceitos da Indústria 4.0 abordados no bioprocesso de produção *Bacillus thuringiensis*

Etapa do processo	Proposta de solução	Resultado esperado	Conceitos da Indústria 4.0 abordados
Fermentador	Inserção do Sensor de Oxigênio Dissolvido SEN0237-A	Agrupamento e tratamento de todos os dados obtidos de Temperatura, pH, Oxigênio Dissolvido e Biomassa Microbiana para o desenvolvimento de uma Rede Neural mista com formação do Perfil de Velocidade Específica híbrida, permitindo maior assertividade de previsão do crescimento bacteriano	Big data e analytics, Internet das Coisas, Integração de Sistemas e Redes Neurais
	Inserção do Sensor de pH - SEN0161		
	Inserção do Sensor de Temperatura - LM35		
	Inserção do Sensor Óptico de Biomassa Microbiana - MH-Sensor-Serie/Flying-Fish		
Centrífuga	Inserção de potenciômetros no mecanismo elétrico dos equipamentos, a fim de se obter dados de utilização da rede elétrica	Agrupamento e tratamento de dados obtidos do potenciômetro para o desenvolvimento de uma Rede Neural de monitoramento dos processos	
Spray Drier			
Tanque Agitado			

Elaboração Própria a partir de [Grabowska (2018)]

A utilização de modelos como esse na produção de *Bacillus thuringiensis*, permite um conhecimento de controle do processo muito mais eficiente, uma vez que a utilização de redes neurais permite aos controladores aprenderem com o processo com base nos valores das variáveis medidos com o tempo. Seria possível que esses elementos tomassem decisões a respeito do controle com base em perfis aprendidos ao longo do processo passado e realizassem inferências para os valores das variáveis a serem controladas que otimizem o processo ou que o regulam de forma mais eficaz.

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho tem como objetivo trazer propostas de implementação de conceitos da Indústria 4.0 no bioprocesso de produção de *Bacillus Thuringiensis*, e para isso, se buscou respaldo na literatura envolvendo os dois temas. As propostas de implementação de instrumentos e métodos avançados de controle do bioprocessos trouxeram uma nova perspectiva para a produção do *Bacillus Thuringiensis*, tornando-o atualizado com as novas tendências mundiais da aplicação da Indústria 4.0, a partir de sugestões de baixo custo e/ou gratuitas para aplicação dos conceitos apresentados, onde a etapa de fermentação é analisada a fim de se obter modelos cinéticos construídos pelo banco de dados trabalhos pelas redes neurais.

REFERÊNCIAS

- ANGELO, E.A.; VILAS-BÔAS, G.T.; CASTRO-GÓMEZ, R.J.H. *Bacillus thuringiensis*: características gerais e fermentação. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 2010.
- ASSAD, R. E.; SILVA, A. F.; MACHADO, M. A. S.; JAMIR, T. Desafios em cloud computing: armazenamento, banco de dados e big data. Universidade Federal de Pernambuco. 2012.
- AZEVEDO, M. T. Transformação Digital na Indústria: Indústria 4.0 e a Rede de Água Inteligente no Brasil. 2017. Universidade de São Paulo (Tese de Doutorado). São Paulo. 2017.
- BLOEM, J.; DOORN, M.V.; DUIVESTSTEIN, S.; EXCOFFIER, D.; MAAS, R.; OMMEREN, E.V. The Fourth Industrial Revolution—Things to Tighten the Link between IT and OT. Groningen, 2014.
- BORLIDO, D. J. A. Indústria 4.0 – Aplicação a sistemas de manutenção. 2017. Universidade do Porto (Dissertação de Mestrado). Porto. 2017.
- CAPALHO et al. *Bacillus Thuringiensis*. Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. Ano VIII. p.78-85 No 34, 2005.
- CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. O. Produção de inseticida biológico com *Bacillus thuringiensis*. Boletim de Pesquisa, Embrapa. 1987.
- CARVALHO, André Ponce de Leon F. Redes neurais artificiais. ICMC USP, 2009.
- CARVALHO, D. R.; DALLAGASSA, M. Mineração de dados: aplicações, ferramentas, tipos de aprendizado e outros subtemas. AtoZ: novas práticas em informação e conhecimento, Curitiba, v. 3, n. 2, p. 82-86, jul./dez. 2014.
- CARA, M. H. M. Quarta Revolução Industrial: Um estudo bibliográfico da indústria 4; 0 e suas principais tecnologias inseridas. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Produção). Juiz de Fora, 2019.
- CHIAÇA, M. R. M; ABRANTES, M. L. M de. Agilidade dos processos na indústria 4.0. Centro de Pós-Graduação Oswaldo Cruz (Trabalho de Conclusão de Curso). São Paulo. 2020.
- CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. CNI. Desafios para a indústria 4.0 no Brasil/ Confederação Nacional da Indústria. – Brasília: CNI, 2016.
- DOS SANTOS, Rodrigo Vieira USO DO ARDUÍNO E SHIELD ETHERNET PARA MONITORAMENTO DE LUMINOSIDADE, CONTROLE DE TEMPERATURA E DISPOSITIVOS.. Revista Científica Semana Acadêmica. Fortaleza, ano MMXVIII, Nº. 000129, 13/08/2018
- DULMAGE, T.; YOUSTEN, A. A.; SINGER, S.; LACEY, L. A. Guideline for Production of *Bacillus thuringiensis* H-14 and *Bacillus sphaericus* in UNDP/WORLD BANK/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), 1990.

ELIENESIO, M. L. B. Panorama da indústria 4.0 no Brasil: principais tecnologias utilizadas e os desafios para a sua implementação. 2018. Universidade Federal do Ceará (Trabalho de Conclusão de Curso). Fortaleza. 2018.

Environmental and Social Standards. Food and Agriculture Organization. Disponível em: <<http://www.fao.org/environmental-social-standards/en/>>.

FALCÃO, A. C. R. de A. Sistematização dos pilares da Indústria 4.0: Uma análise utilizando revisão bibliográfica sistemática. 2019. Universidade de São Paulo (Dissertação de Mestrado). São Carlos. 2019.

FERNEDA, Edberto. Redes neurais e sua aplicação em sistemas de recuperação de informação. Ci. Inf., Brasília, [S. l.], p. 25-30, 1 jan. 2006.

FERREIRA, J. S. Simulação e validação de processo de fermentação alcoólica e desenvolvimento de banco de dados para bioprocessos em simulador de processos (SimCentral/AVEVA). 2020. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2020.

GALDINO, Natanael. Big Data: Ferramentas e Aplicabilidade. 2016. 12 p.

GARGALO, C.L., UDUGAMA, I., PONTIUS, K. et al. Towards smart biomanufacturing: a perspective on recent developments in industrial measurement and monitoring technologies for bio-based production processes. J Ind Microbiol Biotechnol. 2020.

GOMES, D. S. Inteligência artificial: conceitos e aplicações. Revista Olhar Científico – Faculdades Associadas de Ariquemes. Vol. 01, n.2, 2010.

MANCINI, M. Internet das Coisas: História, Conceitos, Aplicações e Desafios. 2017.

MARQUES, Adriel; CARRIJO, Renato; JÚNIOR, Renato. APLICAÇÕES DIDÁTICAS EM CONTROLE E AUTOMAÇÃO UTILIZANDO SOFTWARES DE SIMULAÇÃO E SISTEMAS DE CONTROLE DIGITAL EMBARCADOS. CEEL - ISSN 2596-2221, Uberlândia, p. 1-5, 25 nov. 2019.

MELO, R. A indústria 4.0 e seus impactos. 2020. Universidade Federal Rural do Semi-árido (Trabalho de Conclusão de Curso). Angicos. 2020.

MONNERAT, R.; PRACA, L. B.; SILVA, E. S. da; MONTALVÃO, S. C. L.; MARTINS, E. S.; SOARES, C. M. S.; QUEIROZ, P. R. Produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* para uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2018.

MOURÃO, A. H. C. Influência e custos de diferentes meios de cultura para produção de *Bacillus thuringiensis* visando o controle de pragas. 2017. 31 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

OLIVEIRA, L. R. Bioinseticidas baseados em *Bacillus thuringiensis*: histórico, de aplicações e tendências. Trabalho de Conclusão de Curso - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Lorena, 2014.

OZTEMEL, E.; GURSEV, S. Literature review of Industry 4.0 and related technologies. *Journal of Intelligent Manufacturing*, [s.l.], Jan. 2018.

PASQUINI, T. C de. S. Proposta de ferramenta para relacionar os princípios da gestão da qualidade aos pilares da indústria 4.0: a influência da indústria 4.0 na área da qualidade. 2018. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Trabalho de Conclusão de Curso). Ponta Grossa. 2018.

PASQUINI, N. C. AS REVOLUÇÕES INDUSTRIAIS: UMA ABORDAGEM CONCEITUAL. *Revista Tecnológica da Fatec Americana*. v. 8, nº 1, 2020.

PATRUNI, G. H. M. Os desafios e oportunidades da indústria química no Brasil perante a indústria 4.0. Universidade Federal do Paraná (Trabalho de Conclusão de Curso). Curitiba. 2019.

PELAEZ, Victor; MIZUKAWA, Gabriel. Diversification strategies in the pesticide industry: from seed to biopesticides. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 47, p. 1-7, 2017.

PEREIRA, E. L.; MARTINS, B. A. Processos biotecnológicos na produção de bioinseticidas. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*. 2016.

PINTO, R. C. A formação do engenheiro químico no contexto da indústria 4.0. 2020. Universidade Federal de São Carlos (Trabalho de Conclusão de Curso). São Carlos. 2020.

REPOLHO, L. C. M. Indústria 4.0 e a indústria química. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharel em Química Industrial) - Universidade Federal do Amazonas. Itacoatiara-AM, 2021.

SACOMANO, J.; SÁTYRO, W. Indústria 4.0: conceitos e elementos formadores. In: EDGARD BLUCHER LTDA. (Org.). *Indústria 4.0: conceitos e fundamentos*. São Paulo: [s.n.], 2018.

SANTOS, M.; MANHÃES, A. M.; LIMA, A. R. Indústria 4.0: desafios e oportunidades para o Brasil. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO DE SERGIPE, 5., São Cristóvão. 2018.

SANTOS, P. H. A. Os desafios e benefícios da implantação das tecnologias da indústria 4.0 no setor químico de processo contínuo. 2019. Universidade Federal do Paraná (Dissertação de Pós-Graduação). Curitiba. 2019.

SAS institute Inc (Brasil). *Redes neurais - o que são e qual a sua importância*. (2019).

SILVA, M. F. O.; COSTA, L. M. A indústria de defensivos agrícolas. *Cadernos BNDES Setorial*, v. 35, 2011.

SILVA, F.; RESENDE, D.; AMORIM, M. Um estudo sobre a aplicação dos conceitos e elementos da indústria 4.0 na produção de biomedicamentos. *Revista Produção Online*. Florianópolis, SC, v. 20, n. 2, p. 493-520, 2020.

SOARES, D. J. *Empresas Orientadas a Dados e Análises: a tecnologia está a serviço da tomada de decisão*. 2017. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Gestão da Informação) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

SOUZA JUNIOR, A. F.; STREIT, R. E. Segurança Cibernética: Política Brasileira e a Experiência Internacional. *Revista do Serviço Público*, v. 68, n. 1, p. 107-130, 2017.

STEHL, J.P.V.; LOUREIRO, R.B. A Engenharia Química No Contexto Da Indústria 4.0: Estudo De Caso Em Uma Usina De Etanol. UFF. Niterói, 2018.

ALMEIDA, R.C. Polypus: Sonda de Baixo custo para análise de parâmetros físico-químicos em águas superficiais. UFSB. Porto Seguro, 2019.

SILVA, I.C.N. Desenvolvimento de um sensor óptico de baixo custo para monitoramento on-line e *in-situ* de biomassa microbiana. UFRJ. Rio de Janeiro, 2019.

MARTINAZZO, C.A. Comparação entre três tipos de sensores de temperatura em associação com arduíno. URI. Erechim, 2016.

GRABOWSKA, S. Improvement of the production process in the industry 4.0 context. Silesian University of Technology. Gliwice, 2018.