

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ÉVERTON HOLANDA SALES

**ANÁLISE DA TRANSFERÊNCIA DE CALOR E PARÂMETROS TÉRMICOS EM
LEITO EMPACOTADO DE FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO**

SÃO CARLOS - SP

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ÉVERTON HOLANDA SALES

**ANÁLISE DA TRANSFERÊNCIA DE CALOR E PARÂMETROS TÉRMICOS EM
LEITO EMPACOTADO DE FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

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

SÃO CARLOS - SP

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Éverton Holanda Sales, realizada em 28/02/2023.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Fernanda Perpétua Casciotori (UFSCar)

Profa. Dra. Lina Maria Grajales Agudelo (UFT)

Prof. Dr. Harvey Alexander Villa Vélez (UFMA)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pela vida, saúde e fé, que me foi sustento em quaisquer situações, me fazendo acreditar que a realização de mais esta etapa seria possível.

Agradeço a toda minha família, em especial aos meus pais Welly Marques e Raimundo José, aos meus irmãos Weller Jaira e Willian José e ao meu sobrinho Salvador Neto pelo amor incondicional, por não medirem esforços para que pudesse me dedicar aos estudos, pelas palavras por vezes confortantes que me fizeram ter esperança, me mostrando sempre o melhor caminho a ser seguido e por serem o meu porto seguro.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a. Fernanda Perpétua Casciatori, por todo ensinamento, paciência, confiança e apoio depositado em mim.

Aos meus amigos Nilton Mafra, Paulo Sérgio e José Davi por todo amor, amizade, companheirismo, além de todo apoio emocional e acadêmico durante esses anos de Mestrado.

Aos meus amigos Mariana Moraes e Wellington Macedo, pelo amor, amizade, companheirismo e por estarem sempre ao meu lado, mesmo que fisicamente distantes, meu muito obrigado.

Aos membros da Comissão Examinadora de meu Exame Geral de Qualificação e Defesa, Prof^o. Dr^o Harvey Alexander Villa Velez e Prof^a Dr^a Lina María Grajales Agudelo que, por meio de suas sugestões, contribuíram para com o direcionamento das etapas finais do trabalho.

A todos os professores, servidores e colegas que cruzaram meu caminho, durante toda a minha jornada, e me ensinaram lições que eu levarei para a vida.

Aos colegas do Laboratório, que se mostraram sempre dispostos a ajudar e contribuir para o bom andamento deste trabalho.

À UFSCar, pela oportunidade e por ter sido a minha segunda casa durante esses anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código de Financiamento 001).

A todos que fazem parte da minha vida, o meu muito obrigado!

*“Quem luta, pode perder.
Quem não luta, já perdeu”*

Bertolt Brecht

RESUMO

Visando à ampliação de escala de processos de fermentação em estado sólido (FES), torna-se necessário o desenvolvimento e o aprimoramento de biorreatores apropriados. Destacam-se os biorreatores de leito empacotado (BLEs), que já vem sendo estudados para produção de enzimas úteis à cadeia de processamento de biocombustíveis, como celulasas para etanol de segunda geração. No entanto, um dos principais problemas na operação destes biorreatores é o superaquecimento do leito, de modo que estudos de transferência de calor nestes sistemas se fazem necessários. Neste contexto, o objetivo do presente projeto foi avaliar o comportamento térmico de um leito empacotado com resíduos sólidos agroindustriais, sem e com a ocorrência de cultivo. Para ensaios sem cultivo, o leito foi empacotado com o substrato úmido (mistura de bagaço de cana e farelo de trigo na proporção mássica de 3:7), mas não inoculado. Foram avaliados, com auxílio de termopares e de um termovisor, os perfis térmicos radiais em regime permanente, para uma altura de leito fixa, com escoamento de água pela camisa e de ar percolando o leito nos sentidos co-corrente (água e ar ascendentes) e contra-corrente (ar ascendente e água descendente) e sob as vazões de 175 e 350 L/h de percolação de ar saturado em umidade. Foram determinados parâmetros efetivos através do modelo a dois parâmetros tradicional, com base nos quais foram definidos e calculados números adimensionais modificados para permitir uma melhor análise térmica do sistema. Para uma dada vazão, os parâmetros térmicos foram maiores para escoamento dos fluidos em contra-corrente, assim como aumentaram com o aumento da vazão de ar. O estudo de caso de cultivo foi o da produção de celulasas por *Myceliophthora thermophila*. Ao longo do cultivo, foram registrados os perfis transientes de temperatura em várias posições radiais e axiais. Com escoamento dos fluidos pela camisa e ar percolante novamente em co e contra-corrente, a temperatura máxima atingida foi em torno de 52°C, cerca de 7°C acima da ótima para cultivo. Por fim, para testar uma estratégia para possivelmente amenizar o superaquecimento do sistema, foram realizados cultivos com reversão periódica do fluxo de ar percolante. Embora a máxima temperatura atingida tenha sido a mesma, foi observada maior homogeneidade térmica no leito, provavelmente melhor distribuição de ar entre os módulos.

Palavras-chave: Bioprocessos; Fungos filamentosos; Cultivo em estado sólido; Leitos empacotados; Modo de operação; Biorreatores.

ABSTRACT

Aiming at expanding the scale of solid-state fermentation processes (SSF), it is necessary to develop and improve appropriate bioreactors. Of note are the packed-bed bioreactors (PBBs), which have already been studied for the production of enzymes useful in the biofuel processing chain, such as cellulases for second-generation ethanol. However, one of the main problems in the operation of these bioreactors is the overheating of the bed, so that heat transfer studies in these systems are necessary. In this context, the objective of this project was to evaluate the thermal behavior of a bed packed with solid agro-industrial waste, with and without the occurrence of cultivation. For tests without cultivation, the bed was packed with the humid substrate (mixture of sugarcane bagasse and wheat bran in a 3:7 weight ratio), but not inoculated. With the aid of thermocouples and a thermal imager, the radial thermal profiles were evaluated in a steady state, for a fixed bed height, with water flowing through the jacket and air percolating through the bed in co-current directions (water and air ascending) and counter-current (ascending air and descending water) and under flows of 175 and 350 L/h percolation of air saturated in humidity. Effective parameters were determined through the traditional two-parameter model, based on which modified dimensionless numbers were defined and calculated to allow a better thermal analysis of the system. For a given flow, the thermal parameters were higher for fluid flow in counter-current, as well as increased with the increase in air flowrate. The cultivation case study was the production of cellulases by *Myceliophthora thermophila*. During cultivation, transient temperature profiles were recorded at various radial and axial positions. With fluid flow through the jacket and percolating air again in co and counter-current, maximum temperature reached was around 52°C, around 7°C above the optimum for cultivation. Finally, to test a strategy to possibly mitigate the overheating of the system, cultivations were carried out with periodic reversal of the percolating air flow. Although the maximum temperature reached was the same, greater thermal homogeneity was observed in the bed, probably due to the better air distribution between the fermenting modules.

Key-words: Bioprocesses; Filamentous fungi; Solid-state cultivation; Packed-beds; Modes of operation; Bioreactors.

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

A_{Enz}	Atividade enzimática (U/gss)
A_{Esp}	Atividade enzimática específica (U/mg)
ANOVA	Análise de variância
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
BC	Bagaço de cana-de-açúcar
BLE	Biorreator de leito empacotado
b.u	Base úmida (%)
BOD	Incubadora (demanda bioquímica de oxigênio)
C	Dióxido de carbono acumulado (mol)
CBH	Celobiohidrolases
$C_{Esporos}$	Concentração de esporos desejada (esporos.g ⁻¹)
CMC	Carboximetilcelulose
CMCase	Atividade de endoglucanase
CO ₂	Dióxido de carbono (% v/v)
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
F	Vazão de ar (L/h)
FES	Fermentação em estado sólido
FT	Farelo de Trigo
FPase	Atividade sobre papel de filtro
Fsm	Fermentação submersa
M	Média da contagem dos quadrantes ($n_{esporos} \cdot mL^{-1}$).
m_s	Massa de substrato (g)
$m_{solução}$	Massa de solução a ser adicionada (g)
P	Produção de proteínas solúveis (mg)
pH	Potencial hidrogeniônico
R ²	Coefficiente de determinação
t	Tempo (h)
V_{cam}	volume total da câmara (mL)
$V_{inóculo}$	Volume do inóculo a ser adicionado (mL);
V_m	Volume molar dos gases ideais 22,4 (L/mol)
X_0	Concentração inicial de dióxido de carbono (mol)

X_m	Concentração máxima de dióxido de carbono (mol)
x_1	Umidade inicial do substrato (g/g)
x_2	Umidade final do substrato (g/g)
μ	Constantes específicas (h^{-1})
Δt	Diferença do tempo (h)

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Organização esquemática estrutural da parede celular vegetal.....	8
Figura 3.2. Biorreatores mais comuns para FES: a) Tambor de parede rotativa; b) Tambor de pás rotativas; c) Bandeja de fundo cego; d) Bandeja de fundo perfurado; e) Leito empacotado.....	12
Figura 4.1. Fluxograma ilustrativo das etapas do trabalho.....	29
Figura 4.2. Esquema de preparo do inóculo a partir dos criotubos.....	30
Figura 4.3. Sistema de suporte ao leito empacotado.....	32
Figura 4.4. Esquema representativo do biorreator de leito empacotado em multicamadas e suas partes com (a) módulo fermentativo, (b) módulos de entrada e saída, (c) biorreator montado sem substrato, (d) biorreator montado com substrato e (e) foto do biorreator.....	33
Figura 4.5. Esquema do sentido de percolação do fluxo de ar (a) ascendente, 0 a 24 h e 48 a 72 h; (b) descendente, 24 a 48 h e 72 a 96 h.....	36
Figura 4.6. Suporte para os termopares.....	37
Figura 4.7. Termovisor infravermelho pontual.....	37
Figura 5.1. Perfis de temperatura dos ensaios sem cultivo: a) CT, 175 L/h; b) CT, 350 L/h; c) CC, 175 L/h; d) CC, 350 L/h.....	42
Figura 5.2: Temperatura em função da posição radial no leito fixo percolado por diferentes vazões de ar em sentidos CC e CT com relação ao escoamento de água pela camisa.....	44
Figura 5.3. Perfis de temperatura dos ensaios com cultivo, vazão de ar 350 L/h: a) CT; b) CC.....	48
Figura 5.4. Temperatura em função da posição radial no instante do pico de geração de calor no biorreator de leito empacotado com ocorrência de FES, sob percolação de ar a 350 L/h, em CT e CC e em duplicata.....	49
Figura 5.5. Perfis de concentração de CO ₂ em função do tempo de cultivo em (a) CT; (b) CC.....	52
Figura 5.6. Ajuste do modelo de regressão logística aos dados de CO ₂ acumulado em duplicata em (a) CT; (b) CC.....	53
Figura 5.7. Perfis de temperatura dos ensaios com cultivo em leito empacotado com 4 módulos: (a) com reversão da percolação, exp. 1; (b) com reversão, exp. 2; (c) sem reversão da percolação, exp. 1; (d) sem reversão, exp. 2.....	57

Figura 5.8. Temperatura em função da posição radial no instante do pico de aquecimento e na posição axial central em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação e aeração end-to-end, sob vazão de ar de 350 L/h.....	58
Figura 5.9. Perfis de concentração de CO ₂ na corrente de saída em função do tempo de cultivo nos testes (a) com reversão da percolação a cada 24 h; (b) sem reversão da percolação.....	60
Figura 5.10. Ajuste do modelo de regressão logística aos dados de CO ₂ acumulado em função do tempo de cultivo nos testes (a) com reversão da percolação a cada 24 h; (b) sem reversão da percolação.....	60
Figura 5.11. Imagens térmicas de infravermelho (a) sem reação, 175 L/h, CT; (b) sem reação, 350 L/h, CT; (c) sem reação, 175 L/h, CC; (d) sem reação, 350 L/h, CC; (e) ao final de um cultivo em CT; (f) ao final de um cultivo em CC; (g) ao final de um cultivo com reversão de fluxo; (h) ao final do cultivo controle. O sinalizador indica a posição em que está sendo medida a temperatura, indicada no canto superior esquerdo de cada imagem	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Potencial de biomassa agroindustrial gerada no brasil na safra de 2021-2022.....	7
Tabela 5.1. Análise dos perfis térmicos dos ensaios sem cultivo.....	43
Tabela 5.2. Parâmetros térmicos do leito de BC:FT 3:7 m/m com 65% de umidade.....	47
Tabela 5.3. Análise dos perfis térmicos dos ensaios com cultivo em BLE na composição BC:FT 7:3, vazão de ar 350 L/h.....	50
Tabela 5.4. Constantes específicas de produção de CO ₂ acumulado nos ensaios com cultivo nos sentidos CC e CT.....	53
Tabela 5.5. Atividade de endoglucanase, Produção de proteínas solúveis e atividade específica obtida nos cultivos no BLE.....	54
Tabela 5.6. Umidade final do meio utilizado nos módulos acessórios de entrada, fermentativo e saída do BLE após os cultivos de <i>M. thermophila</i> em estado sólido em BC:FT 3:7 m/m.....	55
Tabela 5.7. Análise dos perfis térmicos dos ensaios com cultivo em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação, vazão de ar 350 L/h.....	59
Tabela 5.8. Constantes específicas de produção de CO ₂ acumulado nos ensaios em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar e controle.....	61
Tabela 5.9. Atividades de endoglucanase obtidas nos cultivos no BLE sem e com reversão periódica do fluxo de ar.....	62
Tabela 5.10. Produção de enzimas fibrolíticas por linhagens do fungo <i>Myceliophthora</i>	63
Tabela 5.11. Produção de proteínas solúveis e atividade específica obtidas nos cultivos sem e com reversão periódica do fluxo de ar.....	64
Tabela 5.12. Umidade final do meio utilizado nos módulos acessórios de entrada, fermentativo e saída obtidas nos cultivos sem e com reversão periódica do fluxo de ar.....	64
Tabela 5.13. Valores de Da _m para os cultivos realizados no presente trabalho.....	67

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	4
2.1	Objetivo geral.....	4
2.2	Objetivos específicos.....	4
3	REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1	Resíduos agroindustriais no Brasil.....	5
3.2	Biomassa lignocelulósica	6
3.3	Fermentação em estado sólido (FES).....	9
3.3.1	Microrganismos utilizados na FES.....	10
3.4	Biorreatores para FES	11
3.5	Transferência de calor em leitos empacotados não reacionais.....	14
3.6	Transferência de calor em biorreatores de FES em leito empacotado	18
3.7	Números adimensionais modificados para apoio à análise de transferência de calor em leitos empacotados para FES.....	25
3.8	Considerações finais.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	Microrganismo para os ensaios com cultivo	29
4.2	Solução nutriente para os ensaios com cultivo.....	31
4.3	Matriz sólida porosa úmida	31
4.4	Ensaio em leito empacotado	32
4.4.1	Sem reação ou sem cultivo	32
4.4.2	Com reação ou cultivo (FES)	34
4.4.3	FES com reversão periódica do sentido de percolação de ar	35
4.5	Técnicas de medição de temperatura	36
4.6	Determinação de umidade	38
4.7	Análise respirométrica nos ensaios com cultivo.....	38
4.8	Determinações analíticas	39
4.8.1	Atividade enzimática	39

4.8.2	Concentração de proteínas solúveis.....	39
4.8.3	Atividade específica	40
4.9	Determinação de parâmetros térmicos	40
4.10	Análises estatísticas	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1	Análise térmica em leito empacotado sem ocorrência de FES.....	42
5.1.1	Parâmetros térmicos em leito empacotado sem ocorrência de FES	46
5.2	Análise térmica em leito empacotado com cultivo em FES.....	48
5.2.1	Análise respirométrica em leito empacotado com cultivo em FES.....	52
5.2.2	Atividade enzimática obtida por FES.....	54
5.2.3	Umidade ao final do tempo de cultivo em FES.....	55
5.3	Análise térmica em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar durante o cultivo em FES	56
5.3.1	Análise respirométrica em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar durante o cultivo em FES	59
5.3.2	Atividade enzimática obtida por FES com reversão do sentido de percolação de ar	61
5.3.3	Umidade obtida por FES com reversão do sentido de percolação de ar	64
5.4	Imagens térmicas do processo sem reação, com reação e em regime de reversão	65
5.5	Análise térmica dos cultivos com base no adimensional de Damköhler modificado	67
6	CONCLUSÕES	69
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
	APÊNDICE A – Programa Em fortran para estimativa dos parâmetros – parte 1	78
	APÊNDICE B – MODELO PARA ENTRADA DE DADOS PARA ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS	92
	APÊNDICE C – Figura C1. Perfis de temperatura dos ensaios sem cultivo, duplicata. Fonte: Autoria própria.....	93

1 INTRODUÇÃO

No início do século XX, as pesquisas deram grande destaque para o desenvolvimento de refinarias de petróleo, carvão e gás natural, a fim de explorar o estoque disponível de combustíveis fósseis, alternativas relativamente baratas de produção de combustível. Em vista do esgotamento das jazidas desse tipo de combustível, além do fato de não serem considerados sustentáveis, uma vez que a queima dos mesmos contribui em grande parte para o aumento do nível de CO₂ na atmosfera (que tem sido associado diretamente ao aquecimento global), a busca por alternativas sustentáveis e ambientalmente amigáveis como fontes de energia se tornou urgente nos últimos anos (NAIK et al., 2010). Dessa forma, a produção de combustíveis limpos em larga escala é uma área estratégica a ser explorada. No Brasil, em 1975 foi criado o Programa Nacional do Alcool (PROÁLCOOL), impulsionado pelo primeiro “choque do petróleo” em 1973, e foi um passo inicial para tornar o país o segundo maior produtor de etanol no mundo, atrás apenas dos EUA. O sucesso do programa é notório, uma vez que a produção brasileira de etanol cresceu de 0,55 em 1975/1976 para 32,5 bilhões de litros na safra 2020/2021 (UNICA, 2023).

Como consequência do aumento da produção de etanol, também houve o aumento da produção de cana de açúcar, principal matéria-prima utilizada para a produção desse combustível no país (PEREZ, 2020). Ao passo que a produção de etanol se destacou, as vantagens econômicas e a facilidade de produção, somados ao fato de ser uma energia limpa e renovável, aumentaram a demanda desse combustível. As estratégias adotadas para o aumento de produção foram, além do aumento da área plantada, aumento da produtividade. No entanto, preocupações com o meio ambiente e com o aumento do preço dos alimentos fixam limites à produção de biocombustíveis de primeira geração (PEREZ, 2020).

Nesse contexto, uma alternativa é a utilização de matéria-prima lignocelulósica, que consiste basicamente de resíduos vegetais, para a produção dos chamados biocombustíveis de segunda geração. Entretanto, a tecnologia necessária para tal ainda está em desenvolvimento, sendo que muitos obstáculos econômicos e técnicos precisam ser superados para a viabilização de sua produção em larga escala (SÁNCHEZ e CARDONA, 2008).

O bagaço de cana-de-açúcar, resíduo da produção de etanol de primeira geração, é considerado promissor como matéria prima para a produção de etanol de segunda geração, uma vez que o Brasil produz cana-de-açúcar em grandes quantidades, gerando um enorme volume desse resíduo. Além da disponibilidade, o bagaço é constituído por aproximadamente 50% de

celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina, caracterizando-se como uma fonte potencial de açúcares fermentescíveis. A utilização deste resíduo agroindustrial em bioprocessos é uma alternativa racional para produção de substratos para fermentação e uma contribuição para solucionar o problema da poluição ambiental, causada pelo acúmulo de resíduos no meio ambiente (PANDEY et al., 2000). No entanto, para que a celulose seja convertida em açúcares fermentescíveis, são necessárias enzimas celulolíticas, que encarecem o processo.

Neste contexto, o emprego de resíduos sólidos agroindustriais na fermentação em estado sólido (FES) é técnica e economicamente interessante, tendo em vista a fácil disponibilidade e o baixo valor comercial desses subprodutos (CASCIATORI, 2011), e a possibilidade de produzir enzimas a mais baixo custo. A fermentação em estado sólido (FES) pode ser definida como um bioprocessos no qual ocorre o crescimento de microrganismos sobre uma matriz sólida porosa e úmida. Embora possa haver gotas de água não absorvidas pela fase sólida, o espaço entre as partículas é preenchido majoritariamente por uma fase gasosa contínua (MITCHELL et al., 2006). Diversas aplicações da FES são relatadas na literatura, como a produção de biofertilizantes, suplementos para ração animal, biopesticidas, biofungicidas, esporos, probióticos, pigmentos, enzimas celulolíticas, dentre outras (RODRIGUES, 2021).

Os microrganismos mais utilizados comercialmente para a produção dessas enzimas são os fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*. No entanto, trabalhos recentes vêm mostrando o potencial do fungo termófilo *Myceliophthora thermophila* para a produção de endoglucanase (CASCIATORI et al., 2015; PEREZ; CASCIATORI; THOMÉO, 2019; ZANELATO et al., 2012). A utilização de microrganismos termófilos tem a vantagem de produzir enzimas termoestáveis, podendo-se utilizar temperaturas elevadas no processo de hidrólise, evitando a contaminação por microorganismos externos e também possibilitando que as enzimas penetrem mais facilmente no substrato, já que a porosidade expandirá com o aumento da temperatura (BRUINS; JANSSEN; BOOM, 2001; COWAN, 1997; PAËS; O'DONOHUE, 2006).

Em especial, o número de trabalhos voltados para a produção de enzimas requeridas no processo de obtenção de biocombustíveis, como o etanol de segunda geração (E2G), tem aumentado nos últimos 20 anos (VANDENBERGHE et al., 2020). Nesse sentido, vários pesquisadores passaram a investigar a produção de celulasas e hemicelulasas por meio da FES (RODRIGUES, 2021; CASCIATORI et al., 2016; SALOMÃO et al., 2019; MARÍN et al., 2019; PEREZ et al., 2019), uma vez que elas podem ser produzidas nas próprias biorrefinarias,

utilizando sub ou coprodutos como substratos, como bagaço de cana (BC), tornando possível o compartilhamento de instalações, utilidades e colaboradores (BEHERA; RAY, 2016).

A escolha do biorreator é extremamente importante para obtenção de bons resultados na FES, afinal é nele que a bioconversão acontece (Perez, 2020). Esses fermentadores conhecidos como biorreatores, são definidos como recipientes que buscam simular as condições do habitat natural de determinados microrganismos para que ocorra a produção dos compostos desejados. Biorreatores de FES podem ser de leito fixo, de bandeja, tambores rotativos, entre outros (ZANELATO, 2011). Dentre esses modelos, destacam-se os biorreatores de leito empacotado (BLEs), que já vêm sendo estudados para produção, por FES, de enzimas úteis à cadeia de processamento de biocombustíveis. Além de ter como vantagens a simplicidade do projeto, o custo reduzido e a facilidade de manutenção (CASCIATORI, 2015), este tipo de biorreator favorece o desenvolvimento de microrganismos sensíveis ao atrito, devido a inexistência de movimento de suas partículas ao longo do cultivo (CALIXTO, 2019).

O biorreator de leito empacotado (BLE), que tradicionalmente consiste em uma coluna de seção transversal cilíndrica encamisada de fundo perfurado para permitir a percolação de ar forçado, é o tipo mais comumente empregado em FES. Além de geralmente ser um equipamento de menor custo, a chance de contaminação nesse biorreator é menor em relação ao de bandeja, dado que sua estrutura é fechada (SOCCOL et al., 2017).

Apesar de vários trabalhos e patentes já terem sido publicados sobre produção de celulases e outras biomoléculas por FES em BLEs, a maioria das aplicações ainda não se estabeleceu em âmbito industrial. Esses equipamentos são raramente operados em grande escala, por dificuldades relacionadas ao controle e monitoramento desses processos, devido principalmente à remoção deficiente do calor metabólico gerado pela FES no interior do leito. Dessa forma, diversos pesquisadores vêm buscando alternativas que possam minimizar esses problemas e viabilizar a operação desses biorreatores em âmbito industrial, sendo um desafio aumentar a escala mantendo elevados rendimentos e um custo competitivo. Fundamentalmente, a solução desse impasse depende de estudos de engenharia (RODRIGUES, 2021).

Mediante a necessidade de dissipar o calor gerado durante a FES para evitar danos à produtividade do bioprocessamento, o conhecimento dos mecanismos, modelos e propriedades de transferência de calor em BLEs mostra-se de fundamental relevância, dando suporte a projetos de equipamentos para FES (CASCIATORI, 2011). Diante do exposto, o presente trabalho teve como intuito principal buscar um maior entendimento dos fenômenos de transferência de calor

em biorreatores de FES em leito empacotado, o que é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficientes de manutenção de condições térmicas ideais nestes sistemas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento térmico de um leito empacotado com resíduos sólidos agroindustriais, sem e com a ocorrência de fermentação em estado sólido (FES).

2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos, podem-se enumerar os seguintes:

- Analisar perfis de temperatura em regime permanente em leito empacotado com uma mistura de bagaço de cana e farelo de trigo na proporção mássica de 3:7, sendo o leito encamisado e sujeito a percolação de ar saturado sob as vazões de 175 e 350 L/h e sob escoamento de água pela camisa e de ar percolando o leito nos sentidos co-corrente (paralelo) e contra-corrente;
- Determinar parâmetros térmicos efetivos: o coeficiente convectivo de troca de calor (h_p) e a condutividade térmica efetiva radial (K_r) em regime permanente com base no modelo tradicional a dois parâmetros da literatura;
- Analisar perfis de temperatura em regime transiente durante a FES no mesmo leito empacotado, mediante inoculação do fungo *Myceliophthora thermophila* I-1D3b;
- Analisar o efeito da reversão periódica do sentido do escoamento de ar percolante nos ensaios de FES;
- Avaliar o desempenho do cultivo com base na produção de endoglucanase e nos perfis de temperatura e de produção de gás carbônico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Resíduos agroindustriais no Brasil

O agronegócio tem sido reconhecido como um vetor crucial do crescimento econômico brasileiro. Em 2020, a soma de bens e serviços gerados no agronegócio chegou a R\$ 1,98 trilhão ou 27% do PIB brasileiro. Dentre os segmentos, a maior parcela é do ramo agrícola, que corresponde a 70% desse valor (R\$ 1,38 trilhão); a pecuária corresponde a 30%, ou R\$ 602,3 bilhões (CEPEA, 2022). O valor bruto da produção (VBP) agropecuária alcançou R\$ 1,10 trilhão em 2020, dos quais R\$ 712,4 bilhões foram na produção agrícola e R\$ 391,3 no segmento pecuário. As estimativas e projeções mais recentes apontaram que o VBP de 2021 seria de R\$ 1,20 trilhão, dos quais R\$ 792,0 bilhões seriam oriundos da produção agrícola e R\$ 406,3 do segmento pecuário, representando um incremento de 8,6% em relação a 2020 (CNA, 2021). O crescimento acentuado do agronegócio brasileiro o coloca em posição de destaque no processo de desenvolvimento do país, ao mesmo tempo em que culmina na larga produção de resíduos (FAO, 2013).

Os resíduos agroindustriais foram gerados na quantidade de 1.090 mil bep/dia (barris equivalentes de petróleo por dia) e devem atingir cerca de 1,5 milhões de bep/dia na projeção para 2030. Estes resíduos encontram-se já concentrados em unidades industriais, como usinas de etanol e açúcar e unidades de beneficiamento agroindustrial, sendo a maximização do aproveitamento de seu conteúdo energético (como na forma de agropellets, biocarvão ou torrefação) dependente de tecnologia industrial de minimização de consumo energético dos processos produtivos e de tecnologia de geração termelétrica de maior eficiência. O potencial de energia primária dos resíduos agrícolas (que poderiam ter um aproveitamento energético), com valores da ordem de 7,5 milhões de bep/dia em 2021 e de 8,9 milhões de bep/dia na projeção para 2030 requer investimentos para o desenvolvimento de rotas tecnológicas para sua recuperação, referentes ao maquinário capaz de recuperar de forma adequada esta biomassa que fica no campo, e dispêndios de disponibilização, referentes aos custos desta operação e do seu transporte até uma unidade que efetivará sua aplicação como combustível para geração de energia (ABIB, 2022).

O aproveitamento desses resíduos se traduz em uma forma de minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte incorreto destes no ambiente. Além disso, eles representam matérias-primas interessantes para a produção de produtos com possível valor agregado. Uma maneira para o aproveitamento desses resíduos é o bioprocessamento para a produção de

produtos como biocombustíveis (etanol, butanol e hidrogênio), produtos químicos valiosos, como ácidos orgânicos (ácido butírico, ácido succínico, ácido itacônico, ácido láctico, ácido fumárico e ácido málico), triacilgliceróis, polihidroxicarboxilatos, e também enzimas e outras biomoléculas (MARZO et al., 2019).

3.2 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica constitui o material mais abundante do planeta, correspondendo a 90% da biomassa de carbono disponível na biosfera (NOGUEIRA, 2017). Os materiais lignocelulósicos podem ser classificados de acordo com a sua origem, dividindo-se em quatro grupos principais: a biomassa florestal, os resíduos agrícolas (palha de arroz, bagaço de cana de açúcar, casca de coco-verde, dentre outros), os resíduos de culturas energéticas e os resíduos celulósicos com origens variadas (resíduo sólido municipal, de serrarias e da indústria de papel e celulose). Deste modo, observa-se que esses materiais possuem uma composição bastante variada e complexa, sendo influenciada, por exemplo, pela espécie da planta, as condições de crescimento, o tecido vegetal e o tipo de processamento aplicado à biomassa (KIM; LEE; KIM, 2016).

A Tabela 3.1 traz dados quantitativos de biomassa agroindustrial gerada no Brasil na safra de 2021-2022, a partir das principais culturas do país, onde se evidencia o enorme potencial de aproveitamento desses materiais.

O bagaço de cana-de-açúcar, resíduo da produção de etanol de primeira geração, é considerado promissor como matéria prima para a produção de etanol de segunda geração, uma vez que o Brasil produz cana-de-açúcar em grandes quantidades, gerando um enorme volume desse resíduo (PANDEY et al., 2000). Segundo a CONAB (2022), a produtividade da atual safra de cana-de-açúcar começa a mostrar sinais de recuperação, após dois ciclos consecutivos de adversidades climáticas. O aumento de 1,6% na média nacional no rendimento das lavouras do país é um contraponto para a redução de 2,6% na área total de cultivo. Com isso, a produção deve chegar a 572,9 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, o que representa ainda uma ligeira queda de 1% em comparação com o ciclo anterior, como indica o segundo levantamento da safra 2022/2023. No ciclo de 2021/2022, a produtividade dos canaviais esteve estimada em 69.355 kg por hectare, ao passo que em 2020/21, o desempenho das lavouras ficou em torno de 70.357 kg por hectare de cana plantada, valor muito próximo ao que é esperado para a atual temporada.

Tabela 3.1. Potencial de biomassa agroindustrial gerada no Brasil na safra de 2021-2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE BIOMASSA BRASIL BIOMASSA CONSULTORIA ENGENHARIA POTENCIAL DE BIOMASSA AGRICULTURA AGROINDUSTRIAL SUCROENERGÉTICO BRASIL		
	SAFRA 2021 - 2022	BIOMASSA AGROINDUSTRIAL
	(TON)	(TON/ANO)
TIPO DE CULTURA/BIOMASSA	PRODUÇÃO BRASIL	QUANTITATIVO BIOMASSA
ALGODÃO HERBÁCEO (CAROÇO)	6.600.000	18.183.000
AMENDOIM (CASCA E PALHA)	692.300	1.938.440
ARROZ (PALHA)	10.300.000	18.097.100
ARROZ (CASCA)	10.300.000	3.605.000
CACAU (CASCA)	224.168	145.709
CAFÉ(CASCA E PERGAMINHO)	3.400.000	2.550.000
CEVADA/MALTE (BAGAÇO E PALHA)	453.300	770.610
COCO VERDE (CASCA)	3.508.850	5.614.160
FEIJÃO (PALHA)	3.200.000	1.696.000
MILHO (PALHA)	111.900.000	257.370.000
SOJA (PALHA)	116.200.000	290.625.000
TRIGO (PALHA)	7.700.000	13.475.000
CANA-DE-AÇÚCAR (BAGAÇO)	596.100.000	160.947.000
CANA-DE-AÇÚCAR (PALHA)	596.100.000	166.908.000
AÇAI (CAROÇO)	1.698.657	1.189.059
CASTANHA PARÁ/BRASIL (CASCA)	32.000	51.200
COCO BABAÇU (CASCA)	47.706	44.366
DENDÊ(CASCA FIBRA)	395.000	395.000
FRUTICULTURA LARANJA (BAGAÇO)	15.300.00	7.803.000
FRUTICULTURA UVA (BAGAÇO)	1.500.000	600.000
GRAMÍNEAS CAPIM ELEFANTE	202.500	202.500
GRAMÍNEAS SORGO	2.661.900	2.661.900
MANDIOCA	24.500.000	12.103.000
TOTAL BRASIL BIOMASSA		967.005.044

Extraído de: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/potencial-de-biomassa-de-residuos-agroindustriais-no-brasil>.

Tendo em vista que a cana-de-açúcar é utilizada tradicionalmente na produção de açúcar e álcool no Brasil e que são gerados em média 200 kg de bagaço para cada tonelada de cana moída, é possível ter ideia da abundância e baixo valor comercial deste subproduto no Brasil (SOCCOL, 2006). O bagaço de cana é empregado principalmente nas caldeiras da própria usina para geração de energia elétrica, o que reduz os custos do processo. No processamento da cana-de-açúcar, para cada tonelada da matéria-prima, 140 kg de bagaço em base seca são gerados. O grande volume de bagaço de cana gerado e sua composição o torna uma biomassa de grande interesse para a produção de etanol celulósico (SANTOS et al., 2014; CONAB, 2018b). Além da disponibilidade, o bagaço é constituído por aproximadamente 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina, caracterizando-se como uma fonte potencial de açúcares fermentescíveis. A utilização deste resíduo agroindustrial em bioprocessos é uma alternativa racional para produção de substratos para fermentação e uma contribuição para solucionar o

problema da poluição ambiental, causada pelo acúmulo de resíduos no meio ambiente (PANDEY et al., 2000).

A parede vegetal desta biomassa orgânica é um material heterogêneo composto principalmente, na sua forma natural, por celulose, hemicelulose e lignina, e em menor proporção, há a presença de proteínas estruturais, lipídeos e substâncias inorgânicas (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014; PAUL et al., 2021). A Figura 3.1 ilustra a distribuição destes componentes e a organização estrutural mais comum da parede celular vegetal.

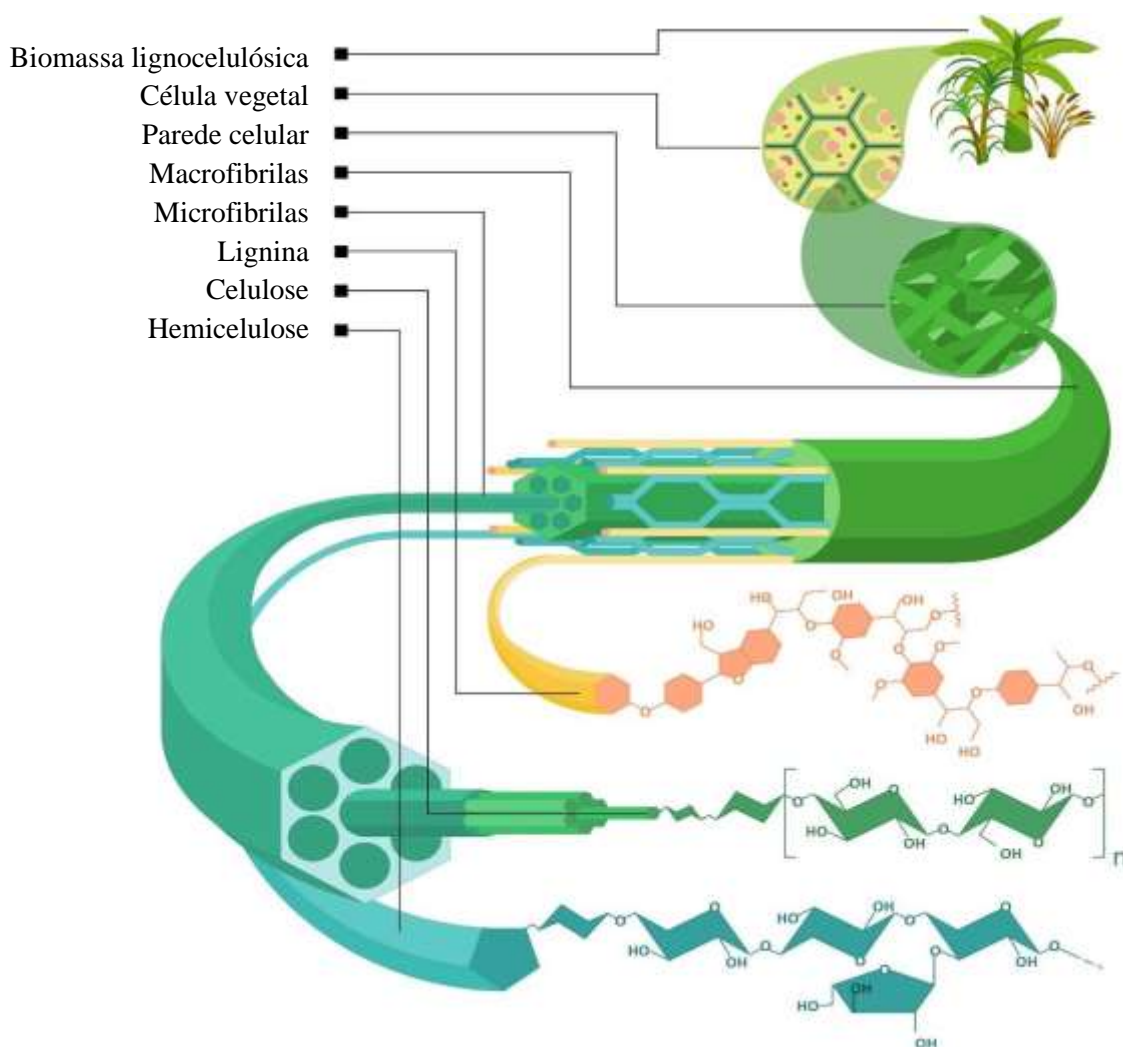


Figura 3.1. Organização esquemática estrutural da parede celular vegetal. Fonte: Adaptado de Magalhães et al. (2019).

A biomassa lignocelulósica é recalcitrante e esta característica se deve a estrutura da parede das células vegetais, na qual é contida uma rede de polissacarídeos, proteínas glicosiladas e lignina (ZHAO; ZHANG; LIU, 2012). Essa recalcitrância funciona como

mecanismo de proteção contra microrganismos ou enzimas para os vegetais. Outros fatores contribuem para a recalcitrância da biomassa vegetal como o tecido epidérmico da planta, particularmente a cutícula e ceras epicuticular, o grau de lignificação, a complexidade da parede celular como microfibrila e polímeros da matriz, entre outros (ZHAO; ZHANG; LIU, 2012).

Por ser considerada uma fonte renovável, ela tem despertado interesse pois através de processos químicos é possível converter parte da biomassa em bioprodutos de alto valor agregado como o biocombustível ou a nanocelulose. No entanto, devido à alta recalcitrância e à complexa estrutura baseada na celulose, hemicelulose e lignina, são necessários pré-tratamentos antes do processo de conversão de biomassa e esses têm sido um desafio para a viabilidade de uma biorrefinaria. Os pré-tratamentos consistem em deixar a celulose e hemicelulose mais expostas, removendo a lignina. Os processos da conversão da biomassa podem ser feitos através de microrganismos como bactérias ou fungos que secretam enzimas que conseguem agir na biomassa. O pré-tratamento auxilia deixando a celulose e a hemicelulose mais acessíveis as enzimas (KATAYAMA, 2021).

3.3 Fermentação em estado sólido (FES)

A tecnologia de fermentação em estado sólido (FES) abre portas para novas oportunidades no ramo agroindustrial, por permitir o uso de subprodutos do setor como substrato para a fermentação, sem a necessidade de pré-tratamentos extensos, levando à produção de alta concentração de biocompostos de alto valor agregado, como enzimas (CASCIATORI et al., 2016). A fermentação em estado sólido (FES) pode ser definida como um tipo de cultivo ou bioprocessamento fermentativo realizado em uma matriz sólida, cuja característica é a ausência ou quase ausência de água livre (DE FRAGA, 2018). Cabe salientar que esse processo pode ser aeróbio ou anaeróbio, considerando que a palavra fermentação pode ser entendida como a transformação de compostos orgânicos por microrganismos na presença ou ausência de oxigênio (BERENJAN; MAHDINIA, 2021).

A seleção de um substrato apropriado é um fator chave para o sucesso da FES. Além de ter composição adequada para induzir a formação do bioproduto desejado, o tamanho de partícula também deve ser considerado. Pequenas partículas oferecem uma maior superfície de contato e uma maior acessibilidade aos nutrientes; entretanto, dependendo do nível de umidade e do tipo de substrato, pode ocorrer compactação do material, dificultando a aeração do meio e a transferência de calor, o que limita o crescimento de microrganismos. Por outro lado, grandes

partículas facilitam a aeração, porém podem dificultar o acesso dos microrganismos, limitando a superfície de contato e dificultando a transferência de calor (MARTINS et al., 2011).

O substrato deve ter umidade suficiente para o desenvolvimento microbiano e formação do produto de interesse. Inúmeros produtos de origem microbiana podem ser obtidos a partir da FES. As enzimas representam amplamente esses produtos, entre elas estão as amilases, proteases, xilanases, celulasas e pectinases (SILVA; ANDRADE., 2016). Outros parâmetros também influenciam na eficiência dos processos fermentativos, como umidade inicial do substrato, pH, temperatura de incubação, quantidade de inóculo, suplementação do meio com nutrientes, extração e purificação do produto final (PANDEY, 2003).

3.3.1 Microrganismos utilizados na FES

Dentre os microrganismos produtores de celulasas e hemicelulasas por FES encontrados na literatura, algumas linhagens do fungo termófilo *Myceliophthora sp.* têm apresentado resultados promissores, como levantado recentemente por Henrique (2022).

Os fungos filamentosos são organismos ideais para sistemas de FES devido à sua capacidade de crescimento e produção de enzimas extracelulares em altas concentrações em ambientes com umidade suficiente apenas para manutenção do crescimento e metabolismo do microrganismo (ausência de água livre) (FARINAS, 2015) e também devido à sua versatilidade de aplicação (BALASUBRAMANIAM et al., 2001; DEL BIANCHI et al., 2001), uma vez que são capazes de crescer em grãos, resíduos agroindustriais ou frutas.

Zanelato et al. (2012) avaliaram a produção de endoglucanase pela linhagem de *Myceliophthora thermophila* I-1D3b usando uma mistura de farelo de trigo (FT) e bagaço de cana (BC) como meio de cultura cultivados em sacos plásticos e biorreator de leito empacotado. Neste trabalho foram avaliadas as condições de temperatura (40, 45, e 50°C), umidade inicial (75, 80, e 85% em base úmida, b.u.), e a proporção de BC:FT (1:1, 7:3, e 9:1). As maiores atividades enzimáticas em sacos plásticos para endoglucanase foram obtidas utilizando BC:FT 7:3 (m/m), temperatura de 45°C e umidade de 75%. Casciotori (2015) testou a ampliação de escala do biorreator usando essas mesmas condições, tendo também obtido bons resultados de atividades enzimáticas.

Mais tarde, Perez, Casciotori e Thoméo (2021) avaliaram a produção de enzimas neste mesmo equipamento alterando as condições de aeração e porosidade do meio; nas melhores condições, obtiveram resultados máximos de 210 U.g.s.s.⁻¹ para CMCcase. Esse valor é baixo se comparado aos reportados por autores que trabalharam com o mesmo fungo anteriormente a

2018, mas essa queda foi uma tendência observada por todos os grupos que têm trabalhado com esse organismo, o que foi atribuído a alguma possível variação biológica intrínseca às diferentes épocas de replicação do fungo.

Um dos maiores desafios para se utilizar a FES em escala industrial é que esta produz grande quantidade de calor, que é proporcional às atividades metabólicas do microrganismo. Parte da dificuldade da remoção deste calor é que os substratos sólidos utilizados neste tipo de fermentação têm baixa condutividade térmica, podendo acarretar o acúmulo de energia interna no sistema e conseqüentemente interferir no crescimento do microrganismo. Além disso, a alta temperatura pode desnaturar o produto de interesse. Também há falta de informações sobre a modelagem de equações cinéticas relacionadas a microrganismos em fermentação em estado sólido (PANDEY, 2003).

3.4 Biorreatores para FES

Os estudos sobre FES em laboratório são geralmente realizados em frascos Erlenmeyer, garrafas Roux, béqueres, embalagens plásticas e colunas de Raimbault. Contudo, considerando a ampliação de escala de bioprocessos de FES, tornam-se necessários biorreatores apropriados para condução do processo, os quais devem sustentar a estrutura do substrato, proteger o sistema contra possíveis contaminações e proporcionar condições adequadas de temperatura, composição gasosa e atividade de água para o desenvolvimento microbiano e síntese do bioproduto de interesse (MITCHELL et al., 2006).

Basicamente, os biorreatores para FES podem ser divididos entre os de leito fixo e os de leito móvel, como apresentado na Figura 3.2. O tambor rotativo é a configuração que melhor representa os biorreatores de leito móvel, o qual pode ser movimentado girando-se a parede, na qual estão instalados defletores que elevam as partículas (Figura 3.2 (a)) ou girando-se um eixo interno dotado de pás (Figura 3.2 (b)). Devido à agitação, esses equipamentos permitem boa uniformidade de temperatura e umidade (RODRIGUES, 2021).

Segundo o trabalho de Dhillon et al. (2013), mistura contínua em tambor rotativo de FES resultou na redução de 34 % na produção de ácido cítrico por *Aspergillus niger* a partir de bagaço de maçã. Os autores reportam que a rotação intermitente foi mais favorável. Cassaro et al. (2015) também relataram prejuízos na produção de endoglucanase, glucosidase e xilanase em decorrência da agitação durante a o cultivo de *A. niger* tendo farelo de trigo como substrato. Grajales (2014) estudou a tolerância ao atrito do fungo *Myceliophthora thermophila* I-1D3b, microrganismo empregado no presente trabalho. A autora comparou o cultivo em embalagens

plásticas estáticas e com agitação intermitente, tendo reportado que a agitação reduziu a atividade de endoglucanase obtida em biorreator rotativo.

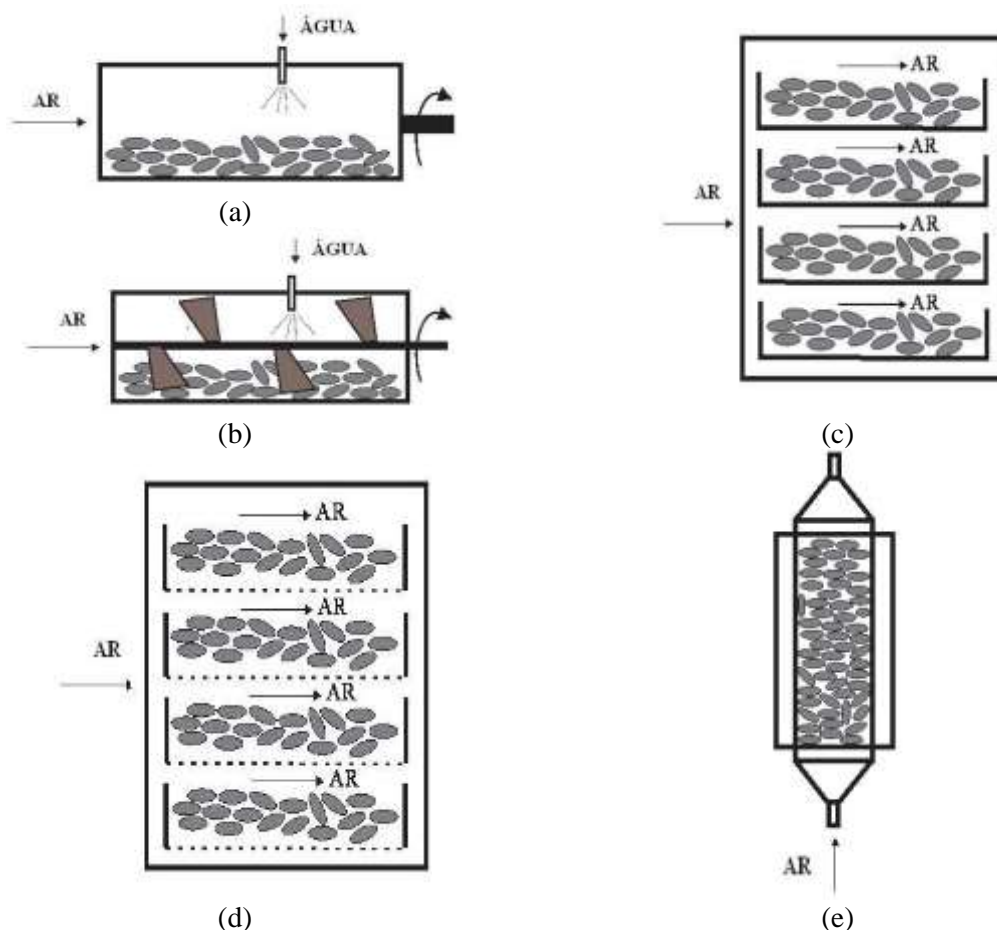


Figura 3.2. Biorreatores mais comuns para FES: a) Tambor de parede rotativa; b) Tambor de pás rotativas; c) Bandeja de fundo cego; d) Bandeja de fundo perfurado; e) Leito empacotado.

Fonte: Extraído e adaptado de Casciotori e Thoméo (2015).

Sendo assim, a aplicação de biorreatores de tambor rotativo é limitada a microrganismos que não são sensíveis ao atrito. Além disso, em razão do elevado custo e requisitos de manutenção, estes equipamentos são usados somente em processos para os quais o valor agregado do produto justifica o investimento (MITCHELL et al., 2006).

Neste contexto, os biorreatores de leitos fixos são os mais comumente aplicados na FES, pois possuem projeto simples, custo reduzido, baixas exigências de manutenção e evitam danos aos microrganismos devido à ausência de agitação. Os biorreatores de leito fixo ainda podem ser subdivididos entre os de bandeja e os de leito empacotado. Os biorreatores de bandeja podem possuir fundo cego (Figura 3.2 (c)) ou fundo perfurado (Figura 3.2 (d)). As bandejas são

colocadas em câmaras com controle de temperatura e umidade relativa. Esses equipamentos são tradicionalmente usados em países asiáticos na produção de alguns alimentos fermentados, como missô e molho de soja. Todavia, ainda que se trate de um sistema simples, possui alto custo operacional em razão da necessidade de elevadas áreas e mão-de-obra. Além disso, camadas espessas nos biorreatores de bandeja podem provocar a elevação da temperatura, a qual é de difícil controle nesse tipo de equipamento, assim como a umidade (ARORA et al., 2018). Vaseghi et al. (2013) aplicaram a FES de bagaço de cana por *Rhizopus oryzae* em biorreator de bandeja e relataram que a atividade da lipase diminuiu com o aumento da altura do substrato de 0,5 a 3,0 cm devido ao acúmulo de calor.

O biorreator de leite empacotado (BLE), que tradicionalmente consiste em uma coluna de seção transversal cilíndrica encamisada de fundo perfurado para permitir a percolação de ar forçado (Figura 3.1 (e)), é o tipo mais comumente empregado em FES. Além de geralmente ser um equipamento de menor custo, a chance de contaminação nesse biorreator é menor em relação ao de bandeja, dado que sua estrutura é fechada (SOCCOL et al., 2017). Contudo, essa classe de biorreator também pode apresentar gradientes de temperatura, umidade e composição gasosa.

Normalmente, resíduos agroindustriais possuem condutividades térmicas baixas, o que, associado às pequenas vazões de escoamento de ar empregadas no BLE, torna as condutividades térmicas efetivas estática e dinâmica reduzidas, dificultando a remoção do calor gerado (CASCIATORI et al., 2013; CASCIATORI et al., 2018). As baixas vazões de escoamento de ar são necessárias para não ressecar o meio de cultivo. Salgado et al. (2015) e Dilipkumar et al. (2014) observaram o ressecamento do leite do BLE e a ocorrência de estresse aos microrganismos ao aumentar a taxa de fluxo de ar, conseqüentemente houve a diminuição da produção de celulasas e inulinases, respectivamente.

Dessa maneira, gradientes axiais de temperatura são praticamente inevitáveis. Em níveis extremos, o acúmulo de calor pode causar a desnaturação enzimática e prejudicar o crescimento microbiano e a produção de metabólitos (MITCHELL et al., 2010; FIGUEROA-MONTERO et al., 2011). Diversos autores avaliaram o efeito da temperatura para diferentes microrganismos cultivados em meio sólido na produção de lignocelulasas e confirmaram sua influência nos rendimentos enzimáticos (JABASINGH; NACHIYAR, 2011; MAHMOOD et al., 2013; PIROTA et al., 2013; SALOMÃO et al., 2019).

Inevitavelmente, o aumento da temperatura provoca a redução da umidade da matriz sólida em decorrência do não-equilíbrio termodinâmico entre o ar e o substrato. Ainda que o ar

percolante esteja saturado ao entrar no leito do biorreator, o aumento da temperatura pode fazer com que o ar passe a ficar abaixo da saturação, adquirindo potencial para remover água do substrato sólido, o que pode reduzir a taxa de crescimento microbiano e a formação dos produtos desejados (ZANELATO et al., 2012; CASCIATORI et al., 2016). Os problemas reportados ainda se acentuam no aumento de escala, uma vez que não há critérios fixos de ampliação.

Contudo, devido à possibilidade da presença da camisa no BLE e da aeração forçada por todo o leito, esses problemas são mais facilmente controlados em comparação aos reatores de bandeja. Além disso, trata-se de um equipamento que ocupa uma menor área, possui menor consumo de energia e permite o emprego de camadas mais espessas de substrato em relação aos biorreatores de bandeja (MITCHELL et al., 2006).

O potencial de aplicação do BLE para produção de enzimas hidrolíticas por FES já foi demonstrado em estudos prévios por diversos autores, como Umsza-Guez (2009), Zanelato et al. (2012), Ignácio (2013), Casciatori et al. (2016) e Perez et al. (2019). Contudo, esses equipamentos são raramente operados em grande escala, devido principalmente à remoção deficiente do calor metabólico gerado. Dessa forma, estudos de transferência de calor nestes sistemas se fazem necessários.

3.5 Transferência de calor em leitos empacotados não reacionais

Dentre os mecanismos que podem estar envolvidos na transferência de calor em leitos empacotados, tem-se: condução de calor através das partículas sólidas; condução de calor através de fluido estagnado em contato com as partículas; convecção entre partícula e fluido; dispersão térmica na fase fluida; condução de calor entre parede e partículas; convecção entre parede e fluido. Para a avaliação térmica de leitos recheados com partículas fixas percoladas por ar, há dois tipos de modelação que podem ser feitas: a modelação de duas fases e a de uma fase, sendo esta última também chamada de pseudo-homogênea. No primeiro caso, a dificuldade na obtenção experimental das temperaturas da fase sólida e a da interface sólido-partícula torna a aplicação deste modelo bastante complexa. O segundo considera que em um elemento de volume representativo do meio pseudo-homogêneo as temperaturas das duas fases são iguais, de modo que os coeficientes térmicos podem ser obtidos a partir da medição da temperatura de apenas uma das fases (THOMÉO, 1990). Na prática, considera-se que os mecanismos de propagação térmica podem atuar simultaneamente e interagir entre si, sendo

representados conjuntamente por parâmetros efetivos de transferência de calor (LAURENTINO, 2007).

Na literatura sobre leitos empacotados, o modelo pseudo-homogêneo bidimensional é o mais empregado para representar fisicamente os fenômenos de transferência de quantidade de movimento, calor e massa. Para tanto, faz-se necessário o conhecimento da cinética de geração de calor metabólico no sistema e das propriedades térmicas de transporte e estruturais do meio poroso. Estas últimas podem ser obtidas em sistemas irreaçionais, com a mesma composição da matriz porosa empregadas no processo fermentativo (LAURENTINO, 2007).

Um dos primeiros estudos da transferência de calor em leitos fixos cilíndricos com escoamento monofásico foi realizado por Colburn (1931), que mediu apenas as temperaturas médias radiais de entrada e de saída do fluido percolante, de modo a determinar o coeficiente global de troca térmica (U), definido por:

$$\frac{R}{2} G C_p \frac{d T_{avg}}{d z} = U (T_{avg} - T_p) \quad (3.1)$$

onde R é o raio do leito cilíndrico; G é a vazão mássica superficial de fluido; Cp é o calor específico do fluido percolante; Tavg é a variável temperatura média radial; z é a variável posição axial e Tp é a temperatura da parede do leito, considerada constante.

A condição de contorno usualmente empregada para resolver a equação (3.1) é:

$$\text{Em } z = 0, T = T_0 \text{ (plano)} \quad (3.1a)$$

A solução da equação (3.1), mediante a condição de contorno (3.1a), é dada por:

$$\ln \left(\frac{T_{avg} - T_p}{T_0 - T_p} \right) = \frac{2 U}{R G C_p} z \quad (3.2)$$

Essa formulação do modelo é unidimensional, pois contempla apenas os perfis axiais de temperatura ao longo do leito, sendo particularmente útil quando os perfis radiais de temperatura são praticamente planos. A equação (3.2) tem aplicação prática quando se quer avaliar o aporte total de calor adicionado ou subtraído do leito, o que se consegue por meio do coeficiente global U (CASCIATORI, 2011).

Pelo fato de o modelo de única fase unidimensional prever somente variações axiais de temperatura, sua aplicação fica restrita a leito de pequenos diâmetros, onde se cumpre a hipótese de variações radiais de temperatura desprezíveis (PEREIRA, 2021). No entanto, para leitos curtos, as temperaturas médias calculadas a partir dessa formulação se distanciam consideravelmente das temperaturas medidas, uma vez que os perfis radiais de temperatura são pronunciados (COBERLY; MARSHALL, 1951).

Para tais casos, foi proposta a formulação bidimensional do balanço de energia ou equação da energia completa, que proporciona um mapeamento térmico mais detalhado (CASCIATORI, 2011). Para leitos cilíndricos, esta formulação é dada por:

$$\rho V_z C_p \frac{\partial T}{\partial z} = K_r \left(\frac{1}{r} \frac{\partial T}{\partial r} + \frac{\partial^2 T}{\partial r^2} \right) + K_a \left(\frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) \quad (3.3)$$

onde ρ é a densidade do gás e V_z sua componente axial da velocidade superficial; r é a variável posição radial; T é a variável temperatura; K_r e K_a são as condutividades térmicas efetivas radial e axial, respectivamente.

Na equação (3.3), estão implícitas as restrições de regime permanente e simetria cilíndrica do perfil radial de temperatura. Embora esta equação seja uma forma mais abrangente de representar o problema, a derivada segunda de T em função de z decresce muito rapidamente com o aumento da altura do leito, de modo que o termo de dispersão axial como um todo passa a ser desprezível frente ao termo de dispersão radial, de modo que usualmente se despreza a dispersão axial de calor. Desta forma, elimina-se o parâmetro K_a , que é de difícil estimativa em virtude dessa diferença de ordem de magnitude das dispersões térmicas radial e axial, de modo que se obtém a equação da energia simplificada, para a qual se adotam as seguintes condições de contorno:

$$\text{Para } r = 0, \quad \frac{\partial T}{\partial r} = 0 \quad (3.3a)$$

$$\text{Para } r = R, \quad -K_r \frac{\partial T}{\partial r} = h_p (T_p - T_R) \quad (3.3b)$$

$$\text{Para } z = 0, \quad T = T_0 \quad (3.3c)$$

onde h_p é o coeficiente convectivo de transferência de calor parede-fluido; T_R é a temperatura na posição radial $r = R$ (interface matriz porosa/parede da célula); e T_0 é a temperatura do ar percolante na posição axial $z = 0$ (entrada do leito).

A integração da equação da energia simplificada com as condições de contorno mencionadas deu origem ao modelo de dois parâmetros (K_r e h_p) tradicional (COBERLY; MARSHALL, 1951), cuja solução analítica é dada por:

$$\frac{T_p - T}{T_p - T_0} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2 Ni J_0(\gamma_n r/R)}{[Ni^2 + \lambda_n^2] J_0(\gamma_n)} \exp\left[-\frac{K_r \gamma_n^2}{G C_p R^2} z\right] \quad (3.4)$$

onde $Ni = (h_p R / K_r)$ é o número de Biot modificado; J_0 é a função de Bessel de 1ª espécie e ordem 0; e γ_n são os auto-valores característicos que satisfazem a seguinte equação transcendental, onde J_1 é a função de Bessel de 1ª espécie e ordem 1:

$$Ni J_0(\gamma_n) - \gamma_n J_1(\gamma_n) = 0 \quad (3.5)$$

De Wash e Froment (1972), Dixon (1985), Thoméo (1995) e Smirnov e colaboradores (2003) utilizaram a equação (3.4) para determinar os valores de K_r e h_p aplicando o método dos mínimos quadrados não-lineares pelo algoritmo de Levenberg-Marquard, que utiliza um fator de amortecimento para avaliar uma aproximação linear para os componentes de uma função nas proximidades de um ponto. Os autores observaram uma variação do coeficiente K_r com a altura do meio poroso, uma vez que K_r parte de altos valores na entrada do leito e decai assintoticamente para um valor constante com o aumento do comprimento. Smirnov e colaboradores (2003) propuseram um modelo com uma variação linear de K_r nas vizinhanças da parede para leitos empacotados de esferas, cilindros e anéis de Rashig, o qual consistia numa correlação simples entre o número de Nusselt (Nu) na parede e K_r no centro do leito, tendo obtido resultados satisfatórios e condizentes com a literatura. Já para o coeficiente h_p , o comportamento em função do comprimento do leito é menos definido, uma vez que, embora o mesmo também parta de altos valores na entrada do leito, seu decaimento é irregular. De um modo geral, foi encontrada, na literatura, uma dependência linear de ambos os parâmetros em relação à vazão de fluido (CASCIATORI, 2011).

Ressalta-se, portanto, a importância de se trabalhar com diferentes alturas de leito e vazões de fluido percolante na estimativa dos parâmetros térmicos efetivos do meio poroso pelo

modelo de dois parâmetros, de forma que se possa observar o comportamento dos valores de K_r e h_p em função de tais variáveis. Além disso, Sklivaniotis e colaboradores (1988) fizeram um estudo de sensibilidade paramétrica com o modelo adotado, onde concluíram que K_r depende dos valores de temperatura obtidos na região central para uma boa estimativa, enquanto que h_p depende de pontos na região da parede. Tais resultados auxiliam em avaliar se a aplicação do modelo é viável para determinação dos parâmetros térmicos efetivos de um determinado leito fixo percolado por um gás (CASCIATORI, 2011).

3.6 Transferência de calor em biorreatores de FES em leito empacotado

Na literatura sobre FES em leitos fixos empacotados percolados por ar, o modelo pseudo-homogêneo bidimensional tem sido o mais empregado para representar fisicamente os fenômenos de transferência de calor, uma vez que o sistema é muito semelhante aos reatores catalíticos empacotados e percolados por um fluido. Entretanto, é sabido que os experimentos de transferência de calor conduzidos com materiais orgânicos englobam, além dos demais mecanismos de transporte de calor por condução e convecção, a ocorrência de calor latente de vaporização e a geração de calor metabólico pelo microrganismo no interior do leito empacotado (CASCIATORI, 2011).

Sangsurasak e Mitchell (1995) propuseram um modelo descrevendo a transferência de calor bidimensional em um biorreator de leito empacotado com geometria cilíndrica para processos de FES, capaz de descrever uma larga faixa de geometrias e condições operacionais, melhorando o modelo anteriormente proposto por Saucedo-Castaneda e colaboradores (1990), que negligenciava a transferência de calor axial, o qual foi apropriado somente para colunas cilíndricas de pequeno diâmetro operando a baixas taxas de aeração.

Mais adiante, Sangsurasak e Mitchell (1998) melhoraram o seu modelo, que já incluía um termo descrevendo a geração de calor metabólico, por meio do acréscimo de um termo descrevendo a evaporação de água da matriz porosa, que contribui significativamente para a remoção de calor no biorreator. Com isso, Sangsurasak e Mitchell (1998) apresentaram o modelo dado na equação (3.6) para modelagem da transferência de calor num processo de FES em leito fixo:

$$\rho_b C_{pb} \left(\frac{\partial T}{\partial t} \right) + \rho_a (C_{pa} + f\lambda) V_z \left(\frac{\partial T}{\partial z} \right) = \left[\frac{K_b}{r} \left(\frac{\partial T}{\partial r} \right) + K_b \left(\frac{\partial^2 T}{\partial r^2} \right) \right] + K_b \left(\frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) + \rho_s (1 - \varepsilon) Y \frac{\partial X}{\partial t} \quad (3.6)$$

onde C_{pb} é o calor específico efetivo do leito e ρ_b sua densidade; C_{pa} é o calor específico do ar úmido percolante e ρ_a sua densidade; V_z é a velocidade superficial do gás (ar úmido); t é a variável tempo; f expressa o conteúdo de vapor d'água no ar por unidade de temperatura; λ é o calor latente de vaporização da água; K_b é a condutividade térmica efetiva do leito; ρ_s é a densidade do substrato sólido; ε é a porosidade do leito; z é a variável posição axial; r é a variável posição radial; Y é o coeficiente de rendimento de energia gerada por unidade de biomassa produzida; e X é a concentração de biomassa microbiana no leito.

Nota-se pela equação (3.6) que o equacionamento dos fenômenos térmicos em reatores de FES em leito fixo torna-se complexo, dificultando a inclusão de todas as contribuições de geração e remoção de calor no interior dos biorreatores. Como o leito de substrato foi tratado como uma matriz pseudo-homogênea, os valores para densidade, condutividade térmica e calor específico do leito foram calculados por meio da média ponderada das propriedades do ar percolante e do substrato dentro do leito, utilizando-se da porosidade como peso de ponderação, por representar a fração de ar, ou fração de vazios, no interior do meio poroso. Além disso, as propriedades físicas e térmicas do leito são assumidas como independentes da temperatura (CASCIATORI, 2011).

As condições de contorno normalmente adotadas para solução da equação (3.6) correspondem às seguintes situações físicas: temperatura no fundo do leito constante e igual à temperatura de entrada do ar; ausência de resfriamento externo no topo do leito; simetria cilíndrica; e resfriamento convectivo nas laterais pelas paredes do leito. A resistência das paredes do bioreator à troca de calor foi desprezada pelos autores (SANGSURASAK; MITCHELL, 1998). As equações (3.6a) a (3.6d), respectivamente, representam matematicamente as condições de contorno descritas e adotadas para solução da equação (3.6):

$$\text{Para } z = 0, \quad T = T_0 \quad (3.6a)$$

$$\text{Para } z = L, \quad \frac{\partial T}{\partial z} = 0 \quad (3.6b)$$

$$\text{Para } r = 0, \quad \frac{\partial T}{\partial r} = 0 \quad (3.6c)$$

$$\text{Para } r = R, \quad -K_b \frac{\partial T}{\partial r} = h_p (T_p - T_R) \quad (3.6d)$$

Nas equações de balanço dos fenômenos térmicos nos reatores de FES, é comum considerar-se que a taxa de calor gerado pelo metabolismo microbiano durante o processo fermentativo seja diretamente proporcional à produção de nova biomassa, sendo ignorada a

geração de calor devido à manutenção do metabolismo do agente biológico (SANGSURASAK; MITCHELL, 1998), conforme se encontra representado no último termo da equação (3.6). Por esse motivo, encontram-se também na literatura diversos estudos de modelagem da cinética de crescimento dos microrganismos empregados em FES, informação esta que é utilizada para avaliar a geração de calor metabólico pelo microrganismo durante a fermentação, que corresponde ao aporte de calor que deve ser removido do sistema para evitar superaquecimento do meio.

A cinética de crescimento dos microrganismos em FES tem sido comumente expressa como uma cinética de primeira ordem ou, preferencialmente, como uma equação logística, que é um modelo não-estruturado empírico e baseado em observações experimentais, no qual é possível descrever as diferentes sensibilidades dos microrganismos em função da temperatura. Apesar da simplicidade matemática, a equação logística pode representar uma aproximação adequada da curva de crescimento completa em uma única equação, incluindo as fases lag, de crescimento exponencial e estacionária (FANAEI; VAZIRI, 2009), sendo representada por:

$$\frac{d X}{d t} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m} \right) \quad (3.7)$$

onde X é a concentração de biomassa microbiana no substrato e X_m seu valor máximo; e μ é a taxa de crescimento específico, expressa empiricamente como uma função da temperatura, de acordo com a seguinte expressão:

$$\mu = \left(\frac{s + (T_{m\acute{a}x} - T_{opt})}{T_{m\acute{a}x} - T_{opt}} \right) \left(\frac{\mu_{opt} (T_{m\acute{a}x} - T)}{s + (T_{m\acute{a}x} - T)} \right) \quad (3.7a)$$

onde s é uma constante que representa a sensibilidade da taxa de crescimento específico a aumentos da temperatura; $T_{m\acute{a}x}$ é a temperatura máxima de crescimento do microrganismo; T_{opt} é a temperatura ótima de crescimento; e μ_{opt} é a taxa ótima de crescimento específico do microrganismo. A condição inicial adotada para solução da equação (3.7) é de que em $t = 0$, $X = X_0$ (concentração de biomassa no início do processo).

Diante do exposto, considerando apenas os fenômenos de transferência de calor no sistema, nota-se que os modelos matemáticos propostos para FES consistem de uma equação descrevendo a cinética de crescimento do agente de fermentação e outra equação descrevendo

o balanço de energia térmica sobre cada posição no interior do biorreator de leito empacotado, de forma que seja possível prever o comportamento térmico do bioreator durante todo o processo por meio de simulações numéricas (CASCIATORI, 2011). Sangsurasak e Mitchell (1998) ainda sugerem a incorporação de um balanço de água ao seu modelo, de modo que este passe a ser capaz também de prever os efeitos de segregação de umidade e de remoção de calor latente de vaporização das matrizes porosas.

Tendo em vista que a cultura de *Aspergillus niger* tem a capacidade de produzir nada menos do que 19 tipos diferentes de enzimas, dependendo da indução e/ou do substrato utilizado, boa parte dos dados experimentais encontrados na literatura referem-se a essa cultura, o que tem facilitado os estudos de modelagem e simulação de processos fermentativos com este microrganismo (CASCIATORI, 2011).

Saucedo-Castaneda e colaboradores (1990) estudaram o crescimento de *Aspergillus niger* em farinha de mandioca, fonte amilácea, em um bioreator de leito empacotado cilíndrico, aerado a partir do fundo com ar úmido e com uma camisa de água removendo calor por convecção através da sua parede externa. A altura da coluna era de 35 cm e o raio era de 3 cm, tendo sido realizadas medidas de temperaturas em quatro diferentes posições radiais e uma posição axial.

Sangsurasak e Mitchell (1998) verificaram o modelo proposto na equação (3.6) – que equaciona a transferência de calor radial e axial, a geração de calor metabólico e a remoção de calor por evaporação de água da matriz porosa – com relação aos dados experimentais de Saucedo-Castaneda e colaboradores (1990), e obtiveram boa concordância entre os perfis de temperatura preditos pelo modelo e os referidos dados experimentais. O modelo bidimensional proposto descreveu temperaturas mais altas durante as fases de aquecimento e resfriamento, mas predisse altura e tempo do pico de temperatura próximos dos experimentais. Além disso, o modelo previu um aquecimento mais rápido do substrato durante um período de latência mais curto, observado dentro das primeiras 10 horas de processo, quando comparado aos dados experimentais de Saucedo-Castaneda e colaboradores (1990), com a discrepância sendo maior próximo ao eixo central da coluna. Durante este período de latência, a produção de calor metabólico foi desprezível, o que se nota pela lenta elevação de temperatura neste período inicial do processo.

No trabalho de Saucedo-Castaneda e colaboradores (1990), a coluna estreita e a baixa velocidade superficial de ar levaram à dominância da transferência de calor radial no processo. O modelo permitiu analisar a contribuição dos vários mecanismos de transferência de calor

envolvidos na remoção de calor do interior do leito. Esta análise mostrou que, até mesmo quando ar saturado e com baixa velocidade de escoamento é usado para aerar o leito empacotado, devido ao aumento da temperatura conforme o ar atravessa o leito, a evaporação ainda tem contribuições muito significativas para a remoção de calor (CASCIATORI, 2011).

Ghildyal e colaboradores (1994) estudaram o crescimento de *A. niger* em farelo de trigo úmido em uma coluna de aço inoxidável percolada por ar saturado e resfriada pela parede. A altura da coluna era de 34,5 cm e o raio era de 7,5 cm, tendo sido feitas medidas de temperatura em somente uma posição radial e uma posição axial. Assim, Ghildyal e colaboradores (1994) mediram perfis temporais de temperatura no centro do leito, utilizando três níveis de vazão de fluido percolante no biorreator.

Sangsurasak e Mitchell (1998) verificaram também o modelo proposto na equação (3.6) – englobando transferência de calor radial e axial, geração de calor metabólico e remoção de calor por evaporação – com relação aos dados experimentais de Ghildyal e colaboradores (1994). O modelo bidimensional predisse com boa precisão e exatidão a magnitude e os instantes dos picos de temperatura para as três diferentes taxas de escoamento de ar utilizadas experimentalmente. A boa concordância com os resultados experimentais sobre uma larga faixa de velocidades superficiais sugeriu que o modelo proposto descreveu razoavelmente bem as contribuições do resfriamento convectivo e evaporativo, uma vez que esses são os mecanismos de remoção de calor que são mais diretamente afetados pela velocidade superficial de escoamento do fluido através da matriz porosa que recheia o leito (CASCIATORI, 2011).

Fanaei e Vaziri (2009) também estudaram a modelagem e simulação dos fenômenos térmicos em bioreatores de FES empregando os dados de Ghildyal e colaboradores (1994). Como Ghildyal e colaboradores (1994) reportaram os perfis de temperatura somente em altura de 17 cm de leito, este foi também o valor usado como a altura do biorreator nas simulações, a fim de possibilitar avaliação dos modelos de predição com os dados experimentais disponíveis. Neste trabalho, os autores utilizaram-se de um programa escrito em linguagem MatLab para simular o fenômeno.

Para modelar as variações de temperatura no leito, esses autores utilizaram dois modelos de balanço energético muito semelhantes ao modelo de Sangsurasak e Mitchell (1998), expresso na equação (3.6), porém assumiram que as variações radiais de temperatura eram desprezíveis por conta de o escoamento de ar através do leito ser considerado por esses autores como aproximadamente plano, de forma que eliminaram o primeiro e o segundo termos à direita da equação (3.6). Esses modelos também contemplavam as expressões para a geração de calor

metabólico e para a remoção de calor evaporativa e convectiva; entretanto, somente um dos modelos, denominado distribuído (3.8a), considerava também o elemento diferencial da condução axial de calor, enquanto o modelo de parâmetros concentrados (3.8b) trabalhava apenas com a variação de temperatura entre a entrada e a saída do leito.

$$\rho_b C_{pb} \left(\frac{\partial T}{\partial t} \right) = \rho_s (1 - \varepsilon) Y \frac{\partial X}{\partial t} - \rho_a C_{pa} V_z \left(\frac{\partial T}{\partial z} \right) - \rho_a f \lambda V_z \left(\frac{\partial T}{\partial z} \right) + K_b \left(\frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) \quad (3.8a)$$

$$\rho_b C_{pb} \left(\frac{\partial T}{\partial t} \right) = \rho_s (1 - \varepsilon) Y \frac{\partial X}{\partial t} + \rho_a C_{pa} \frac{V_z}{L} (T_a - T) + \rho_a f \lambda \frac{V_z}{L} (T_a - T) \quad (3.8b)$$

onde C_{pb} é o calor específico efetivo do leito e ρ_b sua densidade; C_{pa} é o calor específico do ar úmido percolante e ρ_a sua densidade; t é a variável tempo; f expressa o conteúdo de vapor d'água no ar por unidade de temperatura; λ é o calor latente de vaporização da água; K_b é a condutividade térmica efetiva do leito; ρ_s é a densidade do substrato sólido; ε é a porosidade do leito; Y é o coeficiente de rendimento de energia gerada por unidade de biomassa produzida; T_a é a temperatura de entrada do ar no leito; z é a variável posição axial; L é o comprimento do leito; e X é a concentração de biomassa microbiana no leito.

Destaque especial foi dado no trabalho realizado por Fanaei e Vaziri (2009) à expressão para a taxa de geração de calor metabólico pelo microrganismo durante o processo fermentativo, a qual foi obtida por meio de uma modificação dos modelos cinéticos comumente empregados para o crescimento microbiano em biorreatores de FES. Na maioria dos estudos anteriores, a taxa de crescimento tinha sido expressa somente como uma função da temperatura atual, por meio da taxa de crescimento específico do microrganismo, como visto na equação (3.7a). Entretanto, sabe-se que a taxa de crescimento microbiano é função também da variação de temperatura sofrida pelo organismo no decorrer de todo o processo. No modelo proposto, Fanaei e Vaziri (2009) consideraram que a taxa de crescimento depende da temperatura atual do biorreator e do binômio tempo-temperatura a que o organismo previamente foi submetido ao longo do processo fermentativo, ou seja, do histórico de temperaturas do sistema. Para expressar tais efeitos, esses autores empregaram o modelo logístico da equação (3.7) modificada, a saber:

$$\frac{d X}{d t} = \mu \Phi X \left(1 - \frac{X}{X_m} \right) \quad (3.9)$$

onde Φ representa o nível de um fator fisiológico, que consiste em um valor adimensional relacionado ao estado fisiológico do organismo.

De acordo com os autores, tal fator indica o nível de um componente essencial da biomassa que desempenha uma importante função no mecanismo de crescimento do agente biológico, representando o efeito do regime de temperatura no crescimento do microrganismo, por meio das mudanças do nível desse componente essencial da biomassa. Como pode ser visto naquele artigo, a desnaturação térmica associada a esse fator ao longo do tempo de processo foi expressa em função das taxas das reações de síntese e desnaturação deste fator, as quais dependem da temperatura no leito. A taxa de crescimento específico, por sua vez, é expressa empiricamente como uma função da temperatura.

Os resultados de simulação de Fanaei e Vaziri (2009) mostraram que as predições do modelo distribuído apresentaram boa concordância com os dados experimentais, sendo capaz de fornecer predições detalhadas sobre a temperatura em qualquer tempo e posição dentro do leito. Levando em consideração que o modelo distribuído proposto por estes autores contemplava os mecanismos de transferência de calor envolvidos no biorreator, com aproximações e considerações aceitáveis, pôde-se concluir que os gradientes de temperatura puderam ser satisfatoriamente preditos por este modelo.

Laurentino (2007) e Umsza Guez (2009) realizaram conjuntamente experimentos de fermentação sólida em bioreator de leito fixo empregando o fungo termofílico *Thermomucor indiciae-seudaticae* N31 como agente fermentador e um meio composto por bagaços de cana e de laranja e farelo de trigo na proporção de 1:2:2 (peso), com umidade de 70% (b.u.), e ar percolante com umidade relativa de 95%. O referido microrganismo é termo-resistente e é grande produtor de enzimas pectinolíticas. Apesar do curto tempo de fermentação, 24 h, estes autores observaram que houve segregação de umidade no leito, com conseqüente gradiente de produção de enzimas. Os resultados experimentais de Laurentino (2007) e Umsza Guez (2009) mostraram que as temperaturas ao longo do leito atingiram um pico em torno de 48°C, mantendo-se constantes nesta faixa nas primeiras 24 h de processo e decaindo após esse período. De acordo com os autores, a fase lag durou cerca de 10 h, período no qual a geração de calor metabólico pelo microrganismo não foi muito intensa. Quanto à condição ótima de temperatura para crescimento e produção da enzima de interesse, Laurentino (2007) e Umsza

Guez (2009) concluíram que a temperatura de 45°C foi considerada ótima na escala de reator piloto, uma vez que foi a condição térmica que propiciou maior produção de pectinase.

Os autores notaram que, qualitativamente, os perfis foram similares para as diferentes condições operacionais empregadas, enquanto os picos de temperatura foram entre 1,3 e 2,9°C acima da temperatura média do processo. Foram registrados dois picos de temperatura, sendo que o primeiro se iniciou a partir de aproximadamente 3 h de fermentação, estendendo-se até cerca de 8 h. Após este pico, a temperatura ficou constante por curto período, para posteriormente formar outro pico progressivamente, após o que a temperatura de pico se manteve até o final das 24 h de fermentação.

Casciotori (2015) e Casciotori et al. (2016) desenvolveram um modelo bidimensional de duas fases para a transferência de calor e de umidade em biorreatores de leite empacotado para FES, similar ao que havia sido proposto por Von Meien e Mitchell (2002). Tais modelos englobaram ainda a cinética de crescimento do microrganismo e o efeito das variáveis de processo sobre o crescimento microbiano, previamente determinadas por meio de ensaios fermentativos. Para a simulação, foram utilizadas propriedades físicas reais das partículas e do leite, assim como os coeficientes de interface foram calculados com base em correlações clássicas. O modelo de Casciotori et al. (2016) foi posteriormente empregado por diversos pesquisadores (Buck et al., 2015; Perez et al., 2019; Henrique, 2022), sendo amplamente dependente de validação experimental, para o que os resultados do presente trabalho podem agregar relevante contribuição.

3.7 Números adimensionais modificados para apoio à análise de transferência de calor em leitos empacotados para FES

Dado o elevado número de variáveis envolvidas no processo de transferência de calor em leitos empacotados, é comum agrupar as variáveis sob a forma de números adimensionais. Um dos principais números adimensionais característicos de um processo de transferência de calor por convecção forçada é o número de Nusselt (Nu), classicamente definido por:

$$\text{Nu} = h \cdot D/k \tag{3.10}$$

onde h é o coeficiente convectivo de transferência de calor, k é a condutividade térmica do fluido e D é uma dimensão característica da superfície sujeita a convecção.

O número de Nusselt representa o aumento da transferência de calor como resultado do movimento do fluido (convecção) relativamente à transferência de calor apenas ao nível molecular (condução). Neste trabalho, para os ensaios em leito empacotado sem reação, foi definido o número de Nusselt modificado, no qual substituiu-se o coeficiente h por h_p (coeficiente convectivo de transferência de calor parede-fluido), k por K_r (condutividade térmica efetiva radial do leito) e o diâmetro de partícula, de 0,177 mm (CASCIATORI; THOMÉO, 2018), foi adotado como sendo a dimensão característica do sistema particulado. A definição desse número visou facilitar a comparação dos mecanismos predominantes, frente às diferentes condições experimentais de troca térmica estabelecidas.

Para casos com ocorrência de cultivo, Mitchell et al. (1999) propuseram um critério de ampliação de escala de biorreatores de leito empacotado para FES baseado no número adimensional de Damköhler modificado pelos autores, relacionando a máxima capacidade de acúmulo e geração de calor à máxima capacidade de remoção de calor do sistema, tendo como foco prevenir elevações indesejáveis de temperatura no leito. Classicamente, os números de Damköhler são números adimensionais usados na engenharia química para relacionar a escala de tempo da reação química com a taxa de fenômenos de transporte que ocorrem em um sistema. Neste adimensional modificado em específico, o numerador (Q_x) é a taxa volumétrica máxima da produção de calor durante o crescimento fúngico, enquanto o denominador (Q_R) descreve a taxa volumétrica máxima de remoção de calor pelo ar por convecção axial e por evaporação de água entre a entrada e a saída do leito. Assumindo um modelo logístico de cinética de crescimento e desconsiderando os efeitos de manutenção do metabolismo, a máxima taxa de geração de calor ocorre quando a concentração de biomassa atinge metade do seu valor máximo ($X = 0,5 X_m$). Substituindo dX/dt pela equação logística no termo de geração de calor na equação (3.6) e substituindo $X = 0,5 X_m$, obtém-se:

$$Q_x = 0,25\rho_a(1 - \varepsilon)Y\mu_{opt}X_m \quad (3.11a)$$

Para o cálculo do denominador, assume-se que o ar está sempre saturado, motivo pelo qual o fator $f\lambda$ é inserido na equação, uma vez que a evaporação da água para manter o ar saturado conduz a um aumento na capacidade calorífica aparente (SANGSURASAK; MITCHELL, 1995):

$$Q_R = \rho_a(C_{pa} + f\lambda)v_z(T_{out} - T_{in})/H \quad (3.11b)$$

As unidades de Q_X e Q_R são J/m^3s^{-1} , de forma que a razão entre elas fornece, portanto, um número adimensional, definido como o número de Damköhler modificado (Da_m):

$$Da_m = \frac{0,25\rho_s(1-\varepsilon)Y\mu_{opt}X_m}{\rho_a(C_{pa}+f\lambda)v_z(T_{out}-T_{in})/H} \quad (3.11c)$$

onde ρ_s é a densidade do substrato; ε é a porosidade do leito; Y é o coeficiente de rendimento metabólico; μ_{opt} é a taxa de crescimento específico na temperatura ótima; X_m é a máxima concentração de biomassa; ρ_a é a densidade do ar úmido; C_{pa} é o calor específico do ar úmido; f é a taxa com que a capacidade de transporte de água varia com a temperatura do ar; λ é a entalpia de vaporização da água; v_z é a velocidade superficial de percolação de ar; T_{out} é a temperatura do ar de saída; T_{in} é a temperatura do ar de entrada; H é a altura total do leito.

Os valores dos parâmetros da equação 3.11c podem ser facilmente determinados. Tabelas de propriedades físicas podem ser utilizadas para definir ρ_a , C_{pa} , f e λ . Os parâmetros dependentes do substrato, ρ_s e ε , e os parâmetros cinéticos de crescimento, X_m e μ_{opt} , podem ser determinados experimentalmente, ou extraídos da literatura. Valores obtidos na literatura também podem ser utilizados para o coeficiente de rendimento de calor metabólico (Y). Logo, empregando Da_m , o projeto do biorreator fornece H e as variáveis T_{out} , T_{in} e v_z podem ser estabelecidas, ou vice-versa (PEREZ, 2020). Valores de Da_m iguais a 1 indicam equilíbrio entre as máximas taxas volumétricas de produção e remoção de calor do leito, ao passo que valores maiores do que 1 indicam tendência a sobreaquecimento, o que é indesejável, assim como valores menores do que 1 indicam tendência a sub-resfriamento, também indesejável em bioprocessos de FES. Assim, deve-se buscar manter Da_m em torno de 1.

3.8 Considerações finais

As perspectivas do ramo da ciência que trata dos processos de FES são de crescimento potencial de trabalhos acerca de transferência de calor em biorreatores de leito empacotado. Os estudos devem ser realizados tanto em termos de obtenção de dados experimentais quanto em termos de modelagem e simulação das cinéticas de crescimento dos microrganismos e dos fenômenos térmicos e gradientes de temperatura no interior dos leitos, na tentativa de auxiliar na otimização dos processos e possibilitar as aplicações desses processos em escala industrial. Ademais, diversas são as combinações possíveis de agentes biológicos e resíduos sólidos

agroindustriais usados como substratos na matriz porosa, sabendo-se que extensa gama de microrganismos é capaz de se adaptar a processos de FES e desta forma produzir diferentes tipos de bioprodutos de alto valor agregado e de interesse tecnológico, científico e industrial a partir de diferentes substratos e sob distintas condições operacionais (CASCIATORI, 2011).

Neste sentido, estudos para obtenção de dados e parâmetros experimentais e estudos de modelagem e simulação de processos tornam-se necessários para diferentes microrganismos e diferentes substratos empregados em biorreatores de FES em leito empacotado. Além disso, deve-se manter em vista a necessidade de solucionar, ou ao menos minimizar, os dois principais inconvenientes deste processo, que são o possível superaquecimento no interior do leito e a segregação de umidade na matriz porosa percolada por ar (CASCIATORI, 2011).

Diante do quadro apresentado, o presente trabalho encontra-se justificado em termos de sua relevância, uma vez que novos métodos de análise de perfis térmicos, novo modo de operação e novas formas de estimar o crescimento foram desenvolvidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental e computacional deste trabalho foi desenvolvida no Laboratório de Fermentação do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos. Neste capítulo, são apresentados os materiais utilizados na condução dos experimentos, como microrganismos e resíduos agroindustriais, além de instrumentos e equipamentos, bem como a metodologia empregada em cada etapa experimental. Na Figura 4.1, é apresentado um esquema geral, na forma de fluxograma, das atividades realizadas.

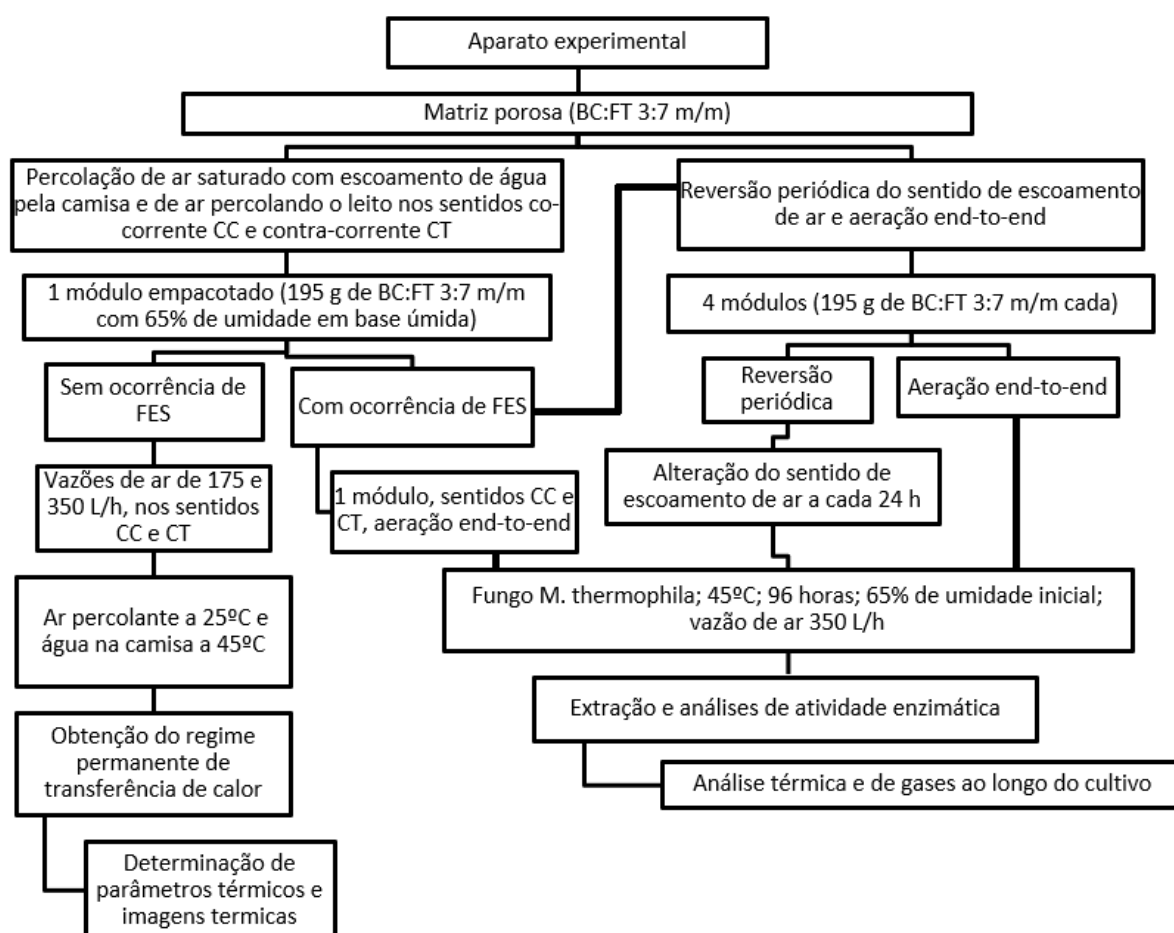


Figura 4.1. Fluxograma ilustrativo das etapas do trabalho. Fonte: Autoria própria.

4.1 Microrganismo para os ensaios com cultivo

Para os ensaios com cultivo, foi empregado como agente biológico o fungo termofílico *Myceliophthora thermophila* I-1D3b, que foi isolado pela Prof^a. Dr^a. Daniela Alonso Bocchini da UNESP/Araraquara a partir de pilhas de bagaço de cana-de-açúcar da Usina Guarani, de Olímpia-SP, Estado de São Paulo, Brasil e já foi utilizado pelo Grupo de Bioenergia e Meio

Ambiente (ZANELATO et al., 2012; CASCIATORI, 2015; PEREZ; CASCIATORI; THOMÉO, 2019). Este fungo já se caracterizou como produtor de celulasas e hemicelulasas de altos títulos, as quais foram utilizadas com sucesso para a despolimerização de materiais lignocelulósicos em escalas de frascos e de biorreator de leito empacotado de bancada (Henrique, 2022).

A solução estoque do fungo foi mantida em tubos criogênicos com glicerol a 20% na temperatura de -80°C . Para utilização, a cultura foi repicada em frascos de Erlenmeyer contendo 60 mL de meio Agar-Sabouraud-Dextrose e 1% de carboximetilcelulose (CMC). Esses frascos foram mantidos em câmara DBO por pelo menos 4 dias a 45°C para crescimento dos esporos, que foram suspensos em 100 mL de solução nutriente (ver composição no item 4.2) por raspagem da superfície com auxílio de alça de platina, como pode ser observado na Figura 4.2.

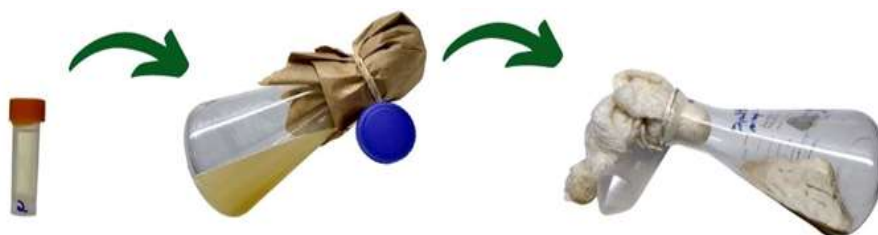


Figura 4.2. Esquema de preparo do inóculo a partir dos criotubos.

Fonte: Arquivo pessoal.

Posteriormente, foi realizada a padronização da suspensão de esporos para que fosse inoculada a concentração de 10^7 esporos por grama de substrato sólido seco inicial (gss), a partir da contagem de esporos em câmara de Neubauer, por meio da Equação 4.1.

$$V_{\text{Inóculo}} = m_s \times C_{\text{Esporos}} \times F \times V_{\text{cam}} \times M^{-1} \quad (4.1)$$

onde $V_{\text{Inóculo}}$ representa o volume da suspensão de esporos do inóculo a ser adicionado (mL); m_s é a massa do substrato usado no cultivo (g); C_{Esporos} é a concentração de esporos desejada (esporos.g $^{-1}$); F é o fator de diluição da suspensão para leitura na câmara de Neubauer; V_{cam} é o volume total da câmara (mL); e M é a média da contagem dos quadrantes da câmara (número de esporos).

4.2 Solução nutriente para os ensaios com cultivo

Para os ensaios com cultivo, a umidificação dos substratos foi realizada pela adição de uma solução nutriente que continha a seguinte composição: (m/v): 0,35 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,3 % de KH_2PO_4 ; 0,05 % de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,05 % de CaCl_2 ; e 0,1 % de Tween 20 (densidade $1,1 \text{ g/cm}^3$) (ZANELATO et al., 2012). A composição foi baseada no suprimento de minerais necessários ao bom crescimento do fungo. Essa mesma solução foi usada para suspender os esporos para obtenção do inóculo. Após a dissolução dos sais, o pH da solução foi ajustado em 5,0 e esta foi esterilizada em autoclave a 121°C por 20 minutos.

4.3 Matriz sólida porosa úmida

Para composição da matriz sólida porosa, foram empregados bagaço de cana-de-açúcar (BC) e farelo de trigo (FT). O BC foi doado pela Usina Santa Cruz do Grupo São Martinho (Américo Brasiliense – SP), enquanto o FT foi adquirido no comércio local (Agropecuária Claro, São Carlos – SP). Ambos os materiais foram acondicionados em sacos de polietileno de parede espessa e mantidos em câmara de refrigeração até utilização.

O BC bruto foi inicialmente seco em estufa a 60°C até massa constante, para não sofrer deterioração. Posteriormente, foi peneirado para uniformização do tamanho das fibras, passando primeiramente por uma peneira com abertura de $5 \times 5 \text{ mm}$, que reteve fibras mais grossas, denominadas como bagaço grosso (BG) e, em seguida, por uma peneira com abertura de $4 \times 2 \text{ mm}$, para retenção das fibras mais finas, denominadas como bagaço fermentativo (BF), separando-as do pó.

A matriz porosa para ensaios sem e com cultivo (FES) foi composta por uma mistura de BC:FT 3:7 com teor de umidade inicial 65% (em base úmida). Para os ensaios com cultivo, a umidificação dos substratos foi realizada pela adição de solução nutriente (item 4.2). Para os ensaios sem cultivo, a matriz sólida foi umidificada com água destilada. A quantidade de água ou de solução adicionada foi ajustada de acordo com a máxima absorção de líquido pelo substrato composto. Os valores exatos da quantidade de água adicionada à matriz sólida foram obtidos por meio da Equação 4.2.

$$m_{\text{Solução}} = \frac{m_s(x_1 - x_2)}{(100 - x_2)} \quad (4.2)$$

onde $m_{\text{Solução}}$ é a massa de solução a ser adicionada (g); m_s é a massa do substrato (g); x_1 é a umidade inicial do substrato (% m/m); e x_2 é a umidade final desejada do substrato (% m/m).

Para os ensaios com cultivo, o substrato foi autoclavado a 121°C por 20 minutos, em paralelo com a solução nutriente. Posteriormente, dentro de uma câmara de fluxo laminar previamente esterilizada, o substrato foi inoculado com a suspensão fúngica, adotando-se um número fixo de esporos por grama de material seco, e umidificado com a mesma solução nutriente empregada na raspagem de esporos, após o que foi homogeneizado.

4.4 Ensaios em leito empacotado

4.4.1 Sem reação ou sem cultivo

O sistema de suporte ao leito empacotado foi o mesmo empregado por Oliveira et al. (2020) e Rodrigues (2021), mostrado na Figura 4.3. Ar foi fornecido por compressor e filtrado para retirada de impurezas grosseiras, que passou por válvula de agulha, medidor de vazão de modelo AppliTech® (Asa, Itália) e na sequência por um filtro biológico, após o que foi umidificado em coluna encamisada e recheada com esferas de vidro cheia de água destilada. Por fim, o ar seguia para o leito, percolava a matriz porosa e saía pelo topo, sendo finalmente liberado para a atmosfera.

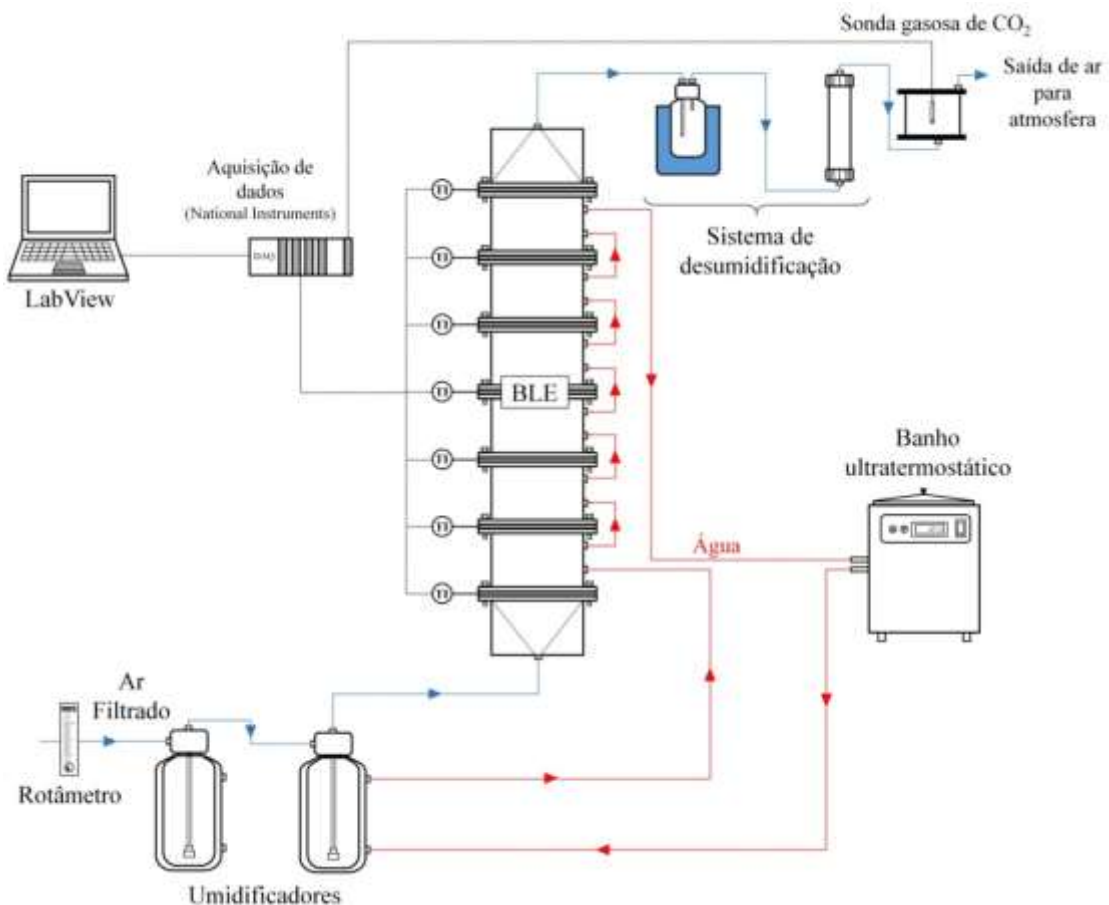


Figura 4.3. Sistema de suporte ao leito empacotado. Extraído de Rodrigues (2021).

A coluna foi orientada verticalmente e operada com um módulo empacotado com a matriz sólida, além dos módulos de entrada e saída, com interior cônico. O empacotamento de todos os módulos foi realizado segundo a técnica loose packing (LP) de Casciatori et al. (2014), o que significa que os substratos foram acomodados sem provocar compressão do leito.

O equipamento utilizado constituiu-se de módulos construídos em aço inoxidável, com dimensões 12,3 cm de diâmetro interno e 11 cm de comprimento, totalizando cerca de 1,35 L de volume por módulo. Os módulos têm parede dupla, sendo o espaço anular feito de camisa para circulação de água. Maiores detalhes do desenho dos módulos e de sua disposição na constituição da coluna podem ser vistos na Figura 4.4.

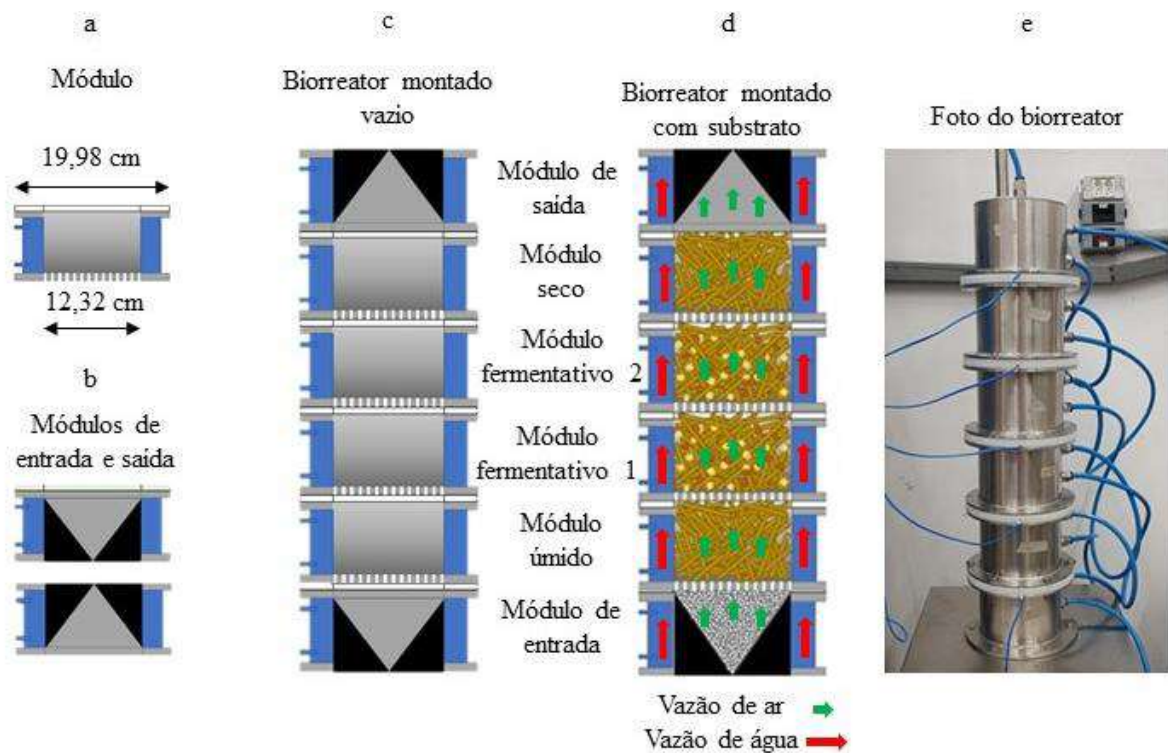


Figura 4.4. Esquema representativo do biorreator de leito empacotado em multicamadas e suas partes com (a) módulo fermentativo, (b) módulos de entrada e saída, (c) biorreator montado sem substrato, (d) biorreator montado com substrato e (e) foto do biorreator.

Extraído de: Katayama (2021).

O módulo de entrada foi preenchido com esferas de vidro para estabelecimento do perfil de escoamento do ar, que percolou o leito no sentido ascendente (end-to-end). O módulo de saída permaneceu vazio. Foram realizados ensaios sem cultivo em duplicata, empregando-se vazões de ar saturado de 175 e 350 L/h, com escoamentos de água pela camisa em

contracorrente (CT) e co-corrente (CC) com o ar que percolava o leito. Nos ensaios com configuração CT, ar saturado a 25°C percolou o leito no sentido ascendente e água a 45°C circulou pela camisa no sentido descendente, enquanto em CC os dois fluidos escoaram no sentido ascendente nessas mesmas temperaturas. Os testes foram conduzidos até a obtenção do regime permanente de transferência de calor, admitido quando observadas leituras constantes dos termopares com intervalo de 1 h.

A temperatura na entrada da seção térmica (T_0) foi medida por um termopar inserido radialmente na saída do módulo de entrada, correspondendo à posição $z = 0$ da seção térmica. A temperatura da água de aquecimento foi mantida por banho termostático a 45°C. Pelo fato de a superfície da célula ser metálica e de a vazão de água ser elevada, assumiu-se que a temperatura da parede foi mantida constante.

Termopares foram instalados ao longo da direção axial do leito, sendo inseridos radialmente através de flanges de acoplamento entre os módulos que compuseram a coluna, permitindo acompanhar a temperatura ao longo dos experimentos. Os sinais foram registrados por sistema de aquisição de dados da *National Instruments* COMPAQ-DAQ, gerenciado por rotina do *software Labview* (National Instruments, Austin, USA).

4.4.2 Com reação ou cultivo (FES)

As faixas escolhidas de tempo e temperatura foram realizadas considerando os resultados de Zanelato et al. (2012). Onde a temperatura ideal de produção de celulasas por *M. thermophila* I-1D3b é de 45°C, com tempo de cultivo de 96 h. A temperatura da água da camisa e de saturação do ar foi de 45°C e a vazão do ar percolante foi 350 L/h. Em cada módulo fermentativo, foram colocados 195 g de BC:FT 3:7.

A umidificação do material com solução nutriente e a inoculação deste com a suspensão de esporos foi feita no próprio saco plástico, seguida de mistura manual, após o que o material foi empacotado no módulo segundo a técnica de empacotamento LP descrita por Casciadori et al. (2014). A esterilização dos módulos previamente aos cultivos foi feita em autoclave a 121°C por 20 minutos. Da mesma forma, foi esterilizado o substrato, acondicionado em sacos plásticos já contendo quantidade suficiente para empacotamento de um módulo.

O aparato experimental empregado nos ensaios com cultivo foi o mesmo já apresentado na Figura 4.1. Neste caso, ao sair do leito, o ar passou por sistema de desumidificação, no qual a água condensada era coletada e, em seguida, passava por coluna de sílica, baixando a umidade relativa do ar para no máximo 15%, possibilitando assim a leitura da concentração de CO₂ na

corrente gasosa de saída por sonda (Carbocap Vaisala). Nesses ensaios, os escoamentos do ar percolante e da água pela camisa também foram avaliados em CC e CT, conforme já descrito para os ensaios sem cultivo.

Ao final do tempo de cultivo, o material fermentado foi removido do módulo e destinado à extração, visando à recuperação das enzimas celulolíticas produzidas. Tendo em vista a importância das enzimas celulolíticas para o desenvolvimento da tecnologia de produção de etanol de segunda geração, estas constituem os produtos biotecnológicos de interesse do presente trabalho (Perez, 2020). Para tanto, foi feita adição de água destilada ao meio fermentado (10 mL por grama de substrato sólido seco inicial). O material fermentado foi coletado numa embalagem plástica para realização da extração sólido-líquido, com auxílio de leve agitação e mistura do fermentado em contato com a água. Em seguida, o líquido foi separado do sólido por filtração e seguiu para centrifugação a frio (10000 rpm, 15 min, 5 °C). O sobrenadante foi utilizado como extrato bruto para análises de atividade enzimática.

4.4.3 FES com reversão periódica do sentido de percolação de ar

A proposta do sistema de reversão do sentido do fluxo de ar foi influenciar os perfis de temperatura e umidade ao longo do comprimento do reator, com base no trabalho desenvolvido por Buck et al. (2015), que teve por objetivo desenvolver um esquema de controle tipo retroalimentação que permitisse influenciar e equalizar as distribuições de umidade e temperatura ao longo do comprimento de um BLE durante um processo de FES.

O aparato experimental empregado nos ensaios de cultivo com reversão periódica do sentido de percolação de ar foi o mesmo já apresentado na Figura 4.1. O experimento seguiu a metodologia descrita no item 4.4.2, onde se utilizou o fungo *Myceliophthora thermophila* I-1D3b a 45°C, com tempo de cultivo de 96 h. Em cada módulo fermentativo, tinha-se 195 g de BC:FT 3:7 com teor de umidade inicial 65% (em base úmida). A temperatura da água da camisa foi 45°C, assim como a de saturação do ar, e a vazão do ar percolante foi de 350 L/h.

Nesses ensaios, não houve a necessidade de se avaliar o efeito do sentido de escoamento do ar percolante e da água pela camisa. A água foi circulada continuamente no sentido de baixo para cima, enquanto somente o sentido de escoamento do ar percolante foi variado no sistema com reversão. Foram realizados ensaios em duplicata, com a proposta de reversão periódica do sentido de escoamento de ar e com o sistema de cultivo “convencional”, descrito no item acima e com aeração end-to-end ao longo de todo o tempo de processo.

No sistema com reversão, a coluna também foi orientada verticalmente, mas agora foi operada com 4 módulos empacotados com a matriz sólida, além dos módulos de entrada e saída (esses com interior cônico recheados com esferas de vidro). Assumiu-se a direção de fluxo inicial do ar percolante da base ao topo da coluna (ascendente) até 24 h do início do experimento; após esse tempo, o sentido da percolação foi alterado do topo para a base (descendente), como apresentado no esquema da Figura 4.5. A partir de 48 h de cultivo, reverteu-se o sentido da corrente na direção inicial com posterior troca até o fim da fermentação. Essa comutação foi controlada manualmente a partir da inserção da mangueira do ar percolante nos módulos de entrada e saída. Esperava-se, com esta estratégia, produzir um movimento forçado do ponto quente de cada extremidade para o meio do biorreator (BUCK et al., 2015). Ao final do tempo do processo fermentativo, o material fermentado foi removido do módulo e destinado à extração, como descrito no item 4.4.2.

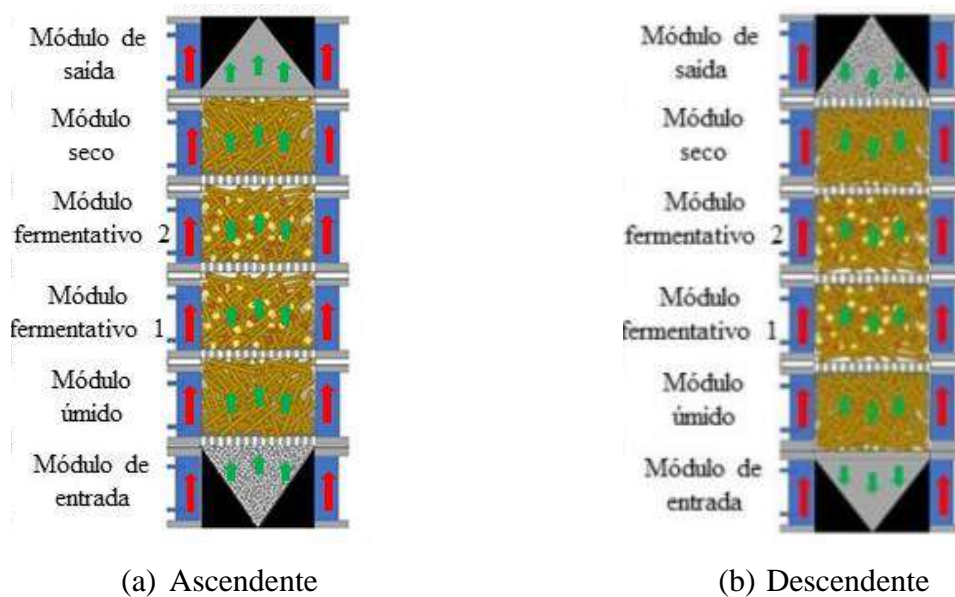


Figura 4.5. Esquema do sentido de percolação do fluxo de ar (a) ascendente, 0 a 24 h e 48 a 72 h; (b) descendente, 24 a 48 h e 72 a 96 h. Extraído e adaptado de Katayama (2021).

4.5 Técnicas de medição de temperatura

No sistema FES foi aferida a temperatura empregando um conjunto de termopares localizados acima da camada superior de partículas, com os sensores localizados em diferentes posições radiais. O conjunto de medição de temperatura continha 5 termopares tipo T com revestimento de 1,5 mm de diâmetro externo e 45 mm de comprimento (Figura 4.6). Esses

termopares, localizados em 5 posições radiais adimensionais ($r/R = 0; 0,27; 0,56; 0,79$ e $0,92$), foram fixados por uma placa circular de poliamida.

Os sinais de todos os sensores térmicos foram coletados por um sistema de aquisição de dados (Compaq DAQ, National Instruments, EUA) e enviados para um computador para serem processados pelo *software* LabView 8.5 (National Instruments, EUA). As variáveis resposta foram as temperaturas em cada posição radial e a temperatura média radial na saída do leito (T_{avg}), obtida por integração numérica do perfil radial experimental por meio da regra de Simpson e/ou do trapézio.

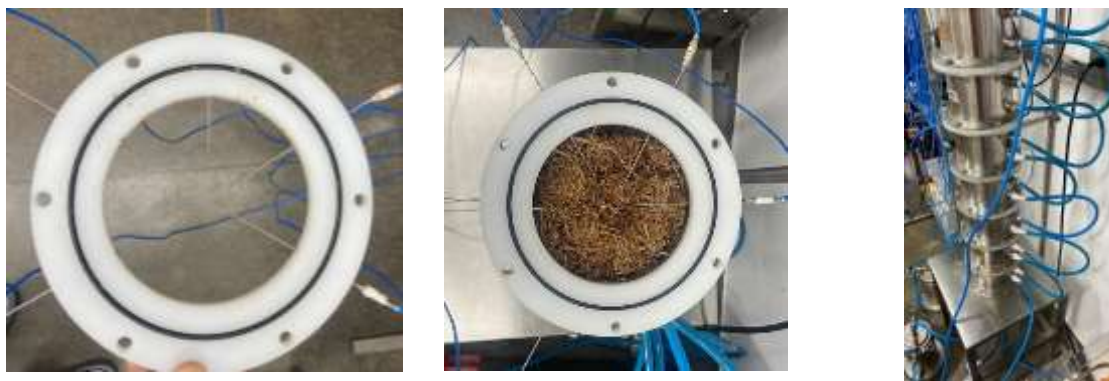


Figura 4.6. Suporte para os termopares. Fonte: Acervo pessoal.

Utilizando um termovisor (Figura 4.7) de 4800 pixels infravermelho pontual modelo FG165, Flir Systems Inc., EUA), também se buscou identificar as frentes de transporte de calor nos sistemas sem e com cultivo. As imagens de infravermelho foram registradas e analisadas com base na escala de cores (*hot iron*) associada à radiação emitida.



Figura 4.7. Termovisor infravermelho pontual.
Fonte: <https://www.flir.com.br/products/tg165-x>

4.6 Determinação de umidade

Ao final de cada cultivo, foi determinada a umidade final dos sólidos fermentados, com auxílio de analisador de umidade por infravermelho (i-thermo G163L, Bel Engineering, Itália), no qual foram colocados 2 g de amostra, que foram secos até 0,1% de umidade a 110°C. A amostragem foi feita de forma randômica, através da retirada de uma pequena porção do material cultivado oriundo de cada módulo do BLE.

4.7 Análise respirométrica nos ensaios com cultivo

A análise respirométrica foi realizada com base nos dados de concentração de CO₂ na corrente de saída de ar do biorreator. A sonda foi mantida no interior de um tubo fechado hermeticamente, impedindo que o ar ambiente alterasse a composição do ar de saída. A aquisição de dados foi feita pelo mesmo sistema utilizado para monitoramento e registro da temperatura. A quantidade cumulativa de CO₂ produzido foi calculada a partir da área sob a curva de concentração de CO₂ versus tempo de cultivo (FAVARO et al., 2020), conforme Equação 4.3:

$$C_i = \frac{F \times CO_2 \times (\Delta t) + CO_{2i-1}}{V_m} \quad (4.3)$$

onde C_i é a concentração de dióxido de carbono acumulado (mol); F é a vazão de ar (L/h); CO_2 é a concentração de dióxido de carbono (% v/v); Δt é o intervalo de tempo (h); e V_m é o volume molar dos gases ideais nas Condições Ambientais de Pressão e Temperatura, igual a 25 L/mol.

À curva de CO₂ acumulado em função do tempo de cultivo, foi ajustado o modelo de crescimento logístico (VICCINI et al., 2001). Apesar da simplicidade matemática, a equação logística pode representar uma aproximação adequada da curva de crescimento completa em uma única equação, incluindo as fases lag, de crescimento exponencial e estacionária (CASCIATORI, 2015), tendo sua forma integrada representada pela Equação 4.5 (condição inicial em $t = 0$, $X = X_0$).

$$X = \frac{X_m}{1 + \left(\frac{X_m}{X_0} - 1\right)e^{-\mu t}} \quad (4.4)$$

onde X_m é a concentração máxima de CO₂ (mol); X_0 é a concentração inicial de CO₂ (mol); μ é a constante específica de produção de CO₂ (h⁻¹); e t é o tempo (h).

Os ajustes foram realizados com auxílio do *software* Microcal Origin® 6.0 (Microcal Software Inc., Northampton, EUA), onde se empregou o algoritmo de Levenberg-Marquardt para a busca dos valores dos parâmetros. A adequação do modelo foi determinada com base no valor do R² (coeficiente de determinação) dos ajustes realizados.

4.8 Determinações analíticas

4.8.1 Atividade enzimática

Foi determinada a atividade de endoglucanase (CMCase) dos extratos enzimáticos brutos obtidos dos cultivos em estado sólido. Para tanto, foi seguida a metodologia de Ghose (1987) com modificações, reagindo-se 0,1 mL de solução enzimática com 0,9 mL de solução de substrato carboximetilcelulose (CMC, Sigma) a 4 % (m/v) em tampão acetato pH 5,0. A reação se deu em banho termostático a 60 °C por 10 minutos, sendo interrompida por adição de 1,0 mL do reagente DNS (ácido-1,3-dinitrosalicílico). Nos tubos controles, o extrato enzimático foi adicionado depois do DNS.

A quantificação de açúcares redutores liberados foi feita segundo Miller (1959). A solução foi mantida em banho de água em ebulição por 10 minutos, após o que foi imediatamente transferida para banho de gelo. Durante a ebulição, o reagente DNS, ao reagir com açúcares redutores presentes no meio, altera sua coloração inicialmente amarela para tons castanhos. A intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de açúcares no meio, e a reação de coloração é interrompida quando as amostras são transferidas para o banho de gelo. Foram adicionados 8,0 mL de água destilada, após o que foi feita leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm.

Uma unidade de atividade enzimática foi definida como sendo a quantidade de enzima necessária para liberar 1,0 µmol de glicose por minuto de reação por mL de enzima. Com base no volume de água utilizado para extração das enzimas, os resultados das atividades enzimáticas foram convertidos para serem expressos em unidades por grama de substrato sólido (U/gss).

4.8.2 Concentração de proteínas solúveis

A determinação da concentração de proteínas solúveis foi feita com base no método de Bradford (1976). Como controle, utilizou-se um tubo Eppendorf contendo 1 mL de reagente de Bradford e 20 µL de água destilada. As amostras de extratos enzimáticos foram preparadas de forma semelhante, misturando-se 20 µL de extrato que reagiram com 1 mL do reagente de

Bradford por 5 minutos a temperatura ambiente. A leitura de absorvância em espectrofotômetro foi feita a 595 nm. Esta análise foi realizada em triplicata por amostra. Com os valores de absorvância da amostra, foi possível calcular a quantidade de proteína (C_P em mg/L) pela Equação 4.5, na qual se multiplica a absorvância Abs por uma constante característica do reagente de Bradford (k_B , em mg/L).

$$C_P = k_B \cdot \text{Abs} \quad (4.5)$$

4.8.3 Atividade específica

A atividade específica foi obtida pela razão entre a atividade enzimática total (CMCase) e a concentração de proteínas solúveis presentes na amostra, conforme a Equação 4.3.

$$A_{\text{Esp}} = \frac{A_{\text{enz}}}{P} \quad (4.6)$$

onde A_{Esp} é a atividade enzimática específica (U/mg); A_{Enz} é a atividade enzimática (U/mL); e P é a concentração de proteína (mg/mL).

4.9 Determinação de parâmetros térmicos

Com base nos perfis térmicos radiais obtidos experimentalmente, foram determinados parâmetros efetivos, empregando modelos da literatura para leitos recheados sem geração de calor. O coeficiente convectivo de troca de calor (h_p) e a condutividade térmica efetiva radial (K_r) foram calculados empregando-se o modelo a dois parâmetros tradicional (Thoméo, 1995), equação (3.4) da Revisão da Literatura. Para tanto, foi utilizado um programa em linguagem FORTRAN, já disponível e cujo código é apresentado no Apêndice A deste trabalho, tendo sido previamente utilizado por Thoméo (1995) e Casciadori e Thoméo (2018) para ajuste do modelo aos dados experimentais, empregando o método dos mínimos quadrados não-linear otimizado através do algoritmo de Marquardt (1963). O Apêndice B mostra o modelo do arquivo de entrada de dados para processamento pelo programa.

Conforme Laurentino (2007), um modelo não-linear é aquele em que qualquer transformação de variáveis é insuficiente para deixá-lo linearizado em relação aos parâmetros. Em geral, a técnica usada para estimar parâmetros desconhecidos em equações lineares ou não-lineares é o método dos mínimos quadrados, representado pela função quadrática residual, calculada como o somatório do quadrado da diferença entre os valores da variável de resposta

fornecidos pelo modelo e os valores experimentais. Para avaliar se um modelo ajusta bem os dados, podem ser analisados coeficiente de regressão (R^2) e resíduos, ou ainda realizar testes de significância dos parâmetros estimados, utilizando-se a estatística t-Student, que compara o valor tabelado ao obtido pela razão entre o valor do parâmetro estimado e o erro padrão desse parâmetro (RATKOWSKY, 1983).

O método de mínimos quadrados apresenta boa aplicação quando as propriedades dos estimadores são conhecidas, como nos modelos lineares. Neste caso, a convergência para o valor mínimo da soma de quadrados é rápida e não depende do valor inicial dos parâmetros estimados. Quando o comportamento de um modelo se torna cada vez mais não-linear, a convergência pode não ocorrer, a superfície de resposta pode ter mais que um mínimo e a convergência para o mínimo global não é garantida. Isto ocorre porque no caso não-linear os estimadores não possuem distribuição normal, média zero e a variância é um estimador viciado da variância populacional. Assim, as propriedades destes estimadores são desconhecidas e podem ser aproximadas às de modelos lineares somente para uma amostra de dados infinita, ou seja, na condição assintótica (RATKOWSKY, 1983).

4.10 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o software Minitab® 16 (Minitab Inc., State College, USA). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e comparações entre médias através do Teste de Tukey, com nível de confiança 95%. Todos os resultados foram representados como média \pm desvio padrão. As figuras gráficas representando o comportamento dos dados foram elaboradas através do software OriginPro 2016 (OriginLab Corp., EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise térmica em leito empacotado sem ocorrência de FES

As Figuras 5.1a a 5.1d apresentam os perfis de temperatura obtidos no ensaio térmico em leito composto por BC:FT 3:7 m/m não inoculado (sem cultivo). A posição de entrada refere-se à altura $z = 0$ do módulo fermentativo, imediatamente na entrada do ar na seção térmica, sendo o termopar localizado em $r/R = 0$ (centro). As posições r/R indicadas estão localizadas na saída da seção térmica ($z = 11$ cm), sendo $r/R = 0$ a posição radial central e $r/R = 0,92$ a mais próxima da parede aquecida. A duplicata de cada ensaio se encontra no Apêndice C deste trabalho.

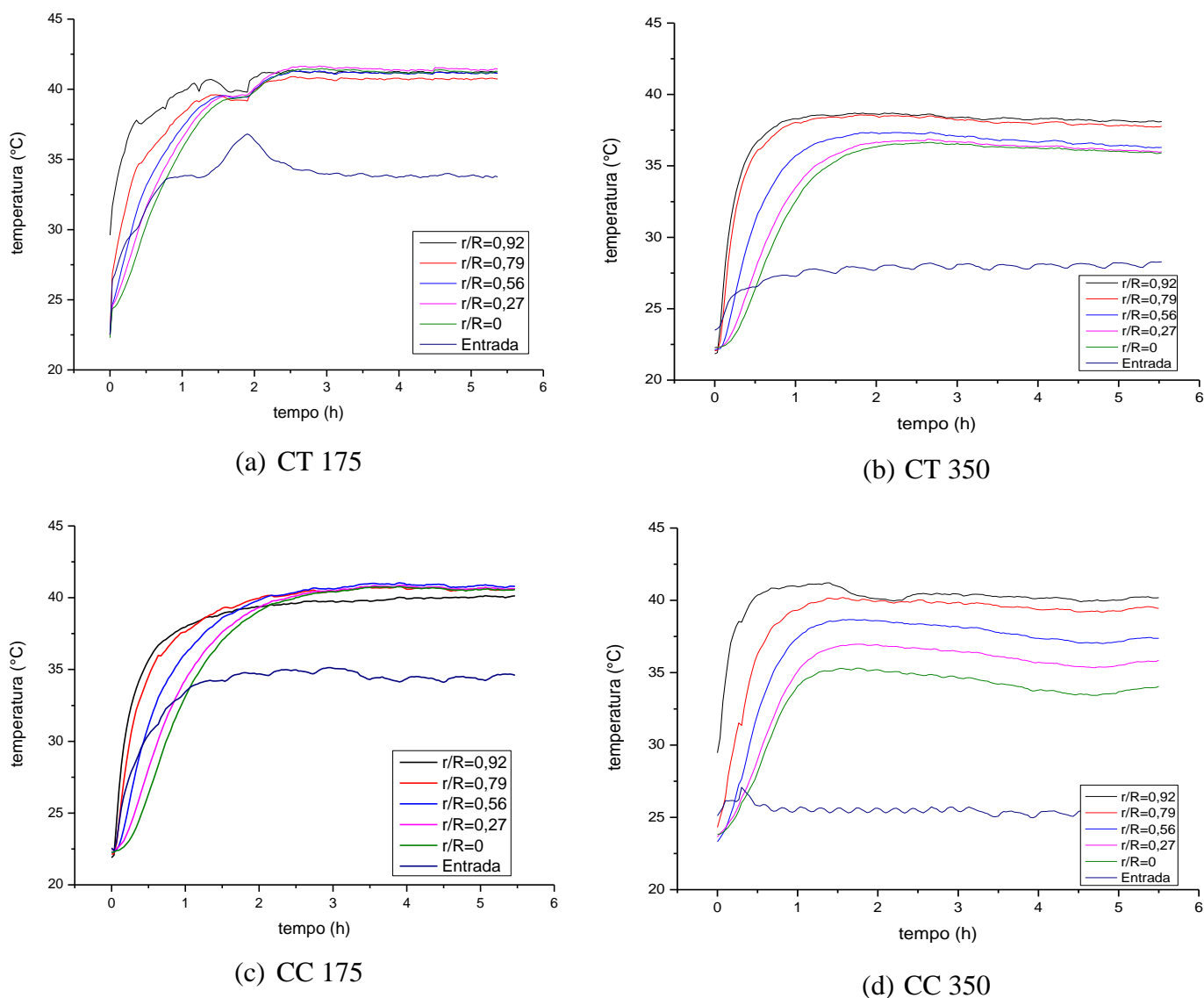


Figura 5.1. Perfis de temperatura dos ensaios sem cultivo: a) CT, 175 L/h; b) CT, 350 L/h; c) CC, 175 L/h; d) CC, 350 L/h. Fonte: Autoria própria.

Os ensaios foram conduzidos até a obtenção do regime permanente de transferência de calor, admitido quando observadas leituras constantes dos termopares com intervalo de 1 h, que duram em média 5 horas para atingir o equilíbrio do sistema. Embora o ar na entrada fosse de 25 °C e tenha passado por uma coluna cheia de água e esferas de vidro houve um aumento da temperatura de entrada em todos os ensaios, em especial com a vazão de 175 l/h em regime contracorrente (CT) e co-corrente (CC). Entretanto, apesar de a temperatura da parede ($r/R=1$) ter sido de 45°C, nenhum dos perfis de temperatura chegaram a valores tão próximos desta, indicando bom resfriamento pela convecção.

Na Tabela 5.1, são apresentados alguns dados destacados dos perfis de temperatura apresentados, onde é possível observar tanto o efeito do sentido das correntes de ar e de água quanto da vazão de percolação. Os valores informados referem-se à média das duplicatas de um mesmo ensaio.

Tabela 5.1. Análise dos perfis térmicos dos ensaios sem cultivo.

Sentido das correntes de ar e água	Vazão de ar (L/h)	T _{camisa} (°C)	T _{ar entrada} (°C)	t até RP (h)	T _{avg radial} (°C)	$\Delta T_{r/R=0 \text{ a } 0,92}$ (°C)
CT	175	45,0	34,15±0,92	3,0±0,01	40,65±0,64	0,3±0,14
CT	350	45,0	28,1±0,99	2,25±0,35	36,7±0,14	3,1±0,42
CC	175	45,0	34,45±0,21	3,25±0,35	40,85±0,49	0,35±0,07
CC	350	45,0	27,6±1,41	2,25±0,35	37,3±0,28	4,85±1,63

RP: regime permanente; T_{avg radial}: temperatura média radial; $\Delta T_{r/R=0 \text{ a } 0,92}$: gradiente de temperatura entre o centro e a posição radial mais próxima da parede.

Nota-se que a temperatura média radial (T_{avg radial}) é maior para os ensaios com vazão 175 L/h, em comparação a 350 L/h, para as duas configurações de escoamento, CT e CC. Tal comportamento era esperado, tendo em vista que, neste sistema, é a percolação de ar que promove o arrefecimento do leito, já que sua temperatura na entrada da seção térmica é menor do que a da camisa. Ao mesmo tempo, se sabe que o aumento da vazão provoca um incremento do coeficiente convectivo de transferência de calor, sendo a convecção um dos principais mecanismos de troca térmica presentes em leitos empacotados percolados por ar. Essa tendência já observada por Casciatori (2018) onde destacou que em geral a T_{avg radial} é mais dependente da vazão de ar do que do comprimento do leito. Entre CC e CT, por sua vez, não se

observa diferença significativa de $T_{\text{avg radial}}$, conforme análise de variância ao nível de 5% de significância.

Similarmente, o gradiente térmico radial ($\Delta T_{r/R=0 \text{ a } 0,92}$) aumenta para a maior vazão de ar, em CT e CC. Essa maior diferença entre as temperaturas no centro do leito ($r/R = 0$) e mais próxima da parede ($r/R = 0,92$) também está associada ao efeito de resfriamento convectivo provocado pelo ar percolante, cujo coeficiente de transferência é diretamente proporcional à vazão do fluido. O tempo para alcance do regime permanente (RP), por sua vez, foi menor para a maior vazão, também tanto em CT quanto em CC, dado que o sistema sujeito à maior vazão estava inicialmente mais perturbado em termos de estabilidade térmica. Comparando os sentidos de escoamento para uma vazão fixa, também não houve efeito significativo sobre as variáveis t_{RP} e $\Delta T_{r/R=0 \text{ a } 0,92}$. Comparando os pares de Figuras 5.1a e 5.1c e 5.1b e 5.1d, nota-se que o perfil radial é mais expressivo para a maior vazão, de 350 L/h, sendo possível observar nitidamente na Figura 5.1d que as temperaturas foram crescentes em direção à parede aquecida.

Na Figura 5.2, são observados os perfis radiais de temperatura nos leitos sujeitos a percolação de ar saturado sob duas vazões e com escoamento de água pela camisa e de ar percolando o leito em CT e CC, após alcance do regime permanente de transferência de calor.

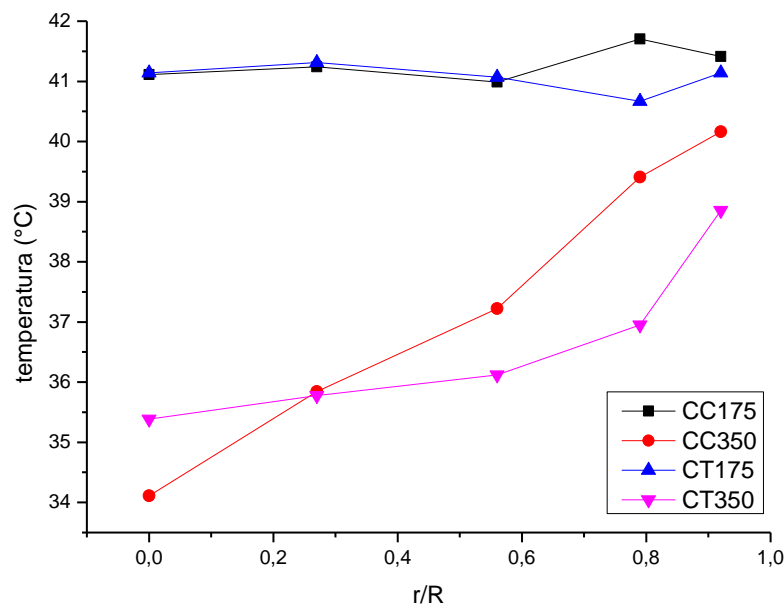


Figura 5.2: Temperatura em função da posição radial no leito fixo percolado por diferentes vazões de ar em sentidos CC e CT com relação ao escoamento de água pela camisa. Fonte:

Autoria própria.

Apesar de, a princípio, os perfis de temperatura parecerem típicos, nota-se que as variações de temperatura foram muito discretas no interior do leito fixo na menor vazão. Para a vazão de 175 L/h, tanto em CT quanto em CC, nota-se que a temperatura permanece praticamente homogênea nas proximidades do centro do leito, sofrendo pouca variação desde o centro até uma distância radial muito próxima da parede do leito ($r/R = 0,92$). Por outro lado, sob a vazão de 350 L/h, observa-se o perfil esperado de temperatura decrescente a partir da parede até o centro do leito, já que foi feito aquecimento pela camisa. Entretanto, nenhum dos perfis de temperatura chegaram a valores próximos de 45°C, o que é um indicativo do forte efeito de resfriamento convectivo na zona de máxima porosidade do leito, que é no contato entre a matriz sólida e a parede cilíndrica. Além disso, observaram-se temperaturas tão maiores quanto menor a vazão de percolação, conforme esperado, novamente considerando que foi feito aquecimento pela parede e resfriamento pela percolação de ar.

A influência da vazão de ar nas temperaturas radiais medidas na saída do leito também foi estudada por Casciatori et al. (2018), utilizando leitos empacotados por bagaço de cana-de-açúcar (BC). Os autores testaram alturas de leito de 60, 120 e 180 mm, enquanto a vazão de ar variou de 400 a 1200 L/h; a temperatura do ar percolante foi 40°C, sendo a parede mantida a 65°C. Os autores constaram que, para leitos de 60 e 120 mm de altura, a temperatura permanecia praticamente constante nas proximidades do centro do leito, sofrendo pouca variação desde o centro até uma distância radial correspondente a mais da metade do raio do leito ($r/R = 0,56$), o que foi particularmente característico das menores vazões de percolação, concordando com as observações do presente trabalho.

Para os três comprimentos de leito (60, 120 e 180 mm), aqueles autores reportaram uma mudança mais brusca da temperatura quando passaram da vazão de 600 para 800 L/h, que assumiram como faixa de transição entre a predominância da contribuição estática para uma equivalência entre as contribuições estática e dinâmica da transferência de calor. Também foi pontuado naquele trabalho que a temperatura na posição radial mais próxima da parede ($r/R = 0,92$) tendia, em média, a valores próximos de 60°C, independentemente da vazão de ar e da altura de leito. Levando em conta que a distância entre o centro do sensor de temperatura mais externo e a parede do leito (assumida como estando a 65°C) era de apenas 1 mm, teve-se um gradiente de temperatura muito expressivo nessa região (5°C/mm), o que também se observou no presente trabalho. Diante disso, assim como no trabalho de Casciatori et al. (2018), é razoável considerar, também neste trabalho, que a condição de contorno convectivo em $r = R$ é

a mais adequada para a representação física do fenômeno e que há uma resistência térmica apreciável entre a parede e a matriz porosa.

Como já comentado, tal fato pode ser atribuído à alta porosidade na região do contato entre a parede e o contorno da matriz composta por resíduos agroindustriais, decorrente de um grau de empacotamento diferente causado pela presença física da parede da célula, conhecido como efeito de parede (ZOTIN, 1985; THOMÉO et al., 2004). O comportamento da porosidade não é propriamente oscilatório amortecido, como observado por vários autores para esferas de vidro (RIDGWAY; TARBUCK, 1968; ZOTIN, 1985; HAMEL; KRUMM, 2008), mas há um decréscimo acentuado para um valor constante a uma distância de apenas meio diâmetro de partícula a partir da parede. Neste pequeno espaço, a porosidade é muito elevada, o que favorece o escoamento preferencial do ar junto à parede, permitindo a formação de camada limite térmica e justificando o contorno de 3ª espécie.

5.1.1 Parâmetros térmicos em leito empacotado sem ocorrência de FES

De acordo com o modelo de duas fases e bidimensional que descreve a transferência de calor e água em um BLE para FES proposto por Casciotori et al. (2016), a camisa tem efeito até determinado diâmetro, de modo que, para diâmetros superiores, a remoção de calor pela camisa torna-se insignificante. O valor do diâmetro em que a camisa passa a não ter influência depende de cada cultivo individualmente. Todavia, o bom controle térmico observado não se deve apenas à ação da camisa, mas sim a um conjunto de fatores, como a utilização de uma cepa termofílica e de uma matriz sólida com alta porosidade (RODRIGUES, 2021). Como já sugerido por Gunn et al (1987), pode ser interessante determinar os coeficientes de transferência de calor especificamente para a vizinhança da parede, separadamente dos parâmetros térmicos efetivos associados à transferência de calor em toda a seção transversal.

Com base nos perfis de temperatura à saída do leito, foram calculados os parâmetros térmicos do modelo tradicional a dois parâmetros, K_r e h_p , cujos valores são apresentados na Tabela 5.2.

À exceção de um dos valores da Tabela 5.2, o qual se encontra destacado em negrito, a tendência é que os dois coeficientes aumentem com o aumento da vazão de ar, como esperado. Resultados semelhantes foram encontrados por Casciotori et al. (2018), que relataram que os valores de K_r e h_p apresentaram tendência de aumento com o aumento da vazão de ar e de diminuição com o aumento da altura do leito.

Tabela 5.2. Parâmetros térmicos do leito de BC:FT 3:7 m/m com 65% de umidade.

Sentido das correntes de ar e água	Vazão de ar (L/h)	h_p (W/m ² K)	K_r (W/mK)	Nusselt modificado ($Nu_m = h_p d_p / K_r$)
CT	175	10,0 (13,2)	0,15 (0,38)	0,0781
CT	350	70,1 (63,5)	4,47 (5,28)	0,4496
CC	175	129,3 (74,4)	1,43 (1,46)	0,5007*
CC	350	120,3 (96,7)	2,68 (2,81)	0,7302

*O valor discrepante de $h_p = 129,3$ W/m²K não foi considerado para o cálculo de Nu_m .

Ao contrário do que foi observado para as temperaturas, a mudança no sentido de escoamento do ar percolante e da água através da camisa provocou diferença significativa nos valores dos parâmetros. Para uma dada vazão de ar, os coeficientes convectivos na parede foram significativamente maiores em CC do que em CT, ao passo que a condutividade térmica efetiva radial apresentou tendência oposta somente na maior vazão de percolação. Isso se explica pelo fato de este último parâmetro ser mais influenciado pelos dados térmicos na região mais central do leito do que pelos da região próxima da parede, sendo K_r afetada de forma aleatória pelo sentido de escoamento do fluido através da camisa. Por outro lado, o coeficiente convectivo h_p é mais influenciado pelas temperaturas próximas da parede, de forma que qualquer sutil mudança nas condições nessa região provoquem uma alteração sistemática no valor deste coeficiente.

Na Tabela 5.2, constam ainda os valores calculado do número de Nusselt modificado (Nu_m), que foi escolhido para avaliar-se o efeito relativo da transferência de calor por convecção e por condução. Nota-se que o efeito da configuração de escoamento sobre o valor de Nu_m foi mais pronunciado sob a menor vazão de percolação, 175 L/h. Nessa taxa de aeração, Nu_m com fluidos em CC foi mais de 6 vezes maior do que em CT. Na vazão de 350 L/h, o aumento de Nu_m de CC para CT foi de apenas 60%. Isso indica que o efeito condutivo, associado à troca de calor radial em direção à parede e possivelmente influenciado pelo sentido de escoamento dos fluidos percolante e pela camisa, torna-se pouco relevante sob altas taxas de percolação.

Para escoamento dos fluidos em CT, ao dobrar a vazão de percolação, observou-se aumento de cerca de 6 vezes no valor de Nu_m ; em CC, por outro lado, Nu_m aumentou apenas 45% ao dobrar-se a vazão de ar. Logo, pode-se inferir que o efeito convectivo foi preponderante quando o fluido percolante e a água da camisa escoaram em contra-corrente. Tal abordagem de

análise é inédita na literatura, trazendo percepções interessantes a respeito da troca de calor em leitos recheados, ainda que sem a ocorrência de cultivo e consequente geração de calor.

5.2 Análise térmica em leito empacotado com cultivo em FES

As Figuras 5.3a a 5.3d apresentam os perfis de temperatura obtidos no ensaio térmico em leito composto por BC:FT 3:7 m/m inoculado pelo fungo termofílico *M. thermophila* I-1D3b. Assim como nos sistemas sem reação a posição de entrada refere-se à altura $z = 0$ do módulo fermentativo, imediatamente na entrada do ar na seção térmica, sendo o termopar localizado em $r/R = 0$ (centro). As posições r/R indicadas estão localizadas na saída da seção térmica ($z = 11$ cm), sendo $r/R = 0$ a posição radial central e $r/R = 0,92$ a mais próxima da parede aquecida.

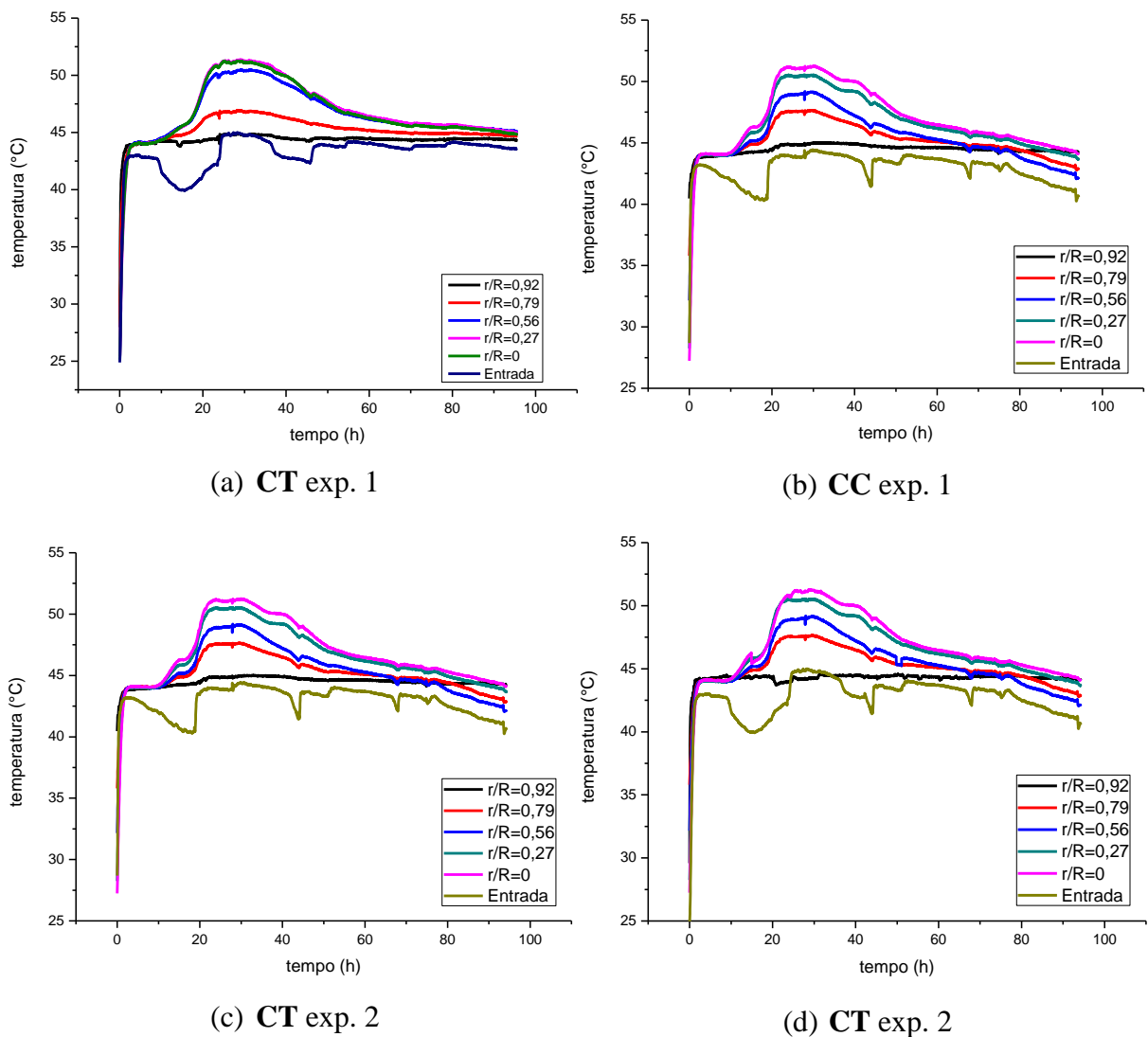


Figura 5.3. Perfis de temperatura dos ensaios com cultivo, vazão de ar 350 L/h: a) CT; b) CC.

Fonte: Autoria própria.

Mais uma vez, nota-se que o sentido das correntes de ar e de água não exerce influência expressiva sobre os perfis térmicos, já que o tempo de cultivo até atingir a máxima temperatura ($T_{m\acute{a}x}$), o valor de $T_{m\acute{a}x}$ e a posição em que ocorreu o pico de temperatura foram próximos para CC e CT. Ao contrário do que foi observado nos ensaios sem cultivo, as maiores temperaturas foram registradas no centro do leito ($r/R = 0$). Embora o ar e a camisa estivessem à mesma temperatura, a geração de calor metabólico provoca um aumento de temperatura por ocasião do acúmulo dessa energia gerada. Neste caso, quanto mais distante do contorno resfriado, mais difícil a dissipação do calor.

Na Figura 5.4, são observados os perfis radiais no instante do pico de temperatura máxima nos ensaios de FES, com ar percolante e água da camisa em sentidos CT e CC.

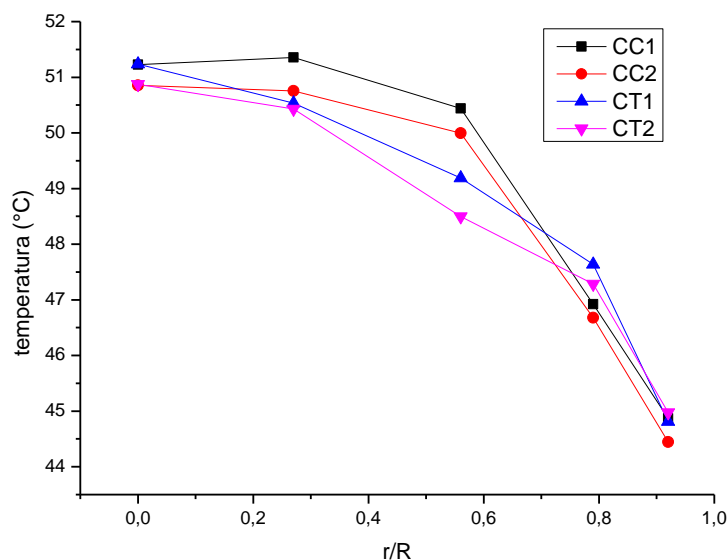


Figura 5.4. Temperatura em função da posição radial no instante do pico de geração de calor no biorreator de leito empacotado com ocorrência de FES, sob percolação de ar a 350 L/h, em CT e CC e em duplicata. Fonte: Autoria própria.

Observa-se um perfil radial pronunciado para todos os cultivos, sendo ligeiramente mais pronunciada a queda de temperatura em direção à parede quando o ar percolante e a água da camisa escoam em contra-corrente, com ar no sentido ascendente e água descendente. Neste caso, o ar mais aquecido, nas proximidades do topo do leito, encontra água mais arrefecida, entrando no sentido descendente. No entanto, esse efeito não pode ser considerado significativo. Na Tabela 5.3, são apresentados detalhes dos dados acerca dos perfis de temperatura nos cultivos obtidos nos ensaios de FES, com ar percolante e água da camisa em sentidos CT e CC. Os valores informados referem-se à média das duplicatas do cultivo.

Tabela 5.3. Análise dos perfis térmicos dos ensaios com cultivo em BLE na composição BC:FT 7:3, vazão de ar 350 L/h.

Sentido das correntes de ar e água	T_{camisa} (°C)	$T_{\text{ar entrada}}$ (°C)	$t_{T_{\text{máx}}}$ (h)	$T_{\text{máx}}$ (°C)	r/R de $T_{\text{máx}}$	$\Delta T_{r/R = 0 \text{ a } 0,92}$ (°C)
CT	45,0	42,65±0,07	27,75±0,35	50,9±0,42	0 (0)	0,25±0,21
CC	45,0	42,6±0,14	28,25±0,35	51,1±0,28	0,27 (0)	0,55±0,07

Comparando-se os resultados térmicos dos dois modos de operação, apresentados na Tabela 5.3, observa-se que não houve influência sobre as temperaturas máximas e médias, visto que as diferenças de $\Delta T_{r/R = 0 \text{ a } 0,92}$ (°C) observadas foram menores do que a precisão assumida para os termopares (0,5°C). Logo, confirma-se como apropriada a condição de contorno de temperatura constante na parede de biorreatores de leitos empacotados, comumente empregada em estudos de transferência de calor na FES nesse tipo de equipamento (MITCHELL et al., 2010; CASCIATORI et al., 2016; PEREZ et al., 2019).

Resultados semelhantes foram encontrados por Rodrigues (2021) que, ao estudar o efeitos das configurações CC e CT dos fluidos durante o cultivo em estado sólido de *A. niger* em biorreator de leito empacotado na composição BC:FT 3:7, não observou diferença significativa entre as temperaturas máximas ao longo do comprimento do biorreator, nem entre as temperaturas máximas nas duas configurações de escoamento para cada posição, segundo o teste de Tukey, evidenciando que a mudança no sentido do escoamento dos fluidos não teve influência significativa sobre os picos de temperatura. A ausência de tal influência significativa também será corroborada quando da análise do gráfico de desprendimento de gás carbônico ao longo desses cultivos, na seção seguinte.

Retornando à análise dos perfis temporais vistos na Figura 5.3, observa-se relativa homogeneidade térmica ao longo do biorreator, um atributo industrial importante, embora seja possível observar-se uma tendência de elevação de temperatura nas porções superiores do fermentador. Essa tendência já havia sido prevista por Casciatori et al. (2016) com base em simulações, empregando modelos bidimensionais a duas fases para a transferência de calor e de umidade em biorreatores de FES em leito empacotado. Ademais, a relativa homogeneidade térmica aqui notada já havia sido observada experimentalmente por Zanelato et al. (2012) e por Casciatori (2015), sendo um indicativo de que a combinação dos fatores operacionais, propriedades físicas do meio sólido, dimensões do equipamento, fisiologia e taxa de

crescimento do microrganismo podem favorecer a homogeneidade térmica do biorreator. Cabe lembrar que, em outros trabalhos da literatura, como no de Ghildyal et al. (1994), a elevação de temperatura observada chegou a 20°C acima da temperatura ótima do bioprocessos.

Ainda com relação aos perfis temporais, não foram observados indícios de crescimento diáuxico do microrganismo, com dois picos de temperatura, o que havia sido reportado por Rodrigues (2021) quando do cultivo, no mesmo substrato, do fungo *Aspergillus niger*, um fungo mesofílico, que não produz atividades de enzimas celulolíticas tão elevadas quanto é capaz de produzir o fungo *Myceliophthora thermophila*. No caso de Rodrigues (2021), pode-se supor que o crescimento do fungo foi inicialmente suportado pelo farelo, levando ao surgimento do primeiro pico de geração de calor. No entanto, como FT estava presente em pequena proporção, supõe-se que após depleção dessa fonte de carbono mais facilmente acessível, a cultura deva ter passado por uma segunda fase de adaptação, até ajustar seu metabolismo para o consumo de carbono proveniente do bagaço, mais recalcitrante, levando mais tarde ao surgimento de um segundo pico de geração de calor metabólico. Embora a composição de substrato tenha sido a mesma no presente trabalho, é razoável supor que, mesmo com a depleção de nutrientes oriundos do farelo, o fungo termofílico, por sintetizar celulasas de forma muito expressiva, não enfrentou uma segunda fase de adaptação ao longo do tempo total de cultivo.

Por outro lado, a inversão da proporção mássica de BC:FT de 7:3 de trabalhos anteriores para 3:7 no presente trabalho pode acarretar queda da umidade máxima possível de ser absorvida (Casciadori et al., 2015), assim como decréscimo da porosidade do leito (Casciadori et al., 2014), o que pode ter causado o aumento na temperatura máxima e média dos ensaios em CC e CT, ao se comparar aos ensaios realizados por Perez et al. (2020), Rodrigues et al. (2022) e Henrique (2022), além de alterar o instante do pico de temperatura. Tais alterações podem estar associadas tanto a efeitos nutricionais do meio de cultivo contendo maior fração de FT, quanto aos fatores estruturais, que dificultam a transferência de calor e massa.

Por fim, a análise dos perfis de temperatura permite presumir que a dificuldade de remoção de calor nos reatores de FES em leito fixo decorre de dois fatores principais: das propriedades do recheio e das condições operacionais. O primeiro fator consiste em que o meio poroso não é propício à transferência de calor por ser um material orgânico, predominantemente celulósico, o que lhe confere baixa condutividade térmica molecular. O segundo fator consiste em que as vazões empregadas nos reatores de FES são muito baixas, o que resulta em baixa taxa de troca térmica devida à contribuição dinâmica da transferência de calor no leito percolado por ar (CASCIA TORI, 2015). No entanto, também há que se considerar os fatores bióticos,

como tipo de microrganismo e seu metabolismo, além de disponibilidade de nutrientes nos diversos substratos que podem ser empregados.

5.2.1 Análise respirométrica em leito empacotado com cultivo em FES

A Figura 5.5 apresenta os perfis de concentração de CO₂ em duplicata ao longo do tempo de cultivo para as duas configurações de escoamento, CT e CC. O teor de CO₂ na corrente gasosa de saída do BLE, medida indireta do metabolismo do fungo *M. thermophila*, demonstrou aumento expressivo entre 20 e 30 h de cultivo, tendo sido coincidente com o período em que se registrou a máxima temperatura. Tal fato reitera que o calor metabólico gerado e acumulado é, de fato, o que provoca o sobreaquecimento do leito.

Resultados similares já haviam sido reportados por Casciatori (2015) e Rodrigues (2021), de forma que esta observação corrobora que o calor metabólico máximo produzido pelo fungo causa os picos de temperatura no processo, que ocorrem durante sua fase de crescimento acelerado (exponencial), durante a qual a taxa de respiração da cultura é a mais alta.

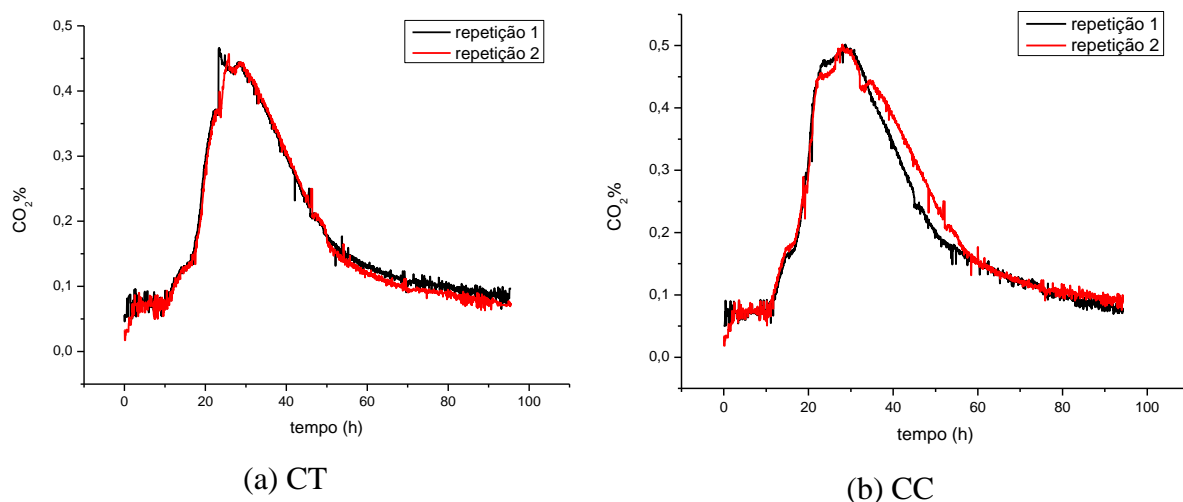


Figura 5.5. Perfis de concentração de CO₂ em função do tempo de cultivo em (a) CT; (b) CC.

Fonte: Autoria própria.

Dados de CO₂ podem fornecer elementos importantes para a compreensão das relações entre o crescimento dos fungos e a produção de enzimas, uma vez que é difícil medir a biomassa em FES, devido à dificuldade de separar a biomassa do substrato utilizado para a fermentação (RAIMBAULT, 1998). Ressalta-se que os ruídos observados nos valores adquiridos de CO₂ no final da curva, referentes aos períodos nos quais os valores são mais baixos, estão próximos do limite mínimo de detecção da sonda, o que pode interferir nos dados adquiridos.

A Figura 5.6 apresenta os ajustes em duplicata do modelo de regressão logística aos dados de CO₂ acumulado nos ensaios com cultivo em sentido CC e CT. Os valores dos parâmetros ajustados da equação da logística são dados na Tabela 5.4.

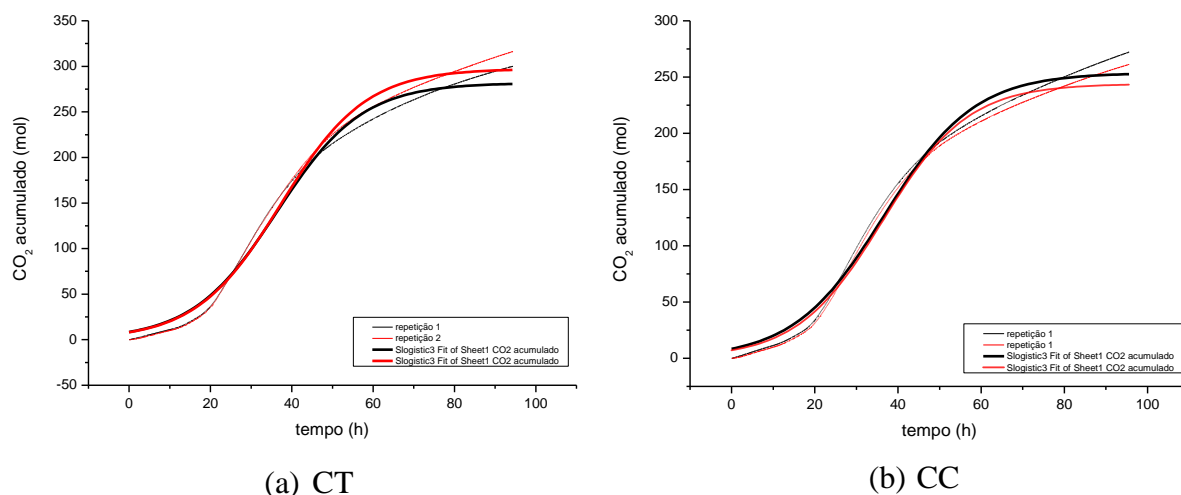


Figura 5.6. Ajuste do modelo de regressão logística aos dados de CO₂ acumulado em duplicata em (a) CT; (b) CC. Fonte: Autoria própria.

Tabela 5.4. Constantes específicas de produção de CO₂ acumulado nos ensaios com cultivo nos sentidos CC e CT.

Sentido das correntes de ar e água	μ (h ⁻¹)	X ₀ (mol CO ₂)	X _{máx} (mol CO ₂)	R ²
CC	0,096 ($\pm 5,05e^{-4}$)	8,71	255,72 ($\pm 0,36$)	0,9904
	0,099 ($\pm 5,06e^{-4}$)	7,15	243,98 ($\pm 0,30$)	0,9916
CT	0,096 ($\pm 5,05e^{-4}$)	8,70	281,82 ($\pm 0,38$)	0,9914
	0,096 ($\pm 4,61e^{-4}$)	8,30	297,35 ($\pm 0,37$)	0,9930

É possível notar que os erros dos parâmetros foram baixos e o coeficiente de correlação foi alto para todos os ajustes. Além disso, praticamente não houve diferença significativa entre as constantes específicas de taxa de produção de CO₂ nos cultivos com ar percolante e água pela camisa escoando em correntes contrárias ou paralelas. Também se nota que os valores de μ obtidos no presente trabalho foram próximos dos reportados por Rodrigues (2021), tanto com base no volume de CO₂ produzido quanto no teor de proteínas solúveis, confirmando que o método respirométrico é uma excelente alternativa para acompanhamento dos bioprocessos de FES em BLEs.

5.2.2 Atividade enzimática obtida por FES

O rendimento do bioprocesso de FES foi avaliado em termos de atividade enzimática de endoglucanase, produção de proteínas solúveis e atividade específica. Foram consideradas as médias dos ensaios em duplicatas, obtidas no BLE para as duas configurações de escoamento do ar percolante e da água pela camisa, CT e CC. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5. Atividade de endoglucanase, Produção de proteínas solúveis e atividade específica obtida nos cultivos no BLE.

Sentido das correntes de ar e água	Endoglucanase (CMCase) (U/gss)	Proteínas solúveis (mg/L)	Atividade específica (U/mg)
CT	123,48 ± 5,91 ^A	121,87 ± 2,28 ^A	97,023 ± 0,68 ^A
CC	123,71 ± 4,66 ^A	130,84 ± 2,60 ^A	94,386 ± 1,37 ^A

* Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Pode-se observar, quanto às atividades endoglucanase dos extratos, que não houve diferença significativa entre as duas configurações de escoamento, o que condiz com os resultados com respeito ao perfil térmico e de produção de gás carbônico. Apesar do escoamento em CC ter apresentado o maior valor de proteínas solúveis e atividade específica, não foi estatisticamente significativa ($\alpha = 5\%$) a diferença desses resultados entre as duas taxas de aeração.

Perez et al. (2021) avaliaram a produção de enzimas em biorreator de leito empacotado alterando as condições de aeração e porosidade do meio. Nas melhores condições, obtiveram resultados máximos de 210 U/gss para CMCase. Porém, o foco do presente trabalho não foi exatamente avaliar as condições que melhorassem a produção de celulasas, mas sim avaliar o comportamento térmico do biorreator sob diferentes condições de operação, razão pela qual inclusive optou-se por utilizar uma mistura de substrato na composição que se sabe não ser a mais favorável à produção dessas enzimas. Assim, a atividade de endoglucanase foi utilizada basicamente como um indicador ao considerar a aplicação proposta, visto que é uma enzima indispensável na cadeia de produção do E2G pela rota puramente bioquímica (Rodrigues, 2021). Dado que o rendimento do bioprocesso não foi afetado pelos sentidos de escoamento dos fluidos percolante e da camisa em CT ou CC, optou-se por realizar os cultivos controle, que seriam tomados como referência comparativa para os testes com reversão periódica do fluxo de

ar, com água e ar escoando em contracorrente, uma vez que esta é a configuração de escoamento que proporciona a menor perda de carga para a bomba de demanda do banho termostático que envia água para a camisa.

Vale mencionar que, tendo em vista a obtenção de celulasas por FES, a utilização do mesmo material tanto como substrato para a produção dessas enzimas quanto para a hidrólise dos materiais lignocelulósicos nos quais serão aplicadas pode reduzir os custos da produção do etanol de segunda geração, uma vez que ambos os processos poderiam ser colocados e compartilharem da mesma infraestrutura. Além disso, a escolha do substrato indutor afeta as características do coquetel enzimático produzido (VAN DEN BRINK et al., 2014). Logo, como o objetivo é produzir enzimas para aplicação específica na hidrólise do bagaço de cana na cadeia produtiva do etanol de segunda geração (E2G), o mesmo material usado como indutor tem o potencial de favorecer o direcionamento das características do coquetel enzimático a ser obtido (SORENSEN et al., 2011; DELABONA et al., 2012a).

5.2.3 Umidade ao final do tempo de cultivo em FES

A Tabela 5.6 mostra os conteúdos de umidade final da matriz sólida (em porcentagem de umidade em base úmida, % b.u.) ao final do tempo de cultivo em cada módulo para as duas configurações de escoamento do ar percolante e da água pela camisa, CT e CC.

Tabela 5.6. Umidade final do meio utilizado nos módulos acessórios de entrada, fermentativo e saída do BLE após os cultivos de *M. thermophila* em estado sólido em BC:FT 3:7 m/m.

Sentido das correntes de ar e água	Módulo de entrada (% em b.u.)	Módulo fermentativo (% em b.u.)	Módulo de saída (% em b.u.)
CT	61,63 ±2,76 ^A	62,72 ±2,15 ^A	12,17 ±1,43 ^B
CC	55,13 ±2,19 ^A	63,26 ±0,58 ^A	15,22 ±6,12 ^B

* Médias que não compartilham uma letra em uma dada coluna são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Sabendo-se que a umidade inicial dos módulos fermentativos foi de 65% (b.u.) em ambos os modos de operação, pode-se afirmar que ocorreu secagem pouco pronunciada do meio durante o cultivo, o que é confirmado através do teste de Tukey. Isso provavelmente ocorreu devido ao não equilíbrio termodinâmico entre o ar e a água como consequência da geração de calor metabólico, de modo que o ar removeu parte da água contida na matriz sólida.

Entretanto, as secagens aqui observadas não afetaram negativamente o metabolismo do fungo, uma vez que os primeiros módulos não apresentaram as menores atividades enzimáticas. Umsza-Guez (2009) relatou secagens mais intensas, porém não utilizou módulos acessórios de entrada e saída.

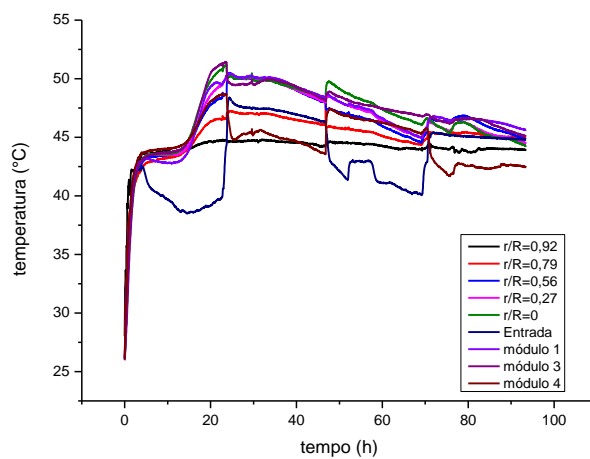
Já Casciatori (2015) e Rodrigues (2021) já haviam relatado que o emprego dos módulos acessórios foi capaz de proteger os fermentativos como desejado, uma vez que não foi observado nenhum padrão relacionando as atividades de endoglucanase e os valores de umidade final. Um fator essencial relatado pelos mesmos autores para garantir a saturação do ar e impedir a secagem excessiva dos módulos fermentativos foi a reposição diária de água nos umidificadores do ar percolante, além da umidificação em dois estágios, inicialmente à temperatura ambiente e depois à temperatura de processo. Esse procedimento também foi utilizado neste trabalho.

Zanelato (2011) havia testado umidades de 75, 80 e 85 % para a produção de CMCase por *Myceliophthora thermophila* I-1D3b, tendo obtido atividade enzimática mais baixa para o maior conteúdo de umidade, o que foi atribuído à redução da oxigenação devida à diminuição da porosidade do substrato. Além disso, Casciatori et al. (2015) mostraram que o farelo de trigo pode absorver água até atingir 80% de umidade, ao passo que o bagaço de cana absorve uma quantidade máxima de água suficiente para atingir a umidade limite de 75%, mas isso pode levar alguns dias. Assim, para substrato composto por 30% de bagaço de cana, é mais seguro trabalhar-se com conteúdo de umidade inicial inferior a 75%, de modo a evitar a presença de água não absorvida pela matriz sólida em escala de frascos e o gotejamento de água nos biorreatores, o que causaria entupimento dos poros entre partículas e dificultaria a transferência de massa, sobretudo de gases respiratórios.

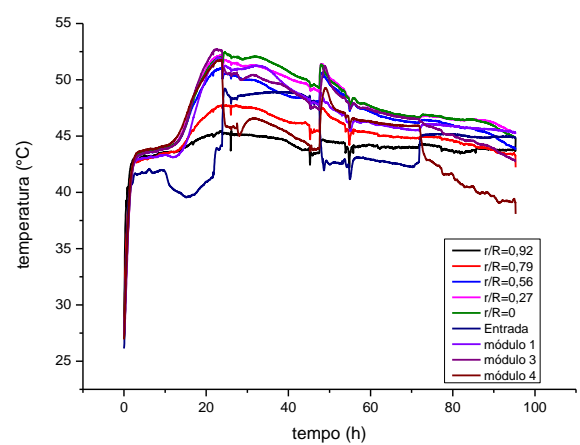
5.3 Análise térmica em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar durante o cultivo em FES

As Figuras 5.7a a 5.7d apresentam os perfis de temperatura obtidos nos ensaios de FES com e sem reversão periódica (a cada 24 h) do fluxo de ar percolante, empregando 4 módulos fermentativos. Os termopares radiais foram alocados entre os módulos 2 e 3, posição central axial da seção fermentativa. As temperaturas indicadas para os demais módulos referem-se à registrada por um termopar situado no centro do leito ($r/R = 0$), sendo o módulo 1 o mais próximo da base e o módulo 4 o mais próximo do topo. Já a Figura 5.8 apresenta o perfil radial de temperatura no instante do pico de aquecimento e na posição axial central do leito, ou seja,

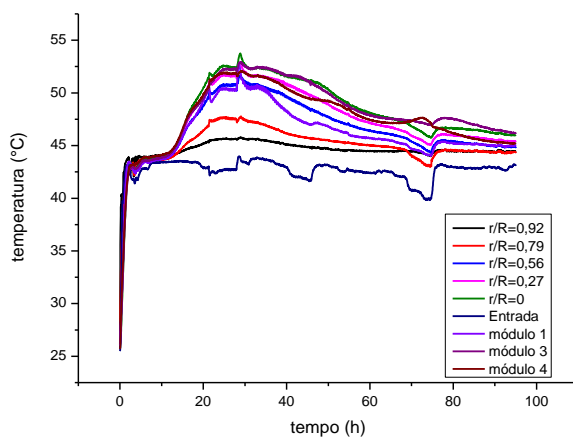
à saída do segundo módulo fermentativo. Nota-se que o perfil térmico radial foi pouco afetado pela reversão ou não do sentido do escoamento de ar, uma vez que as temperaturas foram praticamente coincidentes tanto nas proximidades do centro quanto na vizinhança da parede do leito, independentemente de haver ou não a reversão do sentido de percolação. Apenas destoou um pouco dessa tendência o cultivo 1 com reversão, o que pode ser atribuído ao fenômeno de secagem, que pode ter removido mais calor evaporativo quando da reversão do fluxo, devido à maior distância entre a coluna de umidificação do ar e a entrada do leito, no sentido da aeração reversa. De todo modo, tal resultado está de acordo com o esperado, visto que a reversão do sentido de escoamento deve afetar o perfil axial de temperaturas, não o radial, pois não se alteram as resistências à convecção e condução.



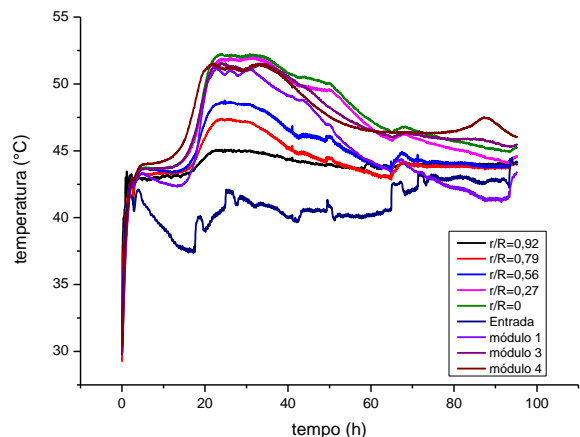
(a) com reversão, exp. 1



(b) com reversão, exp. 2



(c) sem reversão, exp. 1



(d) sem reversão, exp. 2

Figura 5.7. Perfis de temperatura dos ensaios com cultivo em leito empacotado com 4 módulos: (a) com reversão da percolação, exp. 1; (b) com reversão, exp. 2; (c) sem reversão da percolação, exp. 1; (d) sem reversão, exp. 2. Fonte: Autoria própria.

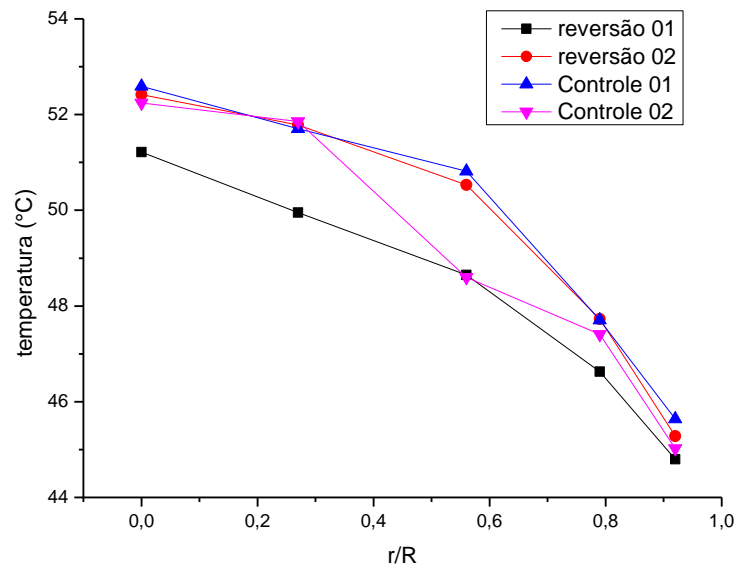


Figura 5.8. Temperatura em função da posição radial no instante do pico de aquecimento e na posição axial central em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação e aeração end-to-end, sob vazão de ar de 350 L/h. Fonte: Autoria própria.

Com relação aos perfis temporais, é possível observar que, nos testes com reversão periódica do fluxo de ar a cada 24 h de cultivo, a posição axial do ponto de mais alta temperatura variou ao longo do tempo de cultivo, como era esperado. Essa oscilação fica bastante nítida quando se observam as linhas de temperaturas referentes à entrada e ao módulo 4, que passa a ser o primeiro módulo fermentativo quando o sentido da percolação de ar é invertido. Nota-se, nas Figuras 5.7a e 5.7b, que quando o ar entra pela base e sai pelo topo da coluna, o módulo de entrada apresenta as temperaturas mais baixas, registradas entre 0 e 24 h de cultivo, e depois entre 48 e 72 h. A partir do instante em que o ar passa a entrar pelo topo e sair pelo fundo da coluna, entre 24 e 48 h, e depois novamente entre 72 e 96 h, o módulo 4 assume as mais baixas temperaturas.

Esses resultados experimentais são inéditos na literatura de FES em BLEs, e concordam com os obtidos por simulação por Buck et al. (2015), que empregaram balanços de energia e de umidade para prever o comportamento do leito quando sujeito a um controle retroalimentado, baseado na posição do ponto quente na coluna. Na Tabela 5.7, são apresentados detalhes dos dados acerca dos perfis de temperatura nesses cultivos. Com relação à temperatura máxima atingida nos ensaios sem e com reversão do fluxo de ar, nota-se que esta foi ligeiramente maior para a operação denominada como controle, o que está associado à flutuação da posição do ponto quente no caso dos cultivos com reversão, como já mencionado, embora a diferença entre

as médias não seja estatisticamente significativa. Desta forma, pode-se dizer que o modo de operação com variação periódica do sentido de percolação de ar é uma estratégia interessante do ponto de vista de homogeneidade térmica do sistema, haja vista que o gradiente médio de temperatura entre o centro e o leito no ensaio com reversão também foi ligeiramente menor.

Tabela 5.7. Análise dos perfis térmicos dos ensaios com cultivo em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação, vazão de ar 350 L/h.

Ensaio	Vazão de ar (L/h)	T _{camisa} (°C)	T _{ar entrada} (°C)	t _{T_{máx}} (h)	T _{máx} (°C)	r/R de T _{máx}	$\Delta T_{r/R=0 \text{ a } 0,92}$ (°C)
Com reversão de fluxo	350	45,0	44,55±0,35	25,6±2,69	51,7±0,71	0	0,18±0,17
Controle (aeração unidirecional)	350	45,0	42,85±0,49	26,45±3,46	53,15±0,78	0	0,33±0,25

Em comparação aos ensaios no biorreator com apenas 1 módulo fermentativo, as temperaturas máximas foram mais elevadas para o ensaio controle com 4 módulos, uma vez que o pico de temperatura atingiu 53,2°C no centro do leito para um dos cultivos, contrapondo-se a um valor de 51,7°C no mesmo ponto para o ensaio com reversão, mais próximo à maior temperatura atingida com apenas 1 módulo. Essas ligeiras diferenças térmicas, no entanto, não afetaram de forma significativa a produção enzimática, o que indica que outros fatores podem ter causado uma alta variabilidade nas atividades enzimáticas alcançadas.

5.3.1 Análise respirométrica em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar durante o cultivo em FES

A Figura 5.9 apresenta os perfis de concentração de CO₂ em duplicata ao longo do tempo de cultivo sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar, assim como do controle (aeração unidirecional convencional, da base para o topo). Como a aeração continuou sendo unidirecional, os perfis de concentração do gás na corrente de saída do biorreator, seja da saída pelo topo ou pela base, não foram alterados pela reversão periódica do sentido de percolação.

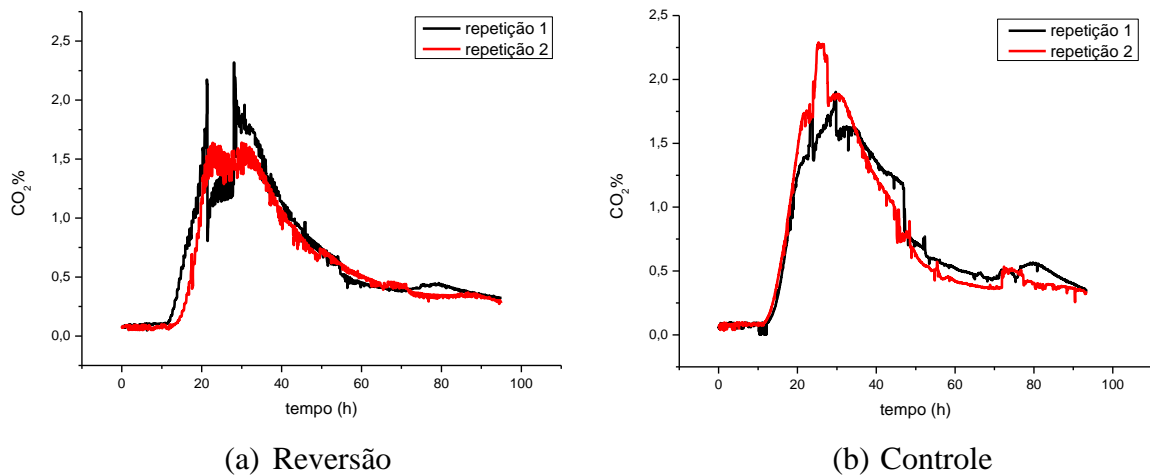


Figura 5.9. Perfis de concentração de CO₂ na corrente de saída em função do tempo de cultivo nos testes (a) com reversão da percolação a cada 24 h; (b) sem reversão da percolação.

Fonte: Autoria própria.

As Figuras 5.10a e 5.10b apresentam os resultados experimentais e os ajustes em duplicata do modelo de regressão logística aos dados de CO₂ acumulado nos ensaios de cultivo com reversão de fluxo de ar e no sistema controle, respectivamente.

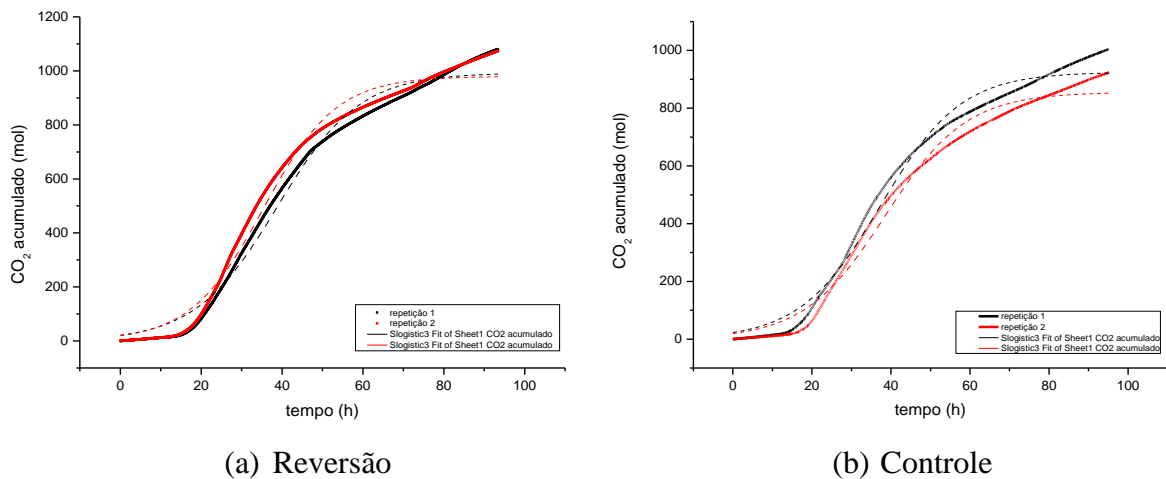


Figura 5.10. Ajuste do modelo de regressão logística aos dados de CO₂ acumulado em função do tempo de cultivo nos testes (a) com reversão da percolação a cada 24 h; (b) sem reversão da percolação. Fonte: Autoria própria.

Similarmente ao observado para os perfis de concentração de CO₂ na corrente de saída e tendo sido mantida a mesma vazão de percolação, pode-se inferir que o metabolismo do fungo não foi afetado de forma significativa pela reversão ou não do sentido de aeração. A produção

total acumulada de CO₂ em 96 h foi em torno de 1100 mol para ensaios com reversão e de 1000 mol com aeração unidirecional. No entanto, observa-se que os parâmetros μ e $X_{\text{máx}}$ estimados foram ligeiramente maiores nos cultivos com reversão periódica do sentido de percolação de ar, como pode ser visto na Tabela 5.8, embora a diferença estatística entre esses valores não seja significativa.

A reversão do sentido de percolação, além de ter influenciado ligeiramente o pico de temperatura, também favorece a aeração de forma mais homogênea de todos os módulos do biorreator. Enquanto no sistema controle os módulos superiores recebem sempre a corrente gasosa mais rica em CO₂ gerado pela respiração, que vem sendo trazido pelo ar por advecção dos módulos inferiores, a reversão proporciona que esses módulos recebam ar fresco durante metade do tempo total de cultivo, o que pode ter favorecido o crescimento do microrganismo, justificando os maiores valores de $X_{\text{máx}}$.

Além disso, os valores de μ do presente trabalho foram superiores aos reportados por Casciadori (2015) e Henrique et al. (2022), mas isso também pode estar associado à diferença de composição de substrato, visto que os autores citados trabalharam com BC:FT 7:3 m/m, e não 3:7, como foi o caso do presente estudo. De todo modo, os resultados encontrados mostram que ambas as condições propostas de aeração são quase que igualmente favoráveis ao desenvolvimento do fungo termofílico.

Tabela 5.8. Constantes específicas de produção de CO₂ acumulado nos ensaios em leito empacotado sujeito a reversão periódica do sentido de percolação de ar e controle.

Ensaio	μ (h ⁻¹)	X_0 (mol CO ₂)	$X_{\text{máx}}$ (mol CO ₂)	R ²
Com reversão de fluxo	0,099 ($\pm 6,51e^{-4}$)	21,61	992,48 ($\pm 1,75$)	0,9878
	0,110 ($\pm 7,83e^{-4}$)	19,56	995,93 ($\pm 1,60$)	0,9865
Controle (aeração unidirecional)	0,098 ($\pm 6,23e^{-4}$)	23,57	924,85 ($\pm 1,50$)	0,9882
	0,097 ($\pm 6,41e^{-4}$)	20,01	855,42 ($\pm 1,48$)	0,9875

5.3.2 Atividade enzimática obtida por FES com reversão do sentido de percolação de ar

Novamente, o rendimento dos bioprocessos de FES sem e com reversão periódica do fluxo de ar percolante foi avaliado em termos de atividade enzimática de endoglucanase. Neste caso, dentro de cada cultivo individualmente, foram consideradas as atividades médias dos extratos oriundos de cada módulo fermentativo, fazendo-se a comparação entre os rendimentos de cada módulo. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.9.

De maneira geral, não se pode dizer que houve diferença significativa entre os dois modos de operação, o que também é difícil de ser avaliado devido à ampla variabilidade dos ensaios de atividade. O que chama atenção é que, nos 4 ensaios realizados, o módulo mais próximo da base apresenta geralmente as maiores atividades enzimáticas, enquanto o módulo mais próximo do topo tende a apresentar menores valores, mas essa diferença não parece estar associada à reversão ou não do sentido de percolação de ar, visto que ocorre tanto com quanto sem reversão, o que está coerente com as sutis alterações sobre os perfis térmicos e de produção de CO₂.

Tabela 5.9. Atividades de endoglucanase obtidas nos cultivos no BLE sem e com reversão periódica do fluxo de ar.

Ensaio	Repetição	Módulo fermentativo	Endoglucanase (CMCase) (U/gss)
Com reversão do fluxo de ar a cada 24 h	1	1	354,1 ± 66,9 ^A
		2	324,1 ± 55,2 ^{A^B}
		3	164,1 ± 71,3 ^B
		4	224,2 ± 65,8 ^{AB}
	2	1	456,4 ± 56,3 ^A
		2	449,5 ± 29,4 ^A
		3	417,25 ± 9,68 ^A
		4	295,5 ± 31,9 ^B
Controle (aeração unidirecional)	1	1	346,7 ± 40,8 ^A
		2	234,62 ± 15,41 ^B
		3	315,3 ± 64,9 ^{AB}
		4	337,5 ± 31,7 ^{AB}
	2	1	430,2 ± 19,6 ^{AB}
		2	473,5 ± 40,5 ^A
		3	420,9 ± 42,5 ^{AB}
		4	361,45 ± 11,2 ^B

* Em cada bloco, médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Essa tendência de queda da atividade enzimática em direção ao topo do leito no caso de aeração end-to-end já havia sido reportada por Zanelato et al. (2012) e por Derakhti et al. (2012), neste último trabalho a respeito da produção da enzima α -amilase por *Bacillus* sp. KR-8104 em farelo de trigo em biorreator de leito empacotado. Os autores tiveram bons rendimentos, mas a produção da enzima decrescia da base para o topo do biorreator.

Diversos pesquisadores têm desenvolvido pesquisas em FES usando duas linhagens do fungo termofílico *Myceliophthora thermophila*, quais sejam I-1D3b (empregada no presente trabalho) e M.7.7, ambas gentilmente cedidas pelo Instituto de Biociências, Letras e Ciências

Exatas de São José do Rio Preto (Ibilce/UNESP). Na Tabela 5.10, observa-se que os resultados obtidos no presente estudo são promissores quando comparados aos de outros trabalhos da literatura, que empregaram o mesmo fungo visando à produção de enzimas celulolíticas em diferentes substratos, indicando potencial para aplicação na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar para obtenção de bioetanol de segunda geração.

Tabela 5.10. Produção de enzimas fibrolíticas por linhagens do fungo *Myceliophthora*.

Microrganismo	Substrato*	CMCase (U/gss)	Xilanase (U/gss)	FPU (mg/L)	Tipo de reator	Referência
<i>Myceliophthora sp (M.77)</i>	BC+FT	54	1045	2,0	Sacos de polipropileno	Moreti (2010)
<i>Myceliophthora thermophila</i> I1D3	BC+FT	800,0	900,00	8,3	Leito empacotado	Zanelato (2011)
<i>M. thermophila</i> I1D3 (Preparado enzimático)	BC+FT	849,9	225,6	12,1	Leito empacotado	Casciatori (2015)
<i>Myceliophthora thermophila</i> I1D3	BC+FT	147,08	1094,04	-	embalagens plásticas	Perez (2017)
<i>Myceliophthora thermophila</i> I1D3	BC+FT	210	1100,0	-	Leito empacotado	Perez et al (2021)
<i>Myceliophthora thermophila</i> I1D3	BC+FT	291,75	-	-	embalagens plásticas	Rodrigues (2021)
<i>Myceliophthora thermophila</i> I1D3	BC+FT	158,3	-	-	Leito empacotado	

Essa diferença entre os valores da literatura e os encontrados neste trabalho é admissível, posto que as fermentações foram realizadas em condições específicas, com intervalo de tempo de mais de 10 anos com os primeiros trabalhos empregando esse fungo.

Novamente para os extratos oriundos de cada ensaio, sem e com reversão periódica do fluxo de ar, foram realizadas análises em duplicata do teor de proteínas solúveis pelo método de Bradford obtidas nos cultivos. Além da correlação com o crescimento, através dos valores de proteínas solúveis dos extratos, também foi possível obter as atividades específicas, como uma medida da pureza desses extratos, e cujos valores médios calculados encontram-se

dispostos na Tabela 5.11. Acredita-se que o ponto referente ao módulo 1 do ensaio controle seja um erro experimental da determinação de proteínas, visto que o valor de concentração foi muito discrepante dos demais, o que indicaria maior pureza, para atividades enzimáticas similares.

Tabela 5.11. Produção de proteínas solúveis e atividade específica obtidas nos cultivos sem e com reversão periódica do fluxo de ar.

Ensaio	Módulo fermentativo	Proteínas solúveis (mg/L)	Atividade específica (U/mg)
Com reversão do fluxo a cada 24 h	1	336,1 ± 69,3 ^A	120,91 ± 3,37 ^A
	2	366,72 ± 13,66 ^B	105,1 ± 20,3 ^{AB}
	3	270,2 ± 14,3 ^B	106,0 ± 60,7 ^{AB}
	4	260,04 ± 12,35 ^{AB}	100,5 ± 24,2 ^{AB}
Controle (aeração unidirecional)	1	70,1 ± 23,4 ^A	601 ± 285 ^B
	2	199,6 ± 48,4 ^B	193,4 ± 131,6 ^B
	3	226,7 ± 39,3 ^{AB}	167,8 ± 62,1 ^B
	4	180,7 ± 41,3 ^{AB}	197,4 ± 35,7 ^B

* Em cada bloco, médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste Tukey (p < 0,05).

5.3.3 Umidade obtida por FES com reversão do sentido de percolação de ar

A Tabela 5.12 mostra os conteúdos de umidade final da matriz sólida (em porcentagem de umidade em base úmida, % b.u.) obtidas nos cultivos no biorreator sem e com reversão periódica do fluxo de ar. A umidade inicial do módulo de fermentação também foi de 65% (b.u.) em ambos os modos de operação. Também neste caso, foi feita comparação das médias de umidade entre os módulos, dentro de um mesmo cultivo.

Tabela 5.12. Umidade final do meio utilizado nos módulos acessórios de entrada, fermentativo e saída obtidas nos cultivos sem e com reversão periódica do fluxo de ar.

Ensaio	Módulo	Umidade (% em b.u.)
Com reversão do fluxo de ar a cada 24 h	1	56,91 ± 7,05 ^A
	2	60,06 ± 5,78 ^B
	3	66,63 ± 3,33 ^A
	4	62,95 ± 2,48 ^{AB}
	Base	54,63 ± 5,11 ^{AB}
	Topo	59,79 ± 2,21 ^{AB}
Controle (aeração unidirecional)	1	59,070 ± 1,20 ^A
	2	44,56 ± 12,08 ^B
	3	67,35 ± 2,74 ^{AB}
	4	66,02 ± 2,35 ^A
	Base	55,13 ± 2,20 ^{AB}
	Topo	20,135 ± 0,30 ^C

* Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Assim como nos ensaios de FES com 1 único módulo fermentativo em CT e CC, pode-se dizer que, nos testes com 4 módulos fermentativos com e sem reversão do sentido de aeração, o meio resseca levemente durante o cultivo. Porém, nota-se que, no sistema de reversão, ocorreu secagem pouco pronunciada do meio durante o cultivo, indicando que a alteração do sentido do fluxo de ar impediu a secagem e manteve a umidade mais próxima do valor inicial. No sistema controle, ocorreu secagem mais pronunciada nos módulos 1 e 2 e um aumento da umidade nos módulos 3 e 4, o que pode ser atribuído à condensação de água na porção superior do biorreator, antes mesmo de atingir o módulo contendo bagaço grosso seco. Entretanto, as secagens aqui observadas não afetaram negativamente o metabolismo do fungo, uma vez que os ensaios não apresentaram queda de atividades enzimáticas, como já discutido.

5.4 Imagens térmicas do processo sem reação, com reação e em regime de reversão

As Figuras 5.11a a 5.11d mostram as imagens térmicas de infravermelho de um dos testes sem reação, em CC e CT, com vazões de 175 e 350 L/h. Como a camisa é mantida em temperatura maior que a do ar, observa-se que a temperatura aumenta em direção às posições radiais mais próximas da parede em todos os experimentos. O contrário é observado nas Figuras 5.11e a 5.11h, que mostram as imagens térmicas ao final dos testes com cultivo.

No caso com reação, o calor metabólico gerado, ao se acumular no meio, sobreaquece de forma mais expressiva o centro do leito, posição mais afastada do contorno resfriado, que é a parede. Isso independe de o cultivo ser feito com aeração unidirecional ou com reversão periódica. Logo, os resultados obtidos com a câmera térmica corroboram o que já havia sido inferido com base nas medidas pelos termopares. Esses resultados também concordam com os da literatura clássica de FES em leito empacotado de Saucedo-Castañeda et al. (1990), que apresentaram perfis térmicos temporais para várias posições radiais adimensionais de um leito empacotado de farelo de trigo, no cultivo de *Aspergillus niger*.

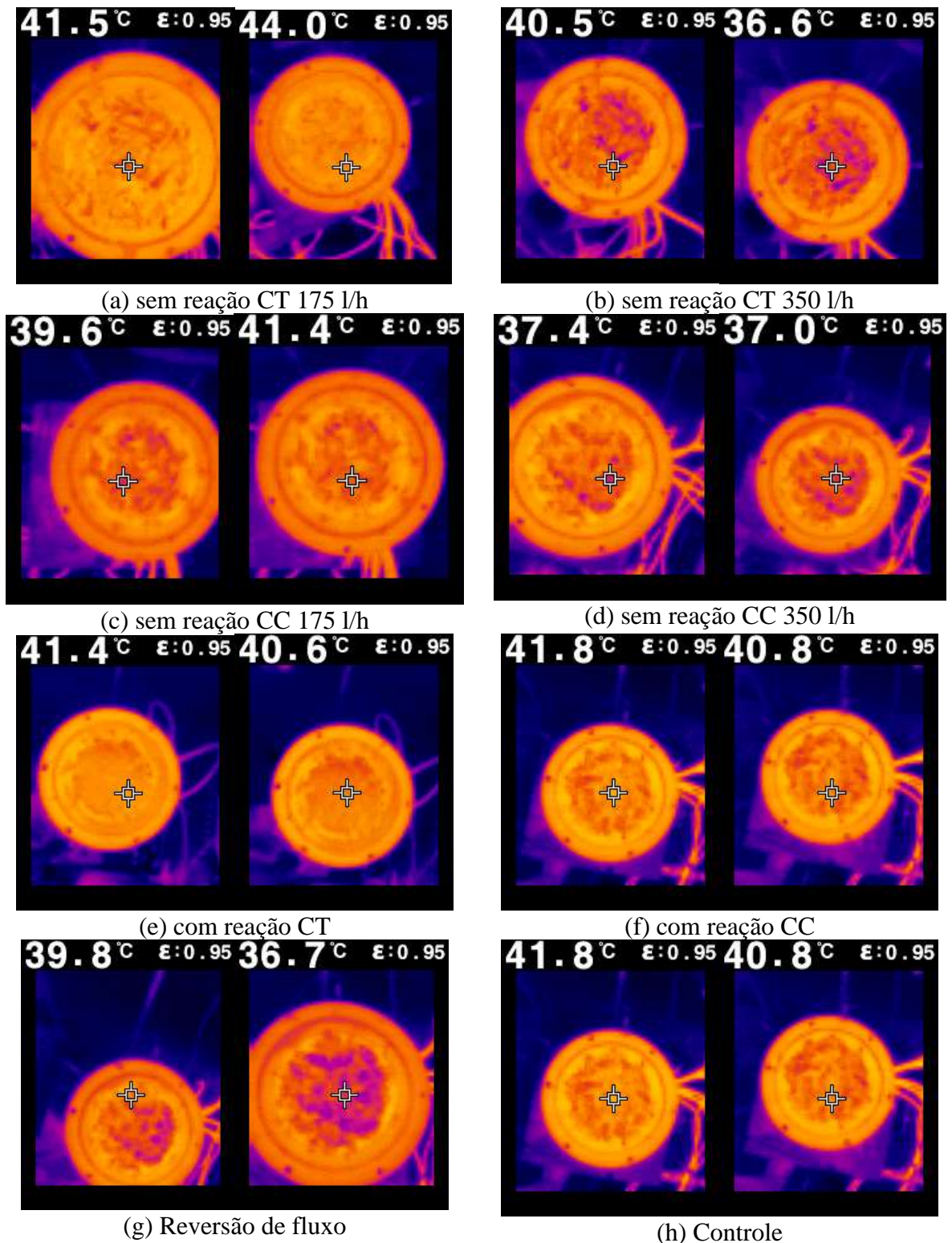


Figura 5.11. Imagens térmicas de infravermelho (a) sem reação, 175 L/h, CT; (b) sem reação, 350 L/h, CT; (c) sem reação, 175 L/h, CC; (d) sem reação, 350 L/h, CC; (e) ao final de um cultivo em CT; (f) ao final de um cultivo em CC; (g) ao final de um cultivo com reversão de fluxo; (h) ao final do cultivo controle. O sinalizador indica a posição em que está sendo medida a temperatura, indicada no canto superior esquerdo de cada imagem. Fonte: Autoria própria.

5.5 Análise térmica dos cultivos com base no adimensional de Damköhler modificado

O número modificado de Damköhler (Da_m) pode ser utilizado tanto para prever o desempenho de um biorreator já existente, como também para direcionar o aumento de escala. Um valor de Da_m maior que 1 indica que, no momento da máxima geração de calor, a temperatura crítica será excedida na extremidade final do leito sob aeração unidirecional. Para a temperatura ser a máxima aceitável para o sistema, as máximas taxas de produção e de remoção de calor devem ser iguais, de forma que Da_m deve ser igual a 1 (Perez, 2021).

Sabendo-se que o critério limitante para o número de Damköhler modificado obtido por Mitchell et al. (1999) é evitar que o leito atinja temperaturas indesejáveis capazes de prejudicar o crescimento fúngico, os valores de vazão utilizados para os diferentes valores de Da_m foram razoavelmente satisfatórios, uma vez que o sobreaquecimento foi inferior a 10°C, enquanto aumentos de temperatura superiores a 20°C já foram reportados nos primeiros estudos de FES em leito empacotado.

Para análise adimensional dos cultivos realizados neste trabalho, os valores de Da_m foram calculados com base na equação (3.11), cujos resultados são apresentados na Tabela 5.13, juntamente com as condições operacionais dos cultivos. Como parâmetros constantes, as propriedades estruturais do leito, ρ_s e ε , foram calculadas com base em Casciadori et al. (2014), ponderando-se os valores experimentais dessas propriedades para leitos de BC e FT com base nos percentuais mássicos desses componentes no substrato empregado no presente trabalho, 7:3 m/m. Os parâmetros associados às atividades metabólicas do microrganismo, μ_{opt} e X_m , foram obtidos experimentalmente com base na análise respirométrica de CO_2 total liberado ao longo dos cultivos. Y foi tomado como 5% do coeficiente de rendimento metabólico de Saucedo-Castañeda et al. (1990), em J por kg de biomassa celular. Para manter a consistência dimensional, foi necessário utilizar o fator determinado por Rodrigues (2021) para correlacionar a formação de biomassa e a liberação de gás carbônico, 257,3 mols de CO_2 por g de biomassa. As propriedades do ar e o calor latente de vaporização da água foram tomados de tabelas de propriedades termofísicas de fluidos. A velocidade superficial de escoamento foi a mesma para todos os ensaios de cultivo.

Tabela 5.13. Valores de Da_m para os cultivos realizados no presente trabalho.

Sentido	T_{in} (°C)	T_{out} (°C)	H (m)	μ_{opt} (h ⁻¹)	X_m (mol CO_2)	Da_m
CC	42,5	51,3	0,11	0,098	249,85	2,33
CT	42,7	51,2	0,11	0,096	289,59	2,75
Controle	44,8	53,7	0,44	0,098	890,14	2,05
Reversão	43,2	52,2	0,44	0,105	994,21	2,43

Como se observa, os valores do adimensional foram próximos entre si, variando entre 2 e 2,75, o que está coerente com o aumento de temperatura observado nos instantes do pico de máxima geração de calor pelo metabolismo do fungo. A elevação de temperatura decorre de períodos nos quais a taxa de remoção de calor do sistema, pelos mecanismos combinados de advecção e evaporação, foi superada pela taxa de geração de calor metabólico. O emprego do adimensional é particularmente interessante por permitir avaliar conjuntamente o efeito de variáveis operacionais como altura do leito e vazão de percolação ideais para fazer com que essas duas taxas se equiparem, o que evitaria o sobreaquecimento do sistema, mesmo que nos instantes de máxima atividade respiratória, sendo um critério interessante para estudos futuros de ampliação de escala de bioprocessos de FES em biorreatores de leito empacotado.

6 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados nesta Dissertação fornecem maior entendimento sobre a transferência de calor em leitos empacotados com resíduos sólidos agroindustriais, sem e com a ocorrência de cultivo em estado sólido. Com os perfis térmicos obtidos nos ensaios sem cultivo, nota-se que a temperatura média radial ($T_{\text{avg radial}}$) é maior para os ensaios com vazão 175 L/h, em comparação a 350 L/h, para as duas configurações de escoamento, CT e CC. Tal comportamento era esperado, tendo em vista que, neste sistema, é a percolação de ar que promove o arrefecimento do leito, já que sua temperatura na entrada da seção térmica é menor do que a da camisa. Além do mais, apesar de a temperatura da parede ($r/R=1$) ter sido de 45°C, nenhum dos perfis de temperatura chegaram a valores tão próximos desta. Em termos de alterações na direção do fluxo de ar e água que escoam pela camisa, notou-se que não houve impacto nos perfis de temperatura.

Com os valores obtidos no ensaio, foram determinados parâmetros efetivos através do modelo a dois parâmetros tradicional, com base nos quais foi definido, calculado e analisado o número adimensional de Nusselt modificado para permitir uma análise térmica mais abrangente do sistema. Onde percebeu-se que conforme a vazão de ar aumenta, os parâmetros térmicos aumentam e foram maiores para escoamento dos fluidos em contra-corrente.

Nos ensaios de cultivo do fungo *Myceliophthora thermophila* em uma mistura 3:7 m/m de bagaço de cana e farelo de trigo em biorreator de leito empacotado multicamadas, atingiu-se temperatura máxima cerca de 7°C acima da ótima, com aeração unidirecional ascendente. Tal fato reitera que a geração de calor metabólico e o que provoca um aumento de temperatura por ocasião do acúmulo dessa energia gerada. Com respeito à mudança do sentido de escoamento de ar percolante e de água pela camisa, observou-se que não houve influência nos perfis de temperatura. Dessa forma, a escolha da configuração de escoamento pode ser baseada somente nas perdas de carga. Quanto às atividades endoglucanase dos extratos e proteínas solúveis obteve-se em CC ($123,71 \pm 4,66$; $130,84 \pm 2,60$) e CT ($123,48 \pm 5,91$; $121,87 \pm 2,28$) respectivamente. Percebe-se não houve diferença significativa entre as duas configurações de escoamento, o que condiz com os resultados com respeito ao perfil térmico e de produção de gás carbônico.

Como resultado de uma estratégia experimental inédita na literatura, os cultivos com reversão periódica do fluxo de ar percolante apresentaram maior homogeneidade térmica, provavelmente devido à melhor distribuição de ar entre os módulos.

Para análise adimensional dos cultivos realizados neste trabalho, os valores de Damköhler modificado (Da_m) foram calculados com base nas atividades metabólicas do microrganismo, μ_{opt} e X_m , que foram obtidos experimentalmente pela análise respirométrica de CO_2 total liberado ao longo dos cultivos. Notou-se que os valores do adimensional foram próximos entre si, variando entre 2 e 2,75, o que está coerente com o aumento de temperatura observado nos instantes do pico de máxima geração de calor pelo metabolismo do fungo. Considerando a carência de uma estratégia para a ampliação de escala, o número de Damköhler é uma alternativa interessante, visto que permite a avaliação conjunta do impacto de variáveis operacionais em bioprocessos de FES em biorreatores de leito empacotado.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para futuros trabalhos na área, propõem-se:

- Realizar novos cultivos em leito empacotado, com reversão do sentido de percolação em intervalos mais curtos;
- Realizar cultivos empregando fungo mesofílico, para avaliar o efeito das estratégias aqui avaliadas comparativamente ao cultivo termofílico;
- Avaliar o efeito de mais níveis de vazão de percolação e altura de leito sobre os parâmetros térmicos de transferência de calor em leito empacotado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARORA, S; RANI, R; GHOSH, S. Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects. **Journal of Biotechnology**, v. 269, p. 16-34, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE BIOMASSA, BIOENERGIA, BIOELETRICIDADE, PELLETES E ENERGIAS RENOVÁVEIS (ABIB). 2022. Disponível em: < <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/potencial-de-biomassa-de-residuos-agroindustriais-no-brasil/20220905-082359-e387>> Acesso em novembro de 2022.

BERENJIAN, A.; EHSAN, M. Special Issue "Novel Processes for Development of Fermentation-Based Products". **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**. 2021.

BRADFORD, M. M. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgramas de proteína utilizando o princípio da ligação proteína-corante. **Bioquímica analítica**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BÜCK, A. CASCIATORI, F. P.; THOMÉO, J. C.; TSOTSAS, E. Model-based control of enzyme yield in solid-state fermentation. **Procedia engineering**, v. 102, p. 362-371, 2015.

CALIXTO, L. de O. **Simulação da transferência de calor em um biorreator de leito empacotado operado em modo pseudo-contínuo (BLEPC) para fermentação em estado sólido (FES)**. 2019. 60f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.

CASCIATORI, F. P.; CASCIATORI, P. A.; THOMÉO, J. C. Cellulase production in packed bed bioreactor by solid-state fermentation. **In: European Biomass Conference and Exhibition Proceedings**, v. 1.13, p. 1539-1546. 2013.

CASCIATORI, F. P. **Obtenção de parâmetros físicos e térmicos para projeto e simulação de biorreatores de fermentação em estado sólido em leito fixo**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2011.

CASCIATORI, F. P.; THOMÉO, J. C. Heat transfer in packed-beds of agricultural waste with low rates of air flow applicable to solid-state fermentation. **Chemical Engineering Science**, v. 188, p. 97-111, 2018.

CASCIATORI, F. P.; LAURENTINO, C. L.; TABOGA, S. R.; CASCIATORI, P. A.; THOMÉO, J. C. Structural properties of beds packed with agro-industrial solid by-products applicable for solid-state fermentation: Experimental data and effects on process performance. **Chemical Engineering Journal**, v. 255, p. 214-224, 2014.

CASCIATORI, F. P. **Produção de celulases fúngicas por fermentação em estado sólido: ampliação de escala de biorreatores de leito fixo.** 2015. 190f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.

CASSARO, E. G.; FONSECA, R. F.; FARINAS, C. S. Assessment of the effects of intermittent mixing on solid-state fermentation for biomass-degrading enzymes production by different fungal strains. **J. Bioprocess. Chem.**, v. 3, p. 1-7. 2015.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CEPEA) em parceria com a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). 2022. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/pib-agro-cepea-pib-do-agro-cresce-8-36-em-2021-participacao-no-pib-brasileiro-chega-a-27-4.aspx>> Acesso em novembro de 2022.

COBERLY, C. A.; MARSHALL, W. R. Temperature gradients in gas streams flowing through fixed granular beds. **Chemical Engineering Progress**, New York, v. 47, n. 3, p. 141 – 150, 1951.

COLBURN, A. P. Heat transfer in packed tubes. **Ind. Eng. Chem.**, v. 32, p. 910 – 913, 1931.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-Açúcar. Quarto Levantamento, Brasília**, 2022. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_14_09_06_31_boletim_cana_portugues_-_4o_lev_-_15-16.pdf> Acesso em novembro de 2022.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Comunicado Técnico do VBP.** 2022. Disponível em: <https://cnabrasil.org.br/publicacoes/vbp-da-agropecuaria-e-projetado-em-r-1-20-trilhao-em-2021> > Acesso em novembro de 2022.

DE FRAGA, H. B. **Disponibilização de nutrientes através da fermentação em estado sólido do bagaço de cana-de-açúcar adicionado de farelo de arroz com diferentes fungos.** 2018. 127f. Trabalho de conclusão de curso. Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha, 2018.

DE WASH, A. P.; FROMENT, G. F. Heat-transfer in packed-beds. **Chemical Engineering Science**, New York, v. 27, n. 3, p. 567 – 576, 1972.

DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; KAUR, S.; VERMA, M. Bioproduction and extraction optimization of citric acid from *Aspergillus niger* by rotating drum type solid-state bioreactor. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 78-84. 2013.

DILIPKUMAR, M.; RAJASIMMAN, M.; RAJAMOHAN, N. Utilization of copra waste for the solid state fermentative production of inulinase in batch and packed bed reactors. **Carbohydrate polymers**, v. 102, p. 662-668. 2014.

DIXON, A. G. The length effect on packed-bed effective heat-transfer parameters. **Chemical Engin. Journal and Biochemical Engin. Journal**, Lausanne, v. 31, n. 3, p. 163 – 173, dec. 1985.

FAO. **Desperdiço de alimentos tem consequências no clima, na água, na terra e na biodiversidade**. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org.br/dacatb.asp>. Acesso em novembro de 2022.

FANAEL, M. A.; VAZIRI, B. M. Modeling of temperature gradients in packed-bed solid-state bioreactors. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 446-451, 2009.

FAVARO, C. P.; BARALDI, I. J.; CASCIATORI, F. P.; FARINAS, C. S. β -Mannanase production using coffee industry waste for application in soluble coffee processing. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 227, 2020.

FIGUEROA-MONTERO, A.; ESPARZA-ISUNZA, T.; CASTAÑEDA SAUCEDO, G.; HUERTA-OCHOA, S.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; FAVELA-TORRES, E. Improvement of heat removal in solid state fermentation tray bioreactors by forced air convection. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, p. 1321–1331. 2011.

FONSECA, R. F. **Sistema de controle de fluxo, temperatura e umidade relativa do ar para processos de fermentação em estado sólido**. 2012. 110f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

GHILDYAL, N. P.; GOWTHAMAN, M. K.; RAGHAVA RAO, K. S. M. S.; KARANTH, N. G. Interaction of transport resistances with biochemical reaction in packed-bed solid-state fermentors: Effect of temperature gradients. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 16, p. 253-257, 1994.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, p. 257-268, 1987.

GOPALAN, N.; NAMPOOTHIRI, K. M. Biotechnological production of enzymes using agro-industrial wastes: economic considerations, commercialization potential, and future prospects. In: **Agro-industrial wastes as feedstock for enzyme production**. Academic Press, p. 313-330, 2016.

GRAJALES, L. M. A. **Desenvolvimento de um biorreator rotativo para produção de enzimas celulolíticas por fermentação em estado sólido**. 2014. 157f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2014.

IGNÁCIO, E. O. **Produção de lipase por fermentação em estado sólido em biorreator de leito fixo**. 2013. 66f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2013.

JABASINGH, S.; NACHIYAR, C. Utilization of pretreated bagasse for the sustainable bioproduction of cellulase by *Aspergillus nidulans* MTCC344 using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**. v. 34, p. 1564–71. 2011.

KATAYAMA, E. T. **Produção de coquetel enzimático rico em endoglucanase termoestável em biorretor de leite empacotado e sua aplicação na obtenção de nanocelulose**. 2021. 121f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - PPG-EQ/UFSCar, São Carlos, 2021.

LAURENTINO, C. L. **Transferência de calor em leitos fixos com aplicação em reatores de fermentação em estado sólido**. 2007. 105f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2007.

MAHMOOD, R. T.; ASAD, M. J.; MEHBOOB, N.; MUSHTAQ, M.; GULFRAZ, M.; ASGHER, M; MINHAS, N. M.; HADRI, S. H. Production, purification, and characterization of exoglucanase by *Aspergillus fumigatus*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v. 170, p. 895–908. 2013.

MARQUARDT, D. W.; An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. **SIAM - J. Appl. Math.**, v. 11, p. 431-441, 1963.

MARTINS, D. A. B.; DO PRADO, H. F. A.; LEITE, R. S. R.; FERREIRA, H.; DE SOUZA, M. M.; MORETTI, R. D. S. Agroindustrial wastes as substrates for microbial enzymes production and source of sugar for bioethanol production. **INTECH Open Access Publisher**, 2011.

MARZO, C.; DÍAZ, A. B.; CARO, I.; BLANDINO, A. Valorization of agro-industrial wastes to produce hydrolytic enzymes by fungal solid-state fermentation. **Waste Management and Research**, v. 37, n. 2, p. 149–156, 2019.

MILLER, G. L.; Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MITCHELL, D. A.; CUNHA, L. E. N.; MACHADO, A. V. L.; LUZ Jr., L. F. de L.; KRIEGER, N. A model-based investigation of the potential advantages of multi-layer packed beds in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, p. 195-203, 2010.

MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; BEROVIC, M. Solid-state fermentation bioreactors: fundamentals, design and operation. Berlin: **Springer-Verlag**, 2006.

MITCHELL, D. A.; VON MEIEN, O. F.; KRIEGER, N. Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 137-147, 2003.

NAYAK, A.; BHUSHAN, B. An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for food wastes. **Journal of environmental management**, v. 233, p. 352-370, 2019.

OLIVEIRA, S. P.; RODRIGUES, N. A.; CASCIATORI-FRASSATTO, P. A.; CASCIATORI, F. P. Solid-liquid extraction of cellulases from fungal solid-state cultivation in a packed bed bioreactor. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 37, n. 9, p. 1530-1540. 2020.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**. v. 13, p. 81-84. 2003.

PEREIRA, A. S. **Transporte de calor em reator cilíndrico-elíptico de leito fixo via modelo de duas fases em regime permanente**. 2021. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2021.

PEREZ, C. L.; CASCIATORI, F. P.; THOMÉO, J. C. “Strategies for scaling-up packed-bed bioreactors for solid-state fermentation: The case of cellulolytic enzymes production by a thermophilic fungus”. **Chemical Engineering Journal**. v. 361, p. 1142–1151. 2019.

PIROTA, R. D. P. B.; TONELOTTO, M.; DELABONA, P. S.; FONSECA, R. F.; PAIXAO, D. A. A.; BALEEIRO, F. C. F.; BERTUCCI NETO, V.; FARINAS, C. S. Enhancing xylanases production by a new Amazon Forest strain of *Aspergillus oryzae* using solid-state fermentation under controlled operation conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 465–71. 2013.

RODRIGUES, N. A.; **Avaliação experimental de diferentes modos de operação de um biorreator de leito empacotado multicamadas para produção de celulases por cultivo em estado sólido**. 2021. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2021.

SALGADO, J. M.; ABRUNHOSA, L.; VENÂNCIO, A.; DOMÍNGUEZ, J. M.; BELO, I. Enhancing the bioconversion of winery and olive mill waste mixtures into lignocellulolytic enzymes and animal feed by *Aspergillus uvarum* using a packed-bed bioreactor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 42, p. 9306-9314. 2015.

SALOMÃO, G. S. B.; AGNEZI, J. C.; PAULINO, L. B.; HENCKER, L. B.; LIRA, T. S.; TARDIOLI, P. W.; PINOTTI, L. M. Production of cellulases by solid state fermentation using natural and pretreated sugarcane bagasse with different fungi. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 17, p. 1-6. 2019.

SANGSURASAK, P.; MITCHELL, D. A. Incorporation of death kinetics into a 2-D dynamic heat transfer model for solid state fermentation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 64, p. 253-260, 1995.

SANGSURASAK, P.; MITCHELL, D. A. Validation of a model describing twodimensional heat transfer during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 60, p. 739-749, 1998.

SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M.; BACQUET, G.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZÁLEZ, G. Heat transfer simulation in solid substrate fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 35, p. 802-808, 1990.

SILVA, A.; ANDRADE, A. De. Estudo da produção de enzimas pectinolíticas e celulolíticas por fermentação em estado sólido a partir do bagaço de cajá. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 7, n. 2, p. 457-472, 2016.

SKLIVANIOTIS, M.; CASTRO, J. A. A.; MCGREAVY, C. Characteristic features of parametric sensitivity in a fixed-bed heat exchanger. **Chemical engineering science**, v. 43, n. 7, p. 1517-1522, 1988.

SOCCOL, C. R. Aplicações da fermentação no estado sólido na valorização de produtos e resíduos agroindustriais. **Integração pesquisa – indústria no setor agroalimentar**, 1995. Disponível em: <www.cendotec1.org.br/ffantigos/ff04a.pdf>. Acesso em novembro de 2022.

SOCCOL, C. R.; da COSTA, E. S. F.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; & de SOUZA VANDENBERGHE, L. P.; Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52-71, 2017.

THOMÉO, J. C. **Análise experimental dos efeitos de entrada térmicos sobre os coeficientes de transferência de calor em leito fixo**. 1990. 117f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - PPG-EQ/UFSCar, São Carlos, 1990.

THOMÉO, J. C. **Transferência de calor em leito fixo: o modelo a dois parâmetros tradicional revisitado**. 1995. 146f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - PPG-EQ/UFSCar, São Carlos, 1995.

UMSZA-GUEZ, M. A. **Produção de poligalacturonase em fermentação em estado sólido pelo fungo *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 em escala de frascos e bioreator de leito fixo**. 2009. 106f. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2009.

VASEGHI, Z.; NAJAFPOUR, G. D.; MOHSENI, S.; MAHJOUR, S. Production of active lipase by *Rhizopus oryzae* from sugarcane bagasse: solid state fermentation in a tray bioreactor. **International journal of food science & technology**, v. 48, n. 2, p. 283-289, 2013.

VICCINI, G.; MITCHELL, D. A.; BOIT, S. D.; GERN, J. C.; ROSA, A. S.; COSTA, R. M.; DALSENTER, F. D. H.; VON MEIEN, O. F.; KRIEGER, N. Analysis of growth kinetic profiles in solid-state fermentation. **Food Technology Biotechnology**, v. 39, 271-294, 2001.

ZANELATO, A. I. **Produção de enzimas celulolíticas por fermentação em estado sólido em bioreator de leito fixo**. 2011. 116f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

ZANELATO, A. I.; SHIOTA, V. M.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; THOMÉO, J. C. Endoglucanase production with the newly isolated *Myceliophthora sp.* I-1D3b in a packed bed solid state fermentor. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 1536-1544, 2012.

APÊNDICE A – PROGRAMA EM FORTRAN PARA ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS – PARTE 1

```
C
C
C   Este programa estima os parametros (hw e kr) do modelo adotado
C   JA ESTA COM MINIMOS QUADRADOS PONDERADOS E COM
C   100 TERMOS
C   *****
C
C   DIMENSION X(500),B(50),DX(500,50),W(200),Y(50,90),YC(50,90),
C   / A(50,50),D(50,50),Z(50),AUX(50,50),DB(50),BC(50),YCC(500),
C   / LKINV(500),MKINV(500),H(50),BX(50),BM(50)
C   CHARACTER*12 NOME,NRESP
C   COMMON/AA/NOME
C   COMMON/B/ANI,IDER,EPS,ITMAX
C   WRITE(*,*) ' ENTRE COM O NOME DO ARQUIVO DE DADOS '
C   READ(*,987) NOME
987 FORMAT(A)
C
C   OPEN(UNIT=9,FILE=NOME,STATUS='OLD')
C
C   WRITE(*,*) ' ENTRE COM O NOME DO ARQUIVO DE RESPOSTAS '
C   READ(*,987) NRESP
C
C   OPEN(UNIT=8,FILE=NRESP,STATUS='NEW')
C
C   WRITE(8,*) ' ---- PROGRAMA MARQTRT---- '
C   WRITE(8,*) ' MODELO A 2 PARAMETROS - SEM DISPERSAO AXIAL '
C   M   = NUMERO DE PARAMETROS A SEREM AJUSTADOS
C   NX  = NUMERO DE PONTOS EXPERIMENTAIS
C   NVAR = NUMERO DE VARIAVEIS INDEPENDENTES DO MODELO
C   ANI  = CONSTANTE DE CORRECAO DA PROCURA DO METODO DE
MARQUARDT
C   RECOMENDA-SE ENTRE 2 E 5
C   IDER = CHAVE PARA CALCULO DAS DERIVADAS USADAS NO JACOBIANO
C   SE IDER=1, DERIVADA ANALITICAMENTE (NESTE CASO O USUARIO
C   DEVE FORNECER AS EXPRESSOES NA SUBROTINA ADERIV)
C   SE IDER=2, DERIVADA NUMERICAMENTE
C   EPS  = PRECISAO ESTABELECIDADA PARA FIM DA PROCURA, E' COMPARADA
C   COM (DB/B); RECOMENDA-SE EPS=1E-05
C   ITMAX = NUMERO MAXIMO DE ITERACOES PARA O CASO DA PROCURA
DO
C   MINIMO SE FRUSTRADA
C   B(I) = VALOR INICIAL DOS PARAMETROS (ESTIMATIVA)
C   KREST = CHAVE PARA RESTRICAO NA PROCURA
C   SE KREST=1, COM RESTRICAO
C   E SE KREST=2, SEM RESTRICAO
C   BM(I) = VALOR MINIMO DOS B(I),RESTRICAO
```

```

C   BX(I) = VALOR MAXIMO DOS B(I),RESTRICAO
C   Y(IL,J) = VALOR DA VARIABEL DEPENDENTE J NO PONTO II
C   X(IL,K) = VALOR DA VARIABEL INDEPENDENTE K NO PONTO II
READ(9,*) M,NX,NVAR
WRITE(*,*) ' NUMERO DE PARAMETROS DO MODELO:      M = ',M
WRITE(*,*) ' NUMERO DE VARIABEIS INDEPENDENTES:  NVAR = ',NVAR
WRITE(*,*) ' NUMERO DE PONTOS EXPERIMENTAIS:     NX = ',NX
WRITE(*,*) ' -----'
WRITE(*,*) ' -----'
WRITE(*,*) ' PONTOS EXPERIMENTAIS -----'
WRITE(*,*) ' VAR.INDEP.      VAR.DEP.'
N=NX
MM=M*M
CALL PRINC(M,NVAR,NX,N,MM,X,B,DX,W,Y,YC,A,D,Z,AUX,DB,
/ BC,YCC,LKINV,MKINV,H,BX,BM)
STOP
END
C
C*****
C
SUBROUTINE PRINC(M,NVAR,NX,N,MM,X,B,DX,W,Y,YC,A,D,Z,AUX,DB,
/ BC,YCC,LKINV,MKINV,H,BX,BM)
DIMENSION X(NX,NVAR),B(M),DX(N,M),W(N),Y(NX),YC(NX),A(M,M)
/,D(M,M),Z(M),AUX(M,M),DB(M),BC(M),YCC(N),LKINV(MM),MKINV(MM)
/,H(M),BX(M),BM(M)
COMMON/B/ANI,IDER,EPS,ITMAX
COMMON/A/T0,TW,TETAC(50),TETA(50),RW,RWDP,NTERMOS,GCP
CHARACTER*12 NOME
COMMON/AA/NOME
C----- LEITURA DAS VARIABEIS (TEMPERATURA, R , Z)
DO 100 I=1,NX
100 READ(9,*) Y(I),(X(I,IVAR),IVAR=1,NVAR)
WRITE(*,*)'*** MINIMOS QUADRADOS PONDERADOS? ***'
WRITE(*,*)'*** SIM DIGITE 1 ***'
WRITE(*,*)'*** NAO DIGITE 0 ***'
READ(*,*) MINP
IF(MINP.NE.1) GO TO 1111
DO 10 I=1,N
10 READ(9,*) W(I)
GO TO 1112
1111 CONTINUE
DO 12 I=1,N
12 W(I)=1.
1112 CONTINUE
DO 13 I=1,M
13 H(I)=1.
DO 400 I=1,NX
400 WRITE(*,302) I,Y(I),(X(I,IVAR),IVAR=1,NVAR)
WRITE(*,112)
112 FORMAT(1X,'---')

```

```

C----- REDEFINICAO DAS VARIAVEIS-----
C ----- ADIMENSIONALIZACAO DA TEMPERATURA
C -----  $Y(IJK) = (T-T0)/(TW-T0)$ 
C ----- ADIMENSIONALIZACAO DA POSICAO RADIAL E AXIAL
C -----  $X(IJK,1) = R/RW$  IJK=1,NX
C -----  $X(IJK,2) = Z/RW$  IJK=1,NX
      READ(9,*) T0,TW,RW
      DO 199 IJK=1,NX
      TETA(IJK)=(Y(IJK)-T0)/(TW-T0)
      X(IJK,2)=X(IJK,2)/RW
199 X(IJK,1)=X(IJK,1)/RW
      WRITE(*,*) '--- VARIAVEIS ADIMENSIONAIS ----'
      DO 411 I=1,NX
411 WRITE(*,302) I,Y(I),(X(I,IVAR),IVAR=1,NVAR)
      WRITE(*,112)
211 CONTINUE
      READ(9,*) REY,DP,RW
      RWDP=RW/DP
C----- CHUTE INICIAL -----
      READ(9,*) (B(I),I=1,M)
      WRITE(*,*)'*** CHUTE INICIAL ***'
      WRITE(*,*)' HW = ',B(1)
      WRITE(*,*)' KR = ',B(2)
      WRITE(8,*)'*** CHUTE INICIAL ***'
      WRITE(8,*)' HW = ',B(1)
      WRITE(8,*)' KR = ',B(2)
      READ(9,*) KREST
      IF(KREST.EQ.0) GO TO 80
      READ(9,*) (BX(I),I=1,M)
      READ(9,*) (BM(I),I=1,M)
80 CONTINUE
C----- PARAMETROS DO MARQUARDT -----
      READ(9,*) ANI,EPS,ITMAX
      WRITE(*,*) ' ANI = ',ANI
      WRITE(*,*) ' EPS = ',EPS
      WRITE(*,*) ' ITMAX = ',ITMAX
      WRITE(*,*) ' -----'
      M=2
      MM=M*M
      INDEP=NVAR
      IDER=2
      WRITE(*,*) ' IDER = 2 .... JACOBIANO CALCULADO NUMERICAMENTE'
C ANI=5.
C EPS=1.E-05
C ITMAX=50
      WRITE(*,*)'*** ENTRE COM O NUMERO DE TERMOS DA SOMATORIA ***'
      READ(*,*) NTERMOS
      IPR=1
      VISC=0.018E-03
      CP=1050.

```

```

RHOG=1.187
PR=0.7
AREA=3.1416*(RW**2)
G=REY*VISC/DP
GCP=G*CP
CALL MARQ(X,NX,B,M,Y,YC,N,IDER,EPS,ANI,H,W,ITMAX,INDEP,IPR,
/Fl,DX,A,D,Z,AUX,DB,BC,YCC,LKINV,MKINV,MM,BX,BM,KREST)
WRITE(*,*) '=====
WRITE(*,987) NOME
987 FORMAT(1X,' O ARQUIVO DE DADOS UTILIZADO FOI :',2X,A)
HW=B(1)
AKR=B(2)
BI=HW*RW/AKR
GAMA=AKR/(GCP*RW)
WRITE(*,*) '=====
WRITE(*,*) '          REP = ',REY
WRITE(*,*) ' BIW  = ',BI
WRITE(*,*) ' GAMA  = ',GAMA
WRITE(*,*) ' HW (W/M2K) = ',HW
WRITE(*,*) ' KR (W/MK)  = ',AKR
WRITE(*,*) '=====
RES=0.
REST=0.
DO 4224 I=1,NX
DIF=TETA(I)-TETAC(I)
RES=RES+DIF*DIF
DIFT=Y(I)-YC(I)
C
C CALCULO DA FUNCAO F
C
SQT=(YC(I)*YC(I))/M
REST=REST+DIFT*DIFT
4224 SQM=REST/(NX-M)
FCALC=SQT/SQM
WRITE(*,*) ' FCALC =          ',FCALC
WRITE(*,*) ' RESIDUO ADIMENSIONAL  = ',RES
WRITE(*,*) ' RESIDUO EM TEMPERATURA = ',REST
WRITE(*,*) ' ENTRE COM UM NUMERO PARA IMPRIMIR Y-EXP E Y-CALC'
WRITE(8,*) '=====
WRITE(8,*) '          REP = ',REY
WRITE(8,*) ' BIW  = ',BI
WRITE(8,*) ' GAMA  = ',GAMA
WRITE(8,*) ' HW (W/M2K) = ',HW
WRITE(8,*) ' KR (W/MK)  = ',AKR
WRITE(8,*) '=====
WRITE(8,*) ' FCALC =          ',FCALC
WRITE(8,*) ' RESIDUO ADIMENSIONAL  = ',RES
WRITE(8,*) ' RESIDUO EM TEMPERATURA = ',REST
WRITE(8,501)
DO 4114 I=1,NX

```

```

4114 WRITE(8,502) (X(I,IVAR),IVAR=1,NVAR),TETA(I),TETAC(I),Y(I),YC(I)
      READ(*,*) KHG
      WRITE(*,303)
      DO 600 I=1,NX
600  WRITE(*,302) I,Y(I),YC(I)
301  FORMAT(1X, 7(E12.5))
302  FORMAT(1X,I4,10(E11.4))
303  FORMAT(/,' PONTO - YEXP - YCALC ')
501  FORMAT(1X,' R/RW  Z/RW  TETA TETAC ',3X,' T  TC')
502  FORMAT(1X,2(F8.4),3X,2(F8.4),3X,2(F6.1))
305  FORMAT(1X,5(F8.1))
      RETURN
      END

```

C

C*****

C

```

      SUBROUTINE MARQ(X,NX,B,M,Y,YC,N,IDER,EPS,ANI,H,W,ITMAX,INDEP,IPR,
/      FI,DX,A,D,Z,AUX,DB,BC,YCC,LKINV,MKINV,MM,BX,BM,KREST)
      DIMENSION X(NX,INDEP),B(M),DX(N,M),W(N),Y(N),YC(N),A(M,M),D(M,M),
/      Z(M),AUX(M,M),DB(M),H(M),BC(M),YCC(N),LKINV(MM),MKINV(MM),BX(M),
/      BM(M)

```

C

```

      NY=N/NX
      ITER=0
      ALAMB0=1.E-02
      TAL=1.E-03
      KPRINT=1
      CALL ETA(X,NX,B,M,YC,NY,INDEP,KPRINT)
      FI=0
      DO 10 I=1,N
10  FI=FI+W(I)*(Y(I)-YC(I))*(Y(I)-YC(I))
      IF(IPR.EQ.1)CALL IMPRIM(B,FI,ITER,M,ALAMB,X,Y,YC,N,NX,INDEP)
      ALAMB=ALAMB0*ANI
115  ALAMBC=ALAMB/ANI
      ITER=ITER+1
      GO TO (120,130),IDER
120  CALL ADERIV(X,NX,B,M,DX,N,INDEP,YC)
      GO TO 140
130  CALL NDER(X,NX,B,M,DX,N,INDEP,YC)
140  DO 150 IL=1,M
      DO 160 IC=1,M
      A(IL,IC)=0.
      D(IL,IC)=0.
      DO 160 II=1,N
160  A(IL,IC)=A(IL,IC)+W(II)*DX(II,IL)*DX(II,IC)
150  D(IL,IL)=A(IL,IL)
      DO 170 IL=1,M
      Z(IL)=0.
      DO 170 I=1,N
170  Z(IL)=Z(IL)+W(I)*(Y(I)-YC(I))*DX(I,IL)

```



```

175 DO 180 IL=1,M
    DO 180 IC=1,M
180  AUX(IL,IC)=A(IL,IC)+ALAMBC*D(IL,IC)
    CALL MINV(AUX,M,DT,LKINV,MKINV,M*M)
    DO 190 IL=1,M
    DB(IL)=0.
    DO 190 I=1,M
190  DB(IL)=DB(IL)+AUX(IL,I)*Z(I)
195 DO 200 IL=1,M
200  BC(IL)=B(IL)+H(IL)*DB(IL)
    IF(KREST.EQ.0) GOTO 205
    DO 203 I=1,M
    IF(BC(I).GT.BX(I)) BC(I)=BX(I)
203  IF(BC(I).LT.BM(I)) BC(I)=BM(I)
205  CALL ETA(X,NX,BC,M,YCC,NY,INDEP,KPRINT)
    FIC=0.
    DO 210 I=1,N
210  FIC=FIC+W(I)*(Y(I)-YCC(I))*(Y(I)-YCC(I))
    IF(IPR.EQ.1)CALL IMPRIM(BC,FIC,ITER,M,ALAMBC,X,Y,YCC,N,NX,INDEP)
    ITESTE=0
    DO 216 I=1,M
    TT=ABS(DB(I))/(TAL+ABS(B(I)))
216  IF(TT.GT.EPS) ITESTE=1
    IF(ITESTE.EQ.0) GO TO 260
    IF(FIC.LE.FI) GO TO 218
    ALAMBC=ALAMBC*ANI
    GO TO 175
218  ALAMB=ALAMBC
    FI=FIC
    DO 220 I=1,M
220  B(I)=BC(I)
    DO 222 I=1,N
222  YC(I)=YCC(I)
    IF(ITER.GT.ITMAX) GO TO 280
    GO TO 115
260  IF(FIC.GT.FI) GO TO 280
    FI=FIC
    ALAMB=ALAMBC
    DO 270 I=1,M
270  B(I)=BC(I)
    DO 275 I=1,N
275  YC(I)=YCC(I)
280  WRITE(*,301)
    WRITE(8,301)
    WRITE(8,*) ' ITERACAO    = ',ITER
    WRITE(8,*) ' RESIDUO    = ',FI
    WRITE(8,*) ' LAMBDA     = ',ALAMB
    WRITE(8,*) ' COEFICIENTES  B(I) '
    WRITE(8,402) (B(I),I=1,M)
    CALL IMPRIM(B,FI,ITER,M,ALAMB,X,Y,YC,N,NX,INDEP)

```

```
IF(ITER-ITMAX) 290,290,300
290 WRITE(*,101)
    WRITE(8,101)
291 S2=FI/FLOAT(N-M)
    WRITE(*,*) ' VARIANCA      S2 = ',S2
    WRITE(*,*) ' DESVIO PADRAO SQRT(S2)= ',SQRT(S2)
    CALL MINV(A,M,DT,LKINV,MKINV,M*M)
    ALFA=0.05
    WRITE(*,*) 'ALFA=',ALFA
    V=N-M
    WRITE(*,*) 'V=',V
    WRITE(*,*) 'ENTRE COM O VALOR DA T-STUDENT'
    READ(*,*) TS
    DO 420 I=1,M
    DO 400 J=1,M
400 A(I,J)=A(I,J)*S2
420 BC(I)=TS*SQRT(A(I,I))
    WRITE(*,*) ' INTERVALO DE CONFIANCA DOS PARAMETROS '
    WRITE(*,402) (BC(I),I=1,M)
    WRITE(*,*) ' MATRIZ COVARIANCA DOS PARAMETROS'
    WRITE(8,*) ' VARIANCA      S2 = ',S2
    WRITE(8,*) ' DESVIO PADRAO SQRT(S2)= ',SQRT(S2)
    WRITE(8,*) ' INTERVALO DE CONFIANCA DOS PARAMETROS '
    WRITE(8,402) (BC(I),I=1,M)
    WRITE(8,*) ' MATRIZ COVARIANCA DOS PARAMETROS'
    DO 425 I=1,M
    WRITE(8,402) (A(I,J),J=1,M)
425 WRITE(*,402) (A(I,J),J=1,M)
    GO TO 310
300 WRITE(*,201)
    WRITE(8,201)
    GO TO 291
101 FORMAT(/,1X,' PRECISAO DOS PARAMETROS ATINGIDA')
201 FORMAT(/,1X,' ----- ATENCAO -----',/,
    1' PRECISAO DOS PARAMETROS NAO ATINGIDA')
301 FORMAT(/,1X,'>>>>>>>>>>>>>>> RESULTADOS FINAIS <<<<<<<<<<<<<')
402 FORMAT(1X,10(E12.5))
310 RETURN
    END
```

C

C*****

C

```
    SUBROUTINE ETA(X,NX,B,M,YC,NY,INDEP,KPRINT)
```

C

```
    DIMENSION P1(100),P2(100)
```

```
    DIMENSION X(NX,INDEP),B(M),YC(NX)
```

```
    COMMON/A/T0,TW,TETAC(50),TETA(50),RW,RWDP,NTERMOS,GCP
```

C----- P1 SAO AS RAIZES DE J1

C----- P2 SAO AS RAIZES DE J0

C

DATA P1/0.000000, 3.831706, 7.015587, 10.173470, 13.323690,
* 16.470630, 19.615860, 22.760090, 25.903670, 29.046830,
* 32.189680, 35.332320, 38.474770, 41.617100, 44.759330,
* 47.901470, 51.043540, 54.185550, 57.327530, 60.469460,
* 63.611360, 66.753230, 69.895070, 73.036900, 76.178700,
* 79.320500, 82.462270, 85.604030, 88.745770, 91.887500,
* 95.029240, 98.170950, 101.312700, 104.454400, 107.596100,
* 110.737800, 113.879400, 117.021100, 120.162800, 123.304500,
* 126.446100, 129.587800, 132.729500, 135.871100, 139.012800,
* 142.154400, 145.296100, 148.437700, 151.579400, 154.721000,
* 157.862700, 161.004300, 164.145900, 167.287600, 170.429200,
* 173.570800, 176.712500, 179.854100, 182.995700, 186.137400,
* 189.279000, 192.420600, 195.562200, 198.703900, 201.845500,
* 204.987100, 208.128700, 211.270300, 214.412000, 217.553600,
* 220.695200, 223.836800, 226.978400, 230.120000, 233.261700,
* 236.403300, 239.544900, 242.686500, 245.828100, 248.969700,
* 252.111300, 255.252900, 258.394600, 261.536200, 264.677800,
* 267.819400, 270.961000, 274.102600, 277.244200, 280.385900,
* 283.527400, 286.669100, 289.810700, 292.952300, 296.093900,
* 299.235500, 302.377100, 305.518700, 308.660300, 311.801900/

C

DATA P2/2.404825, 5.520078, 8.653728, 11.791530, 14.930920,
* 18.071060, 21.211640, 24.352470, 27.493480, 30.634610,
* 33.775820, 36.917100, 40.058410, 43.199790, 46.341190,
* 49.482600, 52.624040, 55.765510, 58.906980, 62.048460,
* 65.189960, 68.331460, 71.472980, 74.614490, 77.756020,
* 80.897550, 84.039090, 87.180630, 90.322170, 93.463710,
* 96.605260, 99.746820, 102.888400, 106.029900, 109.171500,
* 112.313000, 115.454600, 118.596200, 121.737700, 124.879300,
* 128.020900, 131.162400, 134.304000, 137.445600, 140.587200,
* 143.728700, 146.870300, 150.011900, 153.153400, 156.295000,
* 159.436600, 162.578200, 165.719800, 168.861300, 172.002900,
* 175.144500, 178.286100, 181.427700, 184.569200, 187.710800,
* 190.852400, 193.994000, 197.135600, 200.277100, 203.418700,
* 206.560300, 209.701900, 212.843500, 215.985100, 219.126600,
* 222.268200, 225.409800, 228.551400, 231.693000, 234.834600,
* 237.976200, 241.117800, 244.259300, 247.400900, 250.542500,
* 253.684100, 256.825700, 259.967200, 263.108800, 266.250400,
* 269.392000, 272.533500, 275.675100, 278.816700, 281.958300,
* 285.099900, 288.241500, 291.383100, 294.524700, 297.666300,
* 300.807900, 303.949500, 307.091100, 310.232700, 313.374200/

C

C

C DO 400 I=1,NX

C---- SUBROTINA ESCRITA PELO USUARIO-----

C---- COLOQUE AQUI A FUNCAO YC(I)=F(X(I,K),B(J))-----

C 400 CONTINUE

C

C--CALCULA O PERFIL RADIAL DE TEMP. NA SAIDA DO LEITO'

```

HW=B(1)
AKR=B(2)
BI=HW*RW/AKR
GAMA=AKR/(GCP*RW)
DO 20 I=1,NX
20  YC(I)=1.
    DO 30 IJK=1,NTERMOS
    A=P1(IJK)
    BB=P2(IJK)
22  CALL BISSEC(A,BB,1.E-06,IFLAG,BI)
    IF(IFLAG.LT.0) THEN
        WRITE(*,*)' PROBLEMA COM BISECCAO NO INTERVALO',IJK
        WRITE(*,*)' ..... BIOT = ',BI
C      A=A+.0001
C      BB=BB+.0001
C      GO TO 22
        GO TO 555
    END IF
    BETA=(A+BB)/2.
    AUX1=BI/(BI*BI+BETA*BETA)
    AUX2=2./BESSEL(1,BETA)
    AUX3=-BETA*BETA*GAMA
    DO 25 I=1,NX
    TERMO=AUX1*AUX2*EXP(AUX3*X(I,2))*BESSEL(0,BETA*X(I,1))
25  YC(I)=YC(I)-TERMO
30  CONTINUE
C
    DO 31 I=1,NX
    TETAC(I)=YC(I)
31  YC(I)=TETAC(I)*(TW-T0)+T0
C-----
    GO TO 555
    IF(KPRINT.NE.1) GO TO 450
    WRITE(*,133)
133  FORMAT(/,'-----',/)
    DO 420 I=1,NX
420  WRITE(*,301) I,YC(I)
    WRITE(*,133)
555  WRITE(*,101)
450  CONTINUE
301  FORMAT(1X,I7,3X,E12.5)
101  FORMAT(1X,'==')
    RETURN
    END
C
C  SUBROUTINE NDER(X,NX,B,M,DX,N,INDEP,YC)
C
C  DIMENSION X(NX,INDEP),B(M),DX(N,M),YC(N)
C
C  NY=N/NX

```

```

KPRINT=0
CALL ETA(X,NX,B,M,YC,NY,INDEP,KPRINT)
DO 5 IC=1,M
DO 5 IL=1,N
5 DX(IL,IC)=YC(IL)
DO 10 IC=1,M
DELTH=.001*ABS(B(IC))
IF(DELTH.EQ.0.) DELTH=.0001
B(IC)=B(IC)+DELTH
CALL ETA(X,NX,B,M,YC,NY,INDEP,KPRINT)
DO 30 IL=1,N
30 DX(IL,IC)=(YC(IL)-DX(IL,IC))/DELTH
10 B(IC)=B(IC)-DELTH
RETURN
END
C
C SUBROUTINE ADERIV(X,NX,B,M,DX,N,INDEP,YC)
C
C DIMENSION X(NX,INDEP),DX(N,M),YC(N),B(M)
C
C----- SE AS DERIVADAS FOREM CALCULADAS ANALITICAMENTE,
C ENTAO COLOCAR AQUI AS EXPRESSOES NA FORMA:
C DX(IL,IC)= DEL YC(IL)/ DEL B(IC)
C COM IL=I=1,N IC=1,M
C
C DO 100 IL=1,N
C I=IL
100 CONTINUE
RETURN
END
C
C SUBROUTINE IMPRIM(B,FI,ITER,M,ALAMB,X,Y,YC,N,NX,INDEP)
C
C DIMENSION YC(N),B(M),X(NX,INDEP),Y(N)
C
C WRITE(*,*) ' ITERACAO = ',ITER
C WRITE(*,*) ' RESIDUO = ',FI
C WRITE(*,*) ' LAMBDA = ',ALAMB
C WRITE(*,*) ' COEFICIENTES B(I) '
C WRITE(*,101) (B(I),I=1,M)
101 FORMAT(1X,10(E12.5))
C DO 4114 I=1,NX
C4114 WRITE(*,502) (X(I,IVAR),IVAR=1,INDEP),Y(I),YC(I)
C502 FORMAT(1X,2(F8.4),3X,2(F6.1))
RETURN
END
C
C SUBROUTINE MINV(A,N,D,L,MK,NN)
C
C *****INVERTE MATRIX A*****

```

```

DIMENSION A(NN),L(N),MK(N)
D=1.
NK=-N
DO 80 K=1,N
NK=NK+N
L(K)=K
MK(K)=K
KK=NK+K
BIGA=A(KK)
DO 20 J=K,N
IZ=N*(J-1)
DO 20 I=K,N
IJ=IZ+I
10 IF(ABS(BIGA)-ABS(A(IJ)))15,20,20
15 BIGA=A(IJ)
L(K)=I
MK(K)=J
20 CONTINUE
C **** TROCA DE COLUNAS *****
J=L(K)
IF(J-K)35,35,25
25 KI=K-N
DO 30 I=1,N
KI=KI+N
HOLD=-A(KI)
JI=KI-K+J
A(KI)=A(JI)
30 A(JI)=HOLD
C ***** TROCA DE COLUNAS *****
35 I=MK(K)
IF(I-K)45,45,38
38 JP=N*(I-1)
DO 40 J=1,N
JK=NK+J
JI=JP+J
HOLD=-A(JK)
A(JK)=A(JI)
40 A(JI)=HOLD
C ***** DIVIDE COLUNA POR - PIVOT *****
45 IF(BIGA)48,46,48
46 D=0.
RETURN
48 DO 55 I=1,N
IF(I-K)50,55,50
50 IK=NK+I
A(IK)=A(IK)/(-BIGA)
55 CONTINUE
C ***** REDUCAO DA MATRIX *****
DO 65 I=1,N
IK=NK+I

```

```

HOLD=A(IK)
IJ=I-N
DO 65 J=1,N
IJ=IJ+N
IF(I-K)60,65,60
60 IF(J-K)62,65,62
62 KJ=IJ-I+K
A(IJ)=HOLD*A(KJ)+A(IJ)
65 CONTINUE
C ***** DIVIDE LINHAS POR PIVOT *****
KJ=K-N
DO 75 J=1,N
KJ=KJ+N
IF(J-K)70,75,70
70 A(KJ)=A(KJ)/BIGA
75 CONTINUE
D=D*BIGA
C ***** TROCA PIVOT POR RECIPROCO *****
A(KK)=1./BIGA
80 CONTINUE
C ***** TROCA DE COLUNA POR LINHA FINAL *****
K=N
100 K=K-1
IF(K)150,150,105
105 I=L(K)
IF(I-K)120,120,108
108 JQ=N*(K-1)
JR=N*(I-1)
DO 110 J=1,N
JK=JQ+J
HOLD=A(JK)
JI=JR+J
A(JK)=-A(JI)
110 A(JI)=HOLD
120 J=MK(K)
IF(J-K)100,100,125
125 KI=K-N
DO 130 I=1,N
KI=KI+N
HOLD=A(KI)
JI=KI-K+J
A(KI)=-A(JI)
130 A(JI)=HOLD
GO TO 100
150 RETURN
END
FUNCTION BESSEL(N,X)
GO TO (30,40) N+1
C----- FUNCAO DE BESSEL DE ORDEM ZERO J0(X)
30 IF(X.GT.3.) GO TO 35

```

```

XTER=X/3.
XTER2=XTER*XTER
XTER4=XTER2*XTER2
XTER6=XTER4*XTER2
XTER8=XTER6*XTER2
XTER10=XTER8*XTER2
XTER12=XTER10*XTER2
BESSEL=1.-2.2499997*XTER2+1.2656208*XTER4-.3163866*XTER6
BESSEL=BESSEL+.0444479*XTER8-.0039444*XTER10+.00021*XTER12
RETURN
35 A=3./X
A2=A*A
A3=A2*A
A4=A3*A
A5=A4*A
A6=A5*A
F0=.79788456-.00000077*A-.0055274*A2-.00009512*A3+.00137237*A4
F0=F0-.00072805*A5+.00014476*A6
T0=X-.78539816-.04166397*A-.00003954*A2+.00262573*A3-.00054125*A4
T0=T0-.00029333*A5+.00013558*A6
BESSEL=F0*COS(T0)/SQRT(X)
RETURN
C----- FUNCAO DE BESSEL DE ORDEM 1 J1(X)
40 IF(X.GT.3) GO TO 45
XTER=X/3.
XTER2=XTER*XTER
XTER4=XTER2*XTER2
XTER6=XTER4*XTER2
XTER8=XTER6*XTER2
XTER10=XTER8*XTER2
XTER12=XTER10*XTER2
BESSEL=0.5-.56249985*XTER2+.21093573*XTER4-.03954289*XTER6
BESSEL=BESSEL+.00443319*XTER8-.00031761*XTER10+.00001109*XTER12
BESSEL=BESSEL*X
RETURN
45 A=3./X
A2=A*A
A3=A2*A
A4=A3*A
A5=A4*A
A6=A5*A
F1=.79788456+.00000156*A+.01659667*A2+.00017105*A3-.00249511*A4
F1=F1+.00113653*A5-.00020033*A6
T1=X-2.35619449+.12499612*A+.00005650*A2-.00637879*A3
T1=T1+.00074348*A4+.00079824*A5-.00029166*A6
BESSEL=F1*COS(T1)/SQRT(X)
RETURN
END
C
C

```



```

SUBROUTINE BISSEC(A,B,XTOL,IFLAG,BI)
IFLAG=0
FA=FUN(A,BI)
IF (FA*FUN(B,BI).GT.0.) THEN
    IFLAG=-1
    WRITE(*,601)A,B
601  FORMAT(' F(X) TEM O MESMO SINAL NOS DOIS EXTREMOS DO
INTERVALO'
*      ,/,2X,2E15.7)
    RETURN
END IF
ERROR=ABS(A-B)
6  ERROR=ERROR/2.
IF(ERROR.LT.XTOL) RETURN
XM=(A+B)/2.
IF(XM+ERROR.EQ.XM) THEN
    IFLAG=1
    RETURN
END IF
FM=FUN(XM,BI)
IF(FA*FM.GT.0.) THEN
    A=XM
    FA=FM
ELSE
    B=XM
END IF
GO TO 6
END
FUNCTION FUN(X,BI)
FUN=BI*BESSEL(0,X)-X*BESSEL(1,X)
RETURN
END

C
C AJUSTEA.FOR AJUSTEA.FOR
C
C OS ARQUIVOS DEVEM SER BATIDOS ASSIM:
C
C  M,NX,NVAR          2,NX,2
C  T(I),R(I),Z(I)
C  W(I)
C  T0,TW,RW          ,22.5,0.0285
C  REY,DP,RW         REY,0.0031,0.0285
C  HW,KR
C  KREST              1
C  HW-MAX,KR-MAX     1.0E+03,1.0E+03
C  HW-MIN,KR-MIN     1.0E-03,1.0E-03
C  ANI,EPS,ITMAX     5,1.0E-05,20
C  NTERMOS           100
C

```

APÊNDICE B – MODELO PARA ENTRADA DE DADOS PARA ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS

(nº parâmetros, nº pontos experimentais, nº variáveis independentes)

2,5,2

(Temperatura, posição radial, altura do leito)

38.11, 0.0, 0.11

38.49, 0.0175, 0.11

40.22, 0.0364, 0.11

41.90, 0.0513, 0.11

41.88, 0.0598, 0.11

(Tar, Tcamisa, Raio do leito)

24.16, 45.0, 0.065

(Reynolds, diâmetro da partícula, raio do leito)

0.00971, 0.002, 0.065

(chute hp, chute Kr)

10,0.15

(critério de busca - tem 1 máx e 1 mín no intervalo)

1

(máx para hp, máx para Kr)

1.0E+05, 1.0E+05

(mín para hp, mín para Kr)

1.0E-05, 1.0E-05

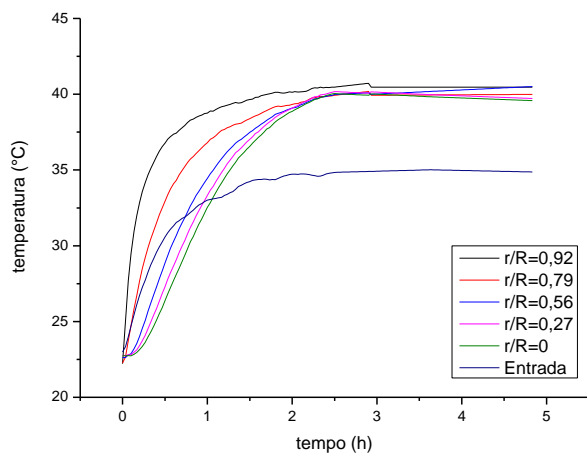
(parâmetros do Marquardt)

5.0, 1.0E-05, 20

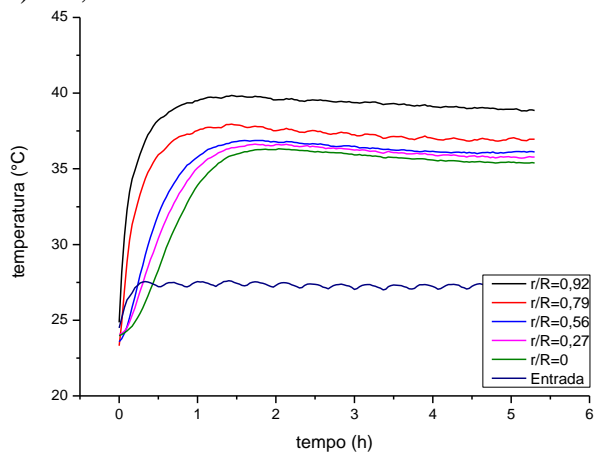
APÊNDICE C – Figura C1. Perfis de temperatura dos ensaios sem cultivo, duplicata.

Fonte: Autoria própria.

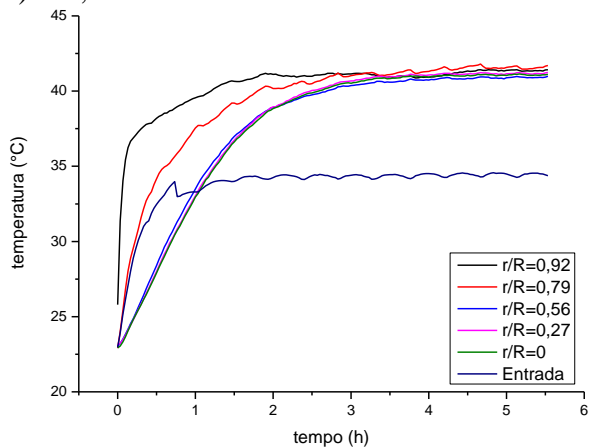
a) CT, 175 L/h



b) CT, 350 L/h



c) CC, 175 L/h



d) CC, 350 L/h

