

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Sérgio Scherrer Thomasi

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE DESEMPENHO DE TRÊS
MODELOS DE BIORREACTORES PNEUMÁTICOS DE
BANCADA

São Carlos / SP – Fevereiro de 2010

Avaliação de parâmetros de desempenho de três modelos de
biorreatores pneumáticos de bancada

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE DESEMPENHO DE TRÊS MODELOS DE BIORREATORES PNEUMÁTICOS DE BANCADA

Sérgio Scherrer Thomasi

Aluno de Pós-Graduação

Prof. Dr. Alberto Colli Badino Jr.

Orientador PPG-EQ/UFSCar

Dissertação de Mestrado
apresentada como parte dos
requisitos necessários para a
obtenção do título de **Mestre em
Engenharia Química**, área de
concentração em **Pesquisa e
Desenvolvimento de Processos
Químicos**.

São Carlos / SP – Fevereiro de 2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T463ap

Thomasi, Sérgio Scherrer.

Avaliação de parâmetros de desempenho de três modelos de biorreatores pneumáticos de bancada / Sérgio Scherrer Thomasi -- São Carlos : UFSCar, 2010.

86 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Bioreatores. 2. Cisalhamento. 3. Streptomyces clavuligerus. I. Título.

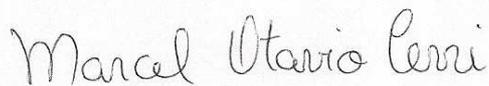
CDD: 660.63 (20ª)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE **SÉRGIO SCHERRER THOMASI** APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 25 DE FEVEREIRO DE 2010.

BANCA EXAMINADORA:



Alberto Colli Badino Júnior
Orientador, UFSCar



Marcel Otávio Cerri
UFSJ



Teresa Cristina Zangrolami
UFSCar

EPÍGRAFE

*“Para a pessoa que tem compreensão, tudo é claro,
tudo é fácil de entender para quem é bem informado.”*

Elogio à Sabedoria

Provérbios 8.9

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida.

Aos meus pais, Lilo e Noemi. *“O pai que tem um filho correto e sábio ficará muito feliz e se orgulhará dele. Faça que seu pai se alegre por causa de você; dê à sua mãe esse prazer.”* Provérbios 23.24-25. Pai, mãe, eu espero estar conseguindo.

Aos Professores Dr. Alberto Colli Badino Jr. e Dr. Marcel Otavio Cerri pela excelente orientação no desenvolvimento deste trabalho e por toda a paciência e amizade demonstrada ao longo desses últimos 2 anos.

A toda minha família: irmão, tios, tias, primos, primas e minhas avós, por estarem sempre perto, mesmo estando a muitos quilômetros de distância. Em especial ao tio Lidiel, à tia Nete e à tia Lilian e filhas, pela importante ajuda que me deram.

À Giovana, por todo amor, toda cumplicidade e por tornar minha vida mais alegre em sua maravilhosa companhia.

Aos colegas de laboratório: Cecília, Luciana, Liliane, Guilherme, Carolina, Juliana, Douglas e Maritza, pelos ensinamentos e pelos muitos agradáveis momentos de risadas e descontração.

A todos os meus amigos de Linhares/ES, de Viçosa/MG e de São Carlos/SP. Vocês são a família que eu escolhi!

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

RESUMO

Biorreatores pneumáticos têm se destacado no campo da biotecnologia devido suas muitas vantagens funcionais, mostrando-se mais promissores do que o modelo convencional tipo tanque agitado e aerado. Parâmetros como retenção gasosa global (ϵ_G), coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) e velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) devem ser analisados como critérios de desempenho desses modelos de biorreatores, para o melhor entendimento da hidrodinâmica dos mesmos. Entretanto, não existem estudos na literatura que comparem biorreatores pneumáticos em termos de condições de cisalhamento. Dessa forma, o objetivo principal deste estudo foi aplicar uma metodologia recente para quantificar e comparar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em três biorreatores pneumáticos: coluna de bolhas, airlift tipo “split-cylinder” e airlift de cilindros concêntricos. O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) foi escolhido como parâmetro característico para determinar $\dot{\gamma}_m$. Correlações de $\dot{\gamma}_m$ em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e das propriedades reológicas do fluido (índice de consistência, K , e índice de comportamento de escoamento, n) foram obtidas para cada modelo de biorreator pneumático estudado. Além disso, foram obtidas correlações entre ϵ_G , U_{gs} e viscosidade (μ) para fluidos Newtonianos e viscosidade aparente (μ_{ap}) para fluidos não-Newtonianos. De forma geral, a retenção gasosa global (ϵ_G) foi maior em fluidos não-Newtonianos. Os valores de $\dot{\gamma}_m$ estimados pela metodologia proposta estão dentro de uma faixa média de valores calculados por correlações clássicas. As correlações propostas foram utilizadas para prever $\dot{\gamma}_m$ durante cultivos de *Streptomyces clavuligerus* realizadas sob a mesma vazão específica de ar (3,5 vvm) nos três diferentes tipos de biorreatores pneumáticos. Os menores valores de $\dot{\gamma}_m$, relacionados aos maiores valores de índice de consistência (K), foram encontrados para o biorreator coluna de bolhas, e o maiores valores de $\dot{\gamma}_m$, relacionados aos menores valores de K , foram encontrados para o biorreator airlift de cilindros concêntricos. Valores intermediários foram encontrados para o biorreator airlift tipo “split-cylinder”. Os resultados mostraram que altos valores de $\dot{\gamma}_m$ afetam a saúde estrutural dos micélios, devido à ruptura das hifas vegetativas.

ABSTRACT

Due to the large number of functional advantages, pneumatic bioreactors have drawn attention in the biotechnology field, being more promising than stirred and aerated tank bioreactors. Parameters such as global gas hold-up (ϵ_G), volumetric oxygen transfer coefficient (k_{La}) and average shear rate ($\dot{\gamma}_m$) must be considered as performance criteria of these types of bioreactors to provide a better understanding of their hydrodynamics. However, there are no works in literature which compare the performance of bioreactors in terms of shear conditions. Therefore, the aim of the present work was to apply a method proposed in recent literature to evaluate the average shear rate ($\dot{\gamma}_m$) in three pneumatic bioreactors of 5-dm³ working volume: bubble column, split airlift and concentric-tube airlift. The volumetric oxygen transfer coefficient (k_{La}) was chosen as the appropriate characteristic parameter to assess the average shear rate ($\dot{\gamma}_m$) in this methodology. Correlations for $\dot{\gamma}_m$ as a function of superficial gas velocity in the riser region (U_{gs}) and rheological fluid properties (consistency index, K , and flow index, n) were obtained for each model of pneumatic bioreactor studied. Moreover, correlations between ϵ_G , U_{gs} and viscosity (μ) (for Newtonian fluids) and apparent viscosity (μ_{ap}) (for non-Newtonian fluids) were performed. In general, global gas hold-up (ϵ_G) was higher for non-Newtonian fluids. The $\dot{\gamma}_m$ values estimated by the proposed methodology lay within the range of values calculated by classical correlations. The proposed correlations were utilized to predict the $\dot{\gamma}_m$ during three *Streptomyces clavuligerus* cultivations carried out at the same specific air flow rate (3.5 vvm) in the different types of pneumatic bioreactors. The lowest values of $\dot{\gamma}_m$ related to the highest values of consistency index (K) were found for the bubble column bioreactor, and the highest values of $\dot{\gamma}_m$ related to the lowest values of K were found for the concentric-tube airlift bioreactor. Intermediate values were found for the split airlift bioreactor. The results showed that high $\dot{\gamma}_m$ values affect the structural health of the mycelia by rupture of the hypha.

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Objetivo	4
3. Revisão Bibliográfica	5
3.1. Biorreatores	5
3.1.1. Biorreatores convencionais	6
3.1.2. Biorreatores pneumáticos	8
3.1.2.1. Airlift	8
3.1.2.2. Coluna de Bolhas	14
3.2. Aspectos hidrodinâmicos em biorreatores pneumáticos	15
3.2.1. Velocidade superficial do gás	15
3.2.2. Retenção Gasosa	16
3.2.3. Transferência de oxigênio	16
3.2.4. Reologia e velocidade de cisalhamento	21
3.3 <i>Streptomyces clavuligerus</i>	25
3.4 Estudos relacionados à velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreatores	26
4. Materiais e Métodos	31
4.1. Fluidos	31
4.2. Biorreatores	32
4.3. Medidas do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$)	34
4.4. Software para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio	36
4.5. Medida da retenção gasosa global (ϵ_G)	39
4.6. Avaliação da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$)	39
4.7. Influência da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em cultivos de <i>Streptomyces clavuligerus</i>	41
4.7.1. Microrganismo	42
4.7.2. Meios de cultura	42
4.7.3. Cultivos	43

5. Resultados e discussão.....	45
5.1. Retenção gasosa global (ϵ_G)	45
5. 2. Transferência de oxigênio	53
5.2.1. Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) utilizando água destilada como fase líquida.....	53
5.2.2. Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e da viscosidade (μ) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La).....	57
5.2.3. Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e do índice de consistência do fluido (K) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La).....	61
5.3. Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$).....	65
5.4. Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em cultivos de <i>Streptomyces</i> <i>clavuligerus</i>	72
6. Conclusão	77
7. Referências bibliográficas	79

1. INTRODUÇÃO

Por definição, biorreatores são aparelhos empregados para converter matérias primas em produtos utilizando-se microrganismos, células animais ou vegetais ou enzimas. Esses equipamentos são capazes de manter um processo natural, como por exemplo, a biossíntese de um antibiótico em condições adequadas, com controle de pH, temperatura, nutrientes e oxigênio dissolvido, propiciando assim que as células se desenvolvam e produzam o metabólito secundário de interesse.

Embora existam muitos tipos distintos de biorreatores, industrialmente o maior uso é restrito a alguns modelos particulares: os convencionais tipo tanque agitado e aerado, sendo este o responsável por 93% das aplicações, e os não convencionais pneumáticos tipo coluna de bolhas e tipo airlift (SCHÜGERL, 1987).

Entretanto, os biorreatores pneumáticos têm merecido destaque no campo da biotecnologia. Isso se deve a alguns fatores como, por exemplo: baixo consumo de energia, capacidade relativamente alta de transferir oxigênio para o meio de cultura, ausência de partes móveis e facilidade de construção, operação e aumento de escala. Por isso, esses biorreatores têm se mostrado mais promissores que o modelo convencional.

Enquanto um biorreator tipo coluna de bolhas trabalha exclusivamente com gaseificação, os modelos denominados airlift geram circulação do meio reacional através dessa gaseificação sendo denominado biorreatores com circulação ou "loop reactors". Os biorreatores airlift têm características intermediárias entre o tipo coluna de bolhas e o tipo tanque agitado e aerado. São aplicados com sucesso em processos com necessidade de transferência de massa eficiente como em cultivos envolvendo microrganismos aeróbios que geram caldos de fermentação não-Newtonianos viscosos.

Biorreatores airlift e coluna de bolhas têm sido amplamente estudados e comparados em relação aos seus desempenhos em termos de hidrodinâmica e aspectos de transferência de massa (MENZEL et al. 1990, ZHAO et al. 1994, BECKER et al. 1999, MIRÓN et al. 2000, VIAL et al. 2001, VASCONCELOS et al. 2003 e CERRI et al. 2009). Estudos também voltaram a atenção para a utilização desses biorreatores em cultivos de microrganismos filamentosos que geram caldos

de fermentação com comportamento tipicamente não-Newtoniano (MIRÓN et al. 2000, SUH et al. 1991 e NAGASE et al. 1998). Porém, estudos relacionados com a estimativa e comparação das condições de cisalhamento em diferentes biorreatores pneumáticos envolvendo fluidos não-Newtonianos não são encontrados na literatura.

Parâmetros como coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) e velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) devem ser analisados como critérios de desempenho desses modelos de biorreatores (CHISTI, 1989), para o melhor entendimento da hidrodinâmica e da capacidade de transferência de massa dos mesmos. Na maioria dos processos químicos, a velocidade de cisalhamento não é um fator a ser considerado, mas em processos bioquímicos, no entanto, é um parâmetro particularmente importante. Excesso de cisalhamento pode levar à perda de viabilidade celular, até mesmo a sua lise ou influenciando na morfologia e no crescimento celular devido às forças hidrodinâmicas que as células são expostas (CONTRERAS et al. 1999). Mas, uma velocidade de cisalhamento baixa implica numa baixa transferência de oxigênio da fase gasosa para a líquida, notadamente em fermentações aeróbicas cujo crescimento celular eleva a demanda de oxigênio do processo e simultaneamente a viscosidade aparente do caldo. Com uma baixa transferência de oxigênio, fatalmente o crescimento será limitado, assim como a própria biossíntese do produto esperado (BADINO et al., 2004).

Dessa forma, fica claro que a determinação da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) é essencial para o desenvolvimento e operação de biorreatores usados no cultivo de células sensíveis ao cisalhamento. Apesar da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) ser um importante parâmetro em biorreatores, ela não é tão fácil de ser caracterizada. A literatura clássica informa que, de maneira geral, biorreatores pneumáticos fornecem um ambiente de cisalhamento relativamente baixo. Entretanto, essa afirmação deveria ser baseada em resultados quantitativos, uma vez que $\dot{\gamma}_m$ depende das condições de operação, da geometria do biorreator e dos parâmetros reológicos do fluido (CERRI et al. 2009). Portanto, é necessário utilizar uma metodologia adequada para determinar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) de maneira que seja possível quantificar e comparar as condições de cisalhamento em diferentes modelos de biorreatores pneumáticos que, mesmo tendo chamado atenção devido às suas vantagens

funcionais, são equipamentos que apresentam necessidade de mais estudos, principalmente de caráter comparativo e que levem em consideração um intervalo maior de condições operacionais. Assim, parâmetros poderão ser estabelecidos, principalmente em sistemas sensíveis ao cisalhamento, de modo a maximizar a produção de produtos de interesse nesses equipamentos.

2. OBJETIVO

Devido à falta de trabalhos na literatura que comparem o desempenho de biorreatores pneumáticos em termos de condições de cisalhamento, o objetivo geral deste estudo foi avaliar e comparar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em três modelos de biorreatores pneumáticos: coluna de bolhas, airlift “split-cylinder” e airlift de cilindros concêntricos com 5 litros de volume útil.

Para tal foram cumpridos os seguintes objetivos específicos:

- obtenção de equações de previsão da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) nos três modelos de biorreatores para fluidos não-Newtonianos com base em metodologia recentemente proposta na literatura.

- realização de cultivos de *Streptomyces clavuligerus* nos três diferentes modelos de biorreatores de modo a aplicar as equações de previsão propostas e comparar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) e a sua influência no crescimento celular durante as fermentações.

Espera-se com os resultados deste projeto, contribuir para o desenvolvimento dos processos fermentativos em biorreatores pneumáticos, promovendo dessa forma avanços no entendimento da influência da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) na produção de metabólitos de interesse.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biorreatores

Biorreatores são equipamentos utilizados para converter matérias-primas em produtos utilizando microrganismos, células animais, vegetais ou enzimas como biocatalisadores. Um ambiente adequado é algo fundamental para se obter um considerável crescimento celular quando se trabalha com cultivos de microrganismos. Somente dessa forma é possível obter a produção desejada de qualquer que seja o metabólito visado. Um biorreator é capaz de promover esse ambiente propício ao crescimento celular e à produção de metabólitos de interesse, fornecendo condições adequadas como temperatura, pH, substratos, sais nutricionais, vitaminas e oxigênio para organismos aeróbios (SCHÜGERL, 1987).

Dentre os vários modelos de biorreatores disponíveis, os mais amplamente utilizados industrialmente são os convencionais tipo tanque agitado e aerado e os pneumáticos tipo coluna de bolhas e airlift. Baseados nesse argumento, muitos estudos avaliaram cultivos de microrganismos nesses mesmos tipos de biorreatores nos últimos anos (MIRÓN et al., 2000; DOMINGUES et al., 2001; SÁNCHEZ et al., 2002; ROSA, 2002; CASSIANO FILHO, 2003; ROSA et al., 2005; CERRI, 2005; CAMPESI et al., 2009).

A homogeneização é outro fator importante quando se trabalha com fermentação em biorreatores, pois a falta de um nutriente às células pode limitar de forma grave o crescimento do microrganismo e a biossíntese do produto de interesse, quando for o caso. Além disso, com uma adequada homogeneização é possível obter uma apropriada dispersão dos sólidos insolúveis, a equalização de temperatura e nutrientes em todo o reator, bem como a transferência de oxigênio do meio gasoso para o meio líquido. Em muitos processos fermentativos, a oxigenação do meio também é uma característica extremamente importante, por ser vital à algumas espécies de microrganismos. Por outro lado, este é freqüentemente o fator limitante em uma fermentação, pois sua solubilidade é muito baixa, equivalente a 254 μM à 20°C, 231 μM à 25°C e 190 μM à 37°C. Mesmo a diferentes temperaturas, essa solubilidade varia pouco e constitui um valor médio relativamente baixo, quantidade esta que pode ser totalmente consumida em apenas alguns segundos

num cultivo com alta concentração celular. Logo, a transferência de massa num biorreator deve ser contínua e eficaz de modo a suprir continuamente a demanda de oxigênio requerida pelas células (CERRI, 2009).

Conforme já descrito anteriormente, dentre os modelos de biorreatores empregados em processos biotecnológicos, os mais comumente utilizados, independente da escala, são os convencionais tanque agitado e aerado e os pneumáticos coluna de bolhas e airlift.

3.1.1 Biorreatores convencionais

Esse tipo de biorreator é conhecido como fermentador convencional tipo tanque agitado e aerado. A agitação é realizada por meio de impelidores conectados a um eixo giratório e aerado pela parte inferior do biorreator. O fermentador tipo tanque agitado é o tipo mais importante biorreator para processos industriais. A agitação do biorreator tipo tanque agitado tem várias funções, como as transferências de quantidade de movimento, calor e massa, e homogeneização das suspensões. Asenjo e Merchuk (1994) mostraram que a otimização de tarefas específicas num biorreator convencional resultou na proposta de diferentes tipos de impelidores, mas o modelo que faz a melhor homogeneização do conteúdo, preservando uma boa transferência de oxigênio é o tipo turbina de seis pás planas ou tipo Rushton, com aspensor de gás exatamente abaixo do impelidor. Na **Figura 3.1** é possível visualizar um biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado em operação.

Este tipo de biorreator, normalmente apresenta altura do líquido próxima ao diâmetro do tanque, sendo agitado por um ou mais impelidores tipo turbina com seis pás planas. Na seqüência, a **Figura 3.2** mostra a parte interna de um biorreator convencional, que opera com dois impelidores desse modelo. Ainda é possível observar, nessa mesma figura, um sistema de chicanas, diametralmente opostas, com o objetivo de evitar a formação de vórtice durante a agitação mecânica e promover a mistura. O aspensor de gás fica localizado logo abaixo do impelidor inferior.



Figura 3.1 – Vista externa de um biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado de bancada em operação



Figura 3.2 – Vista interna de um biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado com dois impelidores tipo turbina de seis pás planas (modelo Rushton)

3.1.2 Biorreatores pneumáticos

Uma das características principais dos biorreatores pneumáticos é a ausência de impelidores, e, portanto, ausência de agitação mecânica. Dessa forma, se simplifica o processo de construção e a operação deste tipo de biorreator. Além disso, sem agitação mecânica, esse modelo de biorreator apresenta considerável economia de energia (CHISTI e MOO-YOUNG, 1989). Por outro lado, exigem vazões de aeração mais elevadas, a fim de manter um bom nível de agitação e transferência de oxigênio. O emprego de biorreatores pneumáticos é realizado atualmente com maior frequência em processos fermentativos e no tratamento de águas residuárias.

Nesses modelos de biorreatores a homogeneização e agitação são realizadas apenas pela injeção de gás. Esses equipamentos têm se tornado interessantes na área da biotecnologia frente ao modelo convencional tipo tanque agitado e aerado, exatamente por conta de suas altas transferências de oxigênio aliada à facilidade no projeto e construção destes aparelhos.

Alguns estudos focaram a atenção exclusivamente em biorreatores pneumáticos avaliando esses equipamentos em termos de aspectos de hidrodinâmica, transferência de massa e da utilização desses aparelhos no cultivos de microrganismos filamentosos que exibem comportamento não-Newtoniano. (MENZEL et al., 1990; SUH et al., 1991; ZHAO et al., 1994; NAGASE et al., 1998; BECKER et al., 1999; MIRÓN et al., 2000; VIAL et al., 2001; VASCONSELOS et al., 2003; CERRI et al., 2009).

Dentre os vários tipos de biorreatores pneumáticos onde a aeração é realizada pela injeção de ar ou por outros gases através de um aspersor localizado na base, destacam-se os biorreatores airlift e coluna de bolhas.

3.1.2.1 Airlift

O equipamento clássico para difusão do gás na fase líquida, especialmente em fermentação aeróbia é o tipo tanque agitado e aerado, na qual o ar é difundido por agitação mecânica. Porém esse tipo de fermentador apresenta uma série de desvantagens, especialmente em processos de grande escala, como

por exemplo, alto gasto de energia e alta complexidade de construção. Estas desvantagens são superadas pelo biorreator airlift, pois não apresenta partes móveis, na qual a difusão gás-líquido é pela entrada de ar por aspensor pneumáticamente. Esse equipamento é um tipo especial de biorreator para fermentação aeróbia. Para este sistema é importante promover a transferência de massa aumentando a área interfacial (ONKEN et al., 1983).

O meio de cultura nesse tipo de biorreator é movido de baixo para cima por bolhas de ar injetadas no fundo do vaso de cultivo. Esse modelo apresenta bons resultados, uma vez que há uma boa aeração e homogeneização do meio de cultura e pouco dano mecânico ao material em cultivo (PARK et al., 1989). Na **Figura 3.3** é possível visualizar um biorreator airlift em operação.



Figura 3.3 – Vista externa de um biorreator airlift de bancada em operação

Os biorreatores “airlift” podem ser empregados em cultivos com caldos mais viscosos, ao contrário dos biorreatores tipo torre ou coluna de bolhas, além de não apresentarem grandes problemas com relação à coalescência de bolhas. No entanto, a transferência de massa entre os elementos de fluido é menor que a observada nos biorreatores convencionais e, dependendo da escala, o período transiente de circulação desde a base até o topo e novamente do topo até a base pode ser importante (CHISTI, 1989b). Os biorreatores pneumáticos tipo airlift têm

atraído atenção no campo da biotecnologia por aspectos como a sua alta transferência de oxigênio, obtida através de um relativo baixo consumo de potência e baixas tensões de cisalhamento (CHISTI, 1989b). A literatura clássica, afirma que, por proporcionar condições de baixo cisalhamento, os biorreatores “airlift” com circulação interna são a melhor escolha em processos nos quais a tensão de cisalhamento é o fator determinante do bom desempenho do mesmo (CHISTI, 1989b).

Duas classes básicas de biorreatores “airlift” podem ser distinguidas: os biorreatores airlift de circulação interna e os airlift de circulação externa (CHISTI, 1989).

Os biorreatores airlift de circulação externa são equipamentos onde as regiões de subida e de descida de líquido ocupam dois tubos verticais conectados por seções horizontais próximas ao topo e à base da coluna do biorreator.

O biorreator airlift com circulação interna é constituído de uma única coluna dividida em duas regiões internas de circulação. Estas regiões são denominadas de subida (“riser”) e de descida (“downcomer”). Os biorreatores airlift de circulação interna, ainda podem ser subdivididos em dois modelos de equipamentos, o airlift tipo “split-cylinder” e o airlift de cilindros concêntricos ou com tubo interno. As regiões de subida (“riser”) e de descida (“downcomer”) para biorreator airlift tipo “split-cylinder” são separadas por uma placa vertical, e o gás é aspergido apenas pela área de seção de uma das regiões definida como “de subida”. Na **Figura 3.4** é possível visualizar um biorreator airlift tipo “split-cylinder” em operação com água destilada.

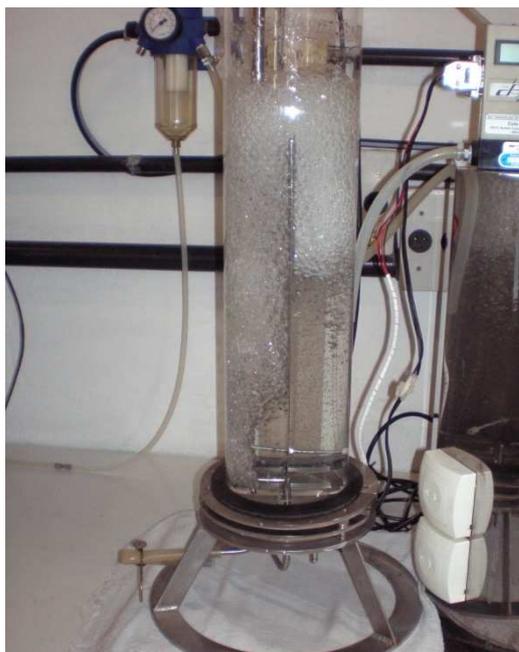


Figura 3.4 – Biorreator airlift de circulação interna tipo “split-cylinder” operando com água destilada

Ganzeveld et al. (1995) avaliaram o uso do biorreator airlift tipo “split-cylinder” no cultivo de células animais dependentes de “microcarregadores”. Meios de cultura com células animais foram simulados com diferentes sólidos, com diferentes densidades e tamanhos de partículas a diferentes vazões de aeração, relevantes em aplicações de cultura de células animais. O modelo de biorreator estudado mostrou ter as características hidrodinâmicas adequadas para o cultivo de células animais, semelhantes às classicamente utilizadas em biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado. Os valores de aeração necessários para alcançar e manter a suspensão dos sólidos estavam dentro dos limites suportados por células animais e, além disso, não houve problema com relação à sedimentação de partículas.

Bai et al. (2001) estudaram alguns aspectos hidrodinâmicos do biorreator airlift tipo “split-cylinder” e mostraram que o coeficiente volumétrico de transferência de O_2 ($k_L a$) diminuiu 20% quando a viscosidade do caldo de fermentação com celulose aumentou de $1,38 \cdot 10^{-3}$ para $3,43 \cdot 10^{-3}$ Pa.s, com um volume de caldo de 41 L. Quando a concentração de celulose foi inferior a $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, a alteração do $k_L a$ foi mínima. Porém, a uma concentração de $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, o valor de $k_L a$ diminuiu 56%.

Vega-Estrada et al. (2005) avaliaram os efeitos da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e da velocidade de entrada do gás (v) no

cultivo de *Haematococcus pluvialis*, em biorreatores airlift tipo “split-cylinder”. Os autores mostraram que o crescimento celular diminuiu quando o valor de U_{gs} foi maior que 12 mm.s^{-1} , e v maior que $22,8 \text{ m.s}^{-1}$. Eles também mostraram que o dano celular é maior quando v aumenta devido ao aumento de U_{gs} e não pela diminuição do diâmetro interno dos furos do aspersor.

O outro tipo de biorreator airlift de circulação interna é o airlift de cilindros concêntricos. Nesse modelo de biorreator a mistura e a circulação do líquido são induzidas pela injeção de ar por dentro um tubo concêntrico (“tubo interno”). O movimento ascendente do gás aspergido na base do reator “carrega” a fase líquida e as células que compõem o caldo de fermentação pelo interior do tubo interno ou pelo espaço anular, dependendo da localização do aspersor. No topo do reator, a maior parte do gás se desprende do líquido e o líquido parcialmente degaseificado desce pela região distinta daquela por onde ascendeu. Na base do biorreator, o fluido descendente encontra a corrente ascendente de gás, uma região de baixa pressão, sendo novamente carregado ascendentemente por esta, o que confere ao meio reacional uma circulação interna contínua. A **Figura 3.5** mostra um biorreator airlift de cilindros concêntricos em operação com água destilada.



Figura 3.5 – Biorreator airlift de cilindros concêntricos operando com água destilada

Jia et al. (1999) estudaram o efeito do óleo de soja sobre a transferência de oxigênio na produção de tetraciclina por *Streptomyces auroefaciens* CG-1 utilizando biorreator airlift de cilindros concêntricos. Os resultados mostraram que o óleo de soja além de ser uma fonte de carbono viável é também um agente que diminui a tensão superficial na bolha de ar aumentando a transferência de oxigênio.

Sánchez et al. (2002) estudaram a reologia do caldo de cultivo de *Beta vulgaris* utilizando biorreator airlift de cilindros concêntricos com 10 L de volume útil. Culturas de células vegetais são consideradas uma alternativa para produção de metabólitos secundários. *Beta vulgaris* produz pigmentos solúveis em água utilizados na indústria de alimentos e farmacêutica. O biorreator airlift aerado com vazão específica de ar de 0,2 vvm atingiu um valor de k_La de 19 h^{-1} . O caldo apresentou características não-Newtonianas que geraram problemas de mistura do caldo e dispersão do gás, obtendo uma produção de pigmento menor que a relatada em reatores convencionais agitados e aerados.

Gouveia et al. (2003) caracterizaram a hidrodinâmica e a transferência de oxigênio em um biorreator airlift de cilindros concêntricos, com aeração no espaço anular utilizando-se anel perfurado, a partir de variações na geometria e vazão de alimentação do ar. A importante conclusão deste trabalho é que coeficiente de transferência de massa é afetado por pequenas mudanças nas relações geométricas.

Luo et al. (2008) estudaram as características do escoamento local utilizando o método computacional CARPT (“computer automated radioactive particle tracking”). Esse método investiga os detalhes do escoamento multifásico em um biorreator airlift de cilindros concêntricos. Os autores investigaram a velocidade do líquido, energia cinética e tensão de cisalhamento (“shear stress”). Os resultados sugerem que a região de topo e da base do reator têm efeito significativo nas estruturas de escoamento, na qual resulta em mudança substancial no desempenho do biorreator.

Cerri (2009) realizou um estudo hidrodinâmico e de transferência de oxigênio em três escalas de biorreator airlift de cilindros concêntricos geometricamente semelhantes (2, 5 e 10 L de volume útil). A semelhança geométrica dos biorreatores resultou em condições de transferência de oxigênio

similares, mostrando que esse é um bom critério para ser empregado na variação de escala desses modelos de biorreatores. Além disso, o estudo também mostrou que a produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* foi afetada positivamente pelo cisalhamento, bem como a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foi superior em biorreator airlift em relação ao convencional tipo tanque agitado e aerado sob mesmas condições de transferência de oxigênio.

3.1.2.2 Coluna de Bolhas

O biorreator tipo coluna de bolhas, classificado como não convencional ou pneumático, apresenta uma constituição muito simples. A **Figura 3.6** ilustra esse tipo de biorreator, em operação com água destilada. A homogeneização do meio, bem como a aeração é realizada via borbulhamento de ar no fundo do vaso cilíndrico.



Figura 3.6 - Biorreator coluna de bolhas operando com água destilada

Chen et al. (1998) realizaram experimentos em biorreator coluna de bolhas cilíndrico de 44 cm de diâmetro para sistemas água-ar e DrakeOil®-ar com velocidades superficiais de entrada de gás de 2, 5, e 10 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Os autores utilizaram técnicas de tomografia computadorizada (TC) para obter perfis de fração volumétrica

de gás e de rastreamento automatizado de partículas radioativas (CARPT) para medir valores de velocidades de recirculação da fase líquida. Eles encontraram os perfis esperados de retenção gasosa e concluíram que seus resultados estavam de acordo com a literatura.

Dionísio (2008) analisou, através da fluidodinâmica computacional (CFD), a influência de parâmetros geométricos na hidrodinâmica de um biorreator coluna de bolhas. Foi observado que a inclusão de distribuidores de fase gasosa na malha computacional acarretou em melhor predição dos perfis de fração volumétrica de gás nas colunas, resolvendo os problemas de aproximações geométricas arbitrárias sobre a forma de se distribuir o gás pela coluna em casos que a injeção uniforme apresenta problemas.

Song et al. (2009) estudaram a produção de celulose bacteriana por *Acetobacter xylinum KJ1* em um biorreator tipo coluna de bolhas que mantém baixa a tensão de cisalhamento e alta a taxa de transferência de oxigênio. Os cultivos foram feitos em duas escalas, uma de 10 L e outra de 50 L de volume útil. De maneira geral, os autores verificaram que a adição de ágar, um polissacarídeo viscoso, ao meio de cultura, afeta positivamente a produção de celulose bacteriana em biorreatores coluna de bolhas, e que as produções nas duas escalas foram semelhantes, mostrando que esse biorreator é muito útil para a produção em grande escala devido ao baixo cisalhamento nas células da bactéria estudada.

3.2 Aspectos hidrodinâmicos em biorreatores pneumáticos

Nessa seção do trabalho é realizada uma breve descrição dos parâmetros mais importantes utilizados na avaliação do desempenho de biorreatores pneumáticos (CHISTI 1989).

3.2.1 Velocidade superficial do gás

A velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) é a única variável de operação disponível em sistemas de biorreatores pneumáticos. Trata-se da razão entre a vazão volumétrica de alimentação do gás (Q_{ar}) e a área da seção transversal da região de subida (A_s).

$$U_{gs} = \frac{Q_{ar}}{A_S} \quad \text{Eq. 3.1}$$

onde:

U_{gs} : velocidade superficial do gás na região de subida ($m.s^{-1}$)

Q_{ar} : vazão volumétrica de alimentação de gás ($m^3.s^{-1}$)

A_S : área da seção transversal de subida (m^2)

3.2.2 Retenção Gasosa

Define-se como retenção gasosa a fração de volume da fase gasosa na mistura ou dispersão gás-líquido presente no biorreator, podendo este ser dividido em retenção gasosa global (ϵ_G), retenção gasosa na região de subida (ϵ_S) e retenção gasosa na região de descida (ϵ_D) (CHISTI,1989). A retenção gasosa global (ϵ_G) é a fração de gás presente na dispersão de todo o biorreator. A retenção gasosa na região de subida (ϵ_S) é a fração de gás presente apenas na região de subida e a retenção gasosa na região de descida (ϵ_D) é a fração de gás presente apenas na região de descida do biorreator.

$$\epsilon_G = \frac{V_G}{V_G + V_L} \quad \text{Eq. 3.2}$$

onde:

ϵ_G : retenção gasosa global (adimensional)

V_G : volume do gás (m^3)

V_L : volume do líquido (m^3)

3.2.3 Transferência de oxigênio

Em um sistema com aeração, o que se busca prioritariamente é transferir, de uma maneira satisfatória, oxigênio para suprir as necessidades respiratórias de um conjunto de células. Dessa forma, o objetivo principal é transferir o oxigênio da fase gasosa para a líquida, fazendo com que este oxigênio dissolvido

chegue às células suspensas, adentre nas mesmas e, por fim, seja consumido na reação química (SCHMIDELL, 2002).

Para entender como ocorre tal processo, basta imaginar uma bolha de ar suspensa num meio líquido. Primeiramente deve haver uma dissolução, ou seja, a transferência do oxigênio do gás para o líquido. Em seguida, uma difusão do oxigênio até a célula e finalmente, o consumo do oxigênio. Muitas resistências são apontadas nesse caminho, porém nem todas devem ser consideradas.

De fato, nessa transferência, a primeira resistência já é devido a uma película gasosa estagnada que envolve a bolha de ar, através da qual o oxigênio deve se difundir. Em seguida, pode-se imaginar uma resistência na interface gás-líquido e, finalmente, a resistência associada à película líquida estagnada envolvendo a bolha de gás. Devido à intensa movimentação das moléculas de oxigênio dentro da bolha de ar, a resistência do lado da fase gasosa pode ser desprezada. Da mesma forma, a resistência devido à interface é comumente considerada desprezível. Assim sendo, a única resistência no que se refere à transferência de oxigênio da bolha de ar para o meio de cultivo, é aquela associada à película líquida estagnada, que é função da difusividade do oxigênio no meio líquido. No que se refere à resistência associada à difusão do oxigênio no meio até as células, espera-se que o líquido esteja suficientemente agitado, a fim de que possa ocorrer o transporte convectivo e, desta forma, imaginar-se que esta resistência possa ser desprezada (BAILEY e OLLIS, 1986).

Para equacionar a transferência de oxigênio, é necessário entender com maiores detalhes a questão das películas estagnadas comentadas anteriormente. Na **Figura 3.7** é possível visualizá-las.

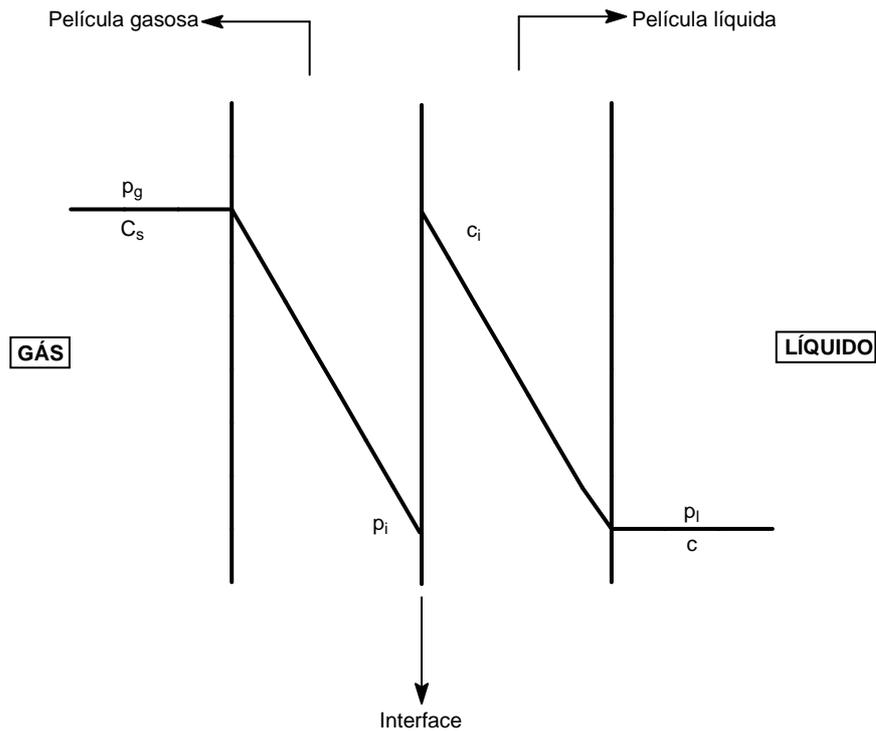


Figura 3.7 – Interface gás-líquido com as películas estagnadas.

A **Figura 3.7** representa as películas estagnadas entre a bolha de gás (homogênea com pressão parcial de O_2 constante) e o meio líquido. Na interface gás-líquido, existe uma película na qual se localiza a resistência do transporte de oxigênio, sendo esta igual ao inverso do coeficiente de transferência da película gasosa (k_g), coeficiente este definido pela relação entre a difusividade do oxigênio e a espessura da película estagnada. A transferência ocorre apenas por efeito difusional e, portanto, depende da existência de um gradiente entre a pressão parcial de O_2 no interior homogêneo da bolha (p_g) e a pressão parcial de O_2 na interface (p_i).

Igualmente na fase líquida, a existência de uma película estagnada ao redor da bolha, implica em uma resistência ao transporte de oxigênio, caracterizada pelo inverso do coeficiente de transporte na película líquida (k_L). Aqui também o fluxo de oxigênio depende, além do coeficiente de transferência, da existência de um gradiente entre a concentração de O_2 na interface (C_i) e a concentração de O_2 no meio líquido (C).

Admitindo que o sistema esteja em estado estacionário, em termos de transferência de oxigênio, assim como a existência de um perfil linear da concentração de oxigênio no interior das películas, pode-se escrever:

$$n_{O_2} = \frac{\text{gradiente}}{\text{resistência}} \quad \text{Eq. 3.3}$$

onde:

n_{O_2} : fluxo de oxigênio por unidade de área interfacial ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)

resistência : inverso do coeficiente de transferência

Assim:

$$n_{O_2} = k_g \cdot H \cdot (p_g - p_i) = k_L \cdot H \cdot (p_i - p_l) = k_g \cdot (C_s - C_i) = k_L \cdot (C_i - C) \quad \text{Eq. 3.4}$$

onde:

k_g : coeficiente de transferência de massa da película gasosa ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)

k_L : coeficiente de transferência de massa da película líquida ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)

p_g : pressão parcial de O_2 no seio gasoso (atm)

p_i : pressão parcial de O_2 na interface (atm)

p_l : pressão parcial de O_2 em um gás que estaria em equilíbrio com a concentração de oxigênio C no líquido, segundo a Lei de Henry (atm)

H : constante de Henry ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{atm}^{-1}$)

C_s : concentração de O_2 dissolvido no líquido em equilíbrio com p_g , segundo a Lei de Henry ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

C_i : concentração de O_2 dissolvido em equilíbrio com p_i ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

C : concentração de oxigênio no seio líquido ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

Como se observa na **Equação 3.4** entende-se como gradiente as diferenças entre as pressões parciais de O_2 , ou estas traduzidas em concentrações através da lei de Henry. Em termos experimentais, não há possibilidade de se conhecer os valores dessas variáveis na interface gás-líquido, de tal forma que é

melhor trabalhar com um coeficiente global de transferência do oxigênio (o qual corresponderia à soma das resistências das duas películas). Ou, ainda, lembrando que a resistência devido ao filme gasoso pode ser desprezada, tendo em vista a resistência do filme líquido, pode-se considerar $p_g=p_i$ e como decorrência, $C_i=C_s$ (BAILEY e OLLIS, 1986).

Assim a **Equação 3.4** pode ser reescrita:

$$n_{O_2} = k_g \cdot H(p_g - p_i) = k_L \cdot (C_s - C) \quad \text{Eq. 3.5}$$

Tendo em vista que esse fluxo de oxigênio está definido por unidade de área interfacial de troca de massa, área essa de difícil quantificação quando se tem um enorme número de bolhas suspensas em um líquido, pode-se definir:

$$a = \frac{\text{área interfacial de transferência de massa (m}^2\text{)}}{\text{volume total do líquido (m}^3\text{)}} \quad \text{Eq. 3.6}$$

Dessa forma, pode-se escrever:

$$n_{O_2} a = k_g a \cdot H \cdot (p_g - p_i) = k_L a \cdot (C_s - C) \quad \text{Eq. 3.7}$$

onde:

$n_{O_2} a$: velocidade de transferência de oxigênio ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$)

$k_L a$: coeficiente volumétrico de transferência de O_2 (h^{-1})

Caso o sistema não esteja em estado estacionário em termos de fluxo de oxigênio, mas esteja ocorrendo uma variação na concentração de oxigênio (C) no tempo (t), pode-se escrever:

$$n_{O_2} a = \frac{dC}{dt} \quad \text{Eq. 3.8}$$

então, substituindo a **Equação 3.8** na **Equação 3.7**, obtém-se:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a \cdot (C_s - C) \quad \text{Eq. 3.9}$$

Essa equação permite uma exata compreensão de todas as formas de que se dispõe para o controle da concentração de oxigênio dissolvido em certo meio.

De fato, caso se enriqueça em O_2 o gás de entrada de um reator (aumento de p_g), ou se aumente a pressão de cabeça do fermentador (aumento de P), incrementa-se o gradiente ($C_s - C$), pois se estaria aumentando o valor de C_s . Igualmente, aumentando-se a frequência de agitação, estaria rompendo e dispersando mais bolhas de ar no meio (aumento de a) e reduzindo a espessura do filme líquido (aumento de k_L). Por outro lado, o aumento da vazão de aeração, significa um maior acúmulo de bolhas de ar no seio líquido (aumento de a), ao mesmo tempo em que se promove um maior arraste de O_2 produzido (aumento de p_g) (SCHMIDELL, 2002).

3.2.4 Reologia e Velocidade de cisalhamento

Sendo a reologia a ciência que estuda o mecanismo de escoamento e deformação de fluidos, causadas pelo cisalhamento, primeiramente deve-se ter claro o conceito de como ocorrem esses fenômenos. Quando se compara um sólido com um fluido, em relação à uma tensão aplicada aos dois, o primeiro deforma-se de acordo com esta tensão, enquanto o segundo deforma-se continuamente, numa velocidade ajustada por esta tensão aplicada.

A viscosidade, propriedade física dos fluidos, pode ser entendida quando se analisa a seguinte situação: Na **Figura 3.8** tem-se uma placa superior em movimento, e uma inferior fixa. Entre as duas, uma camada de fluido de espessura dy . Uma força F constante é aplicada à placa superior, conseqüentemente essa se movimenta a uma velocidade du , que por sua vez transfere quantidade de movimento na direção y para a camada de fluido. Porém, essa quantidade de movimento a ser transferida é regulada pela viscosidade característica de cada tipo de fluido. Entende-se então por viscosidade, a resistência que o fluido impõe ao escoamento (WILKINSON, 1960 apud BADINO JR. 1997).

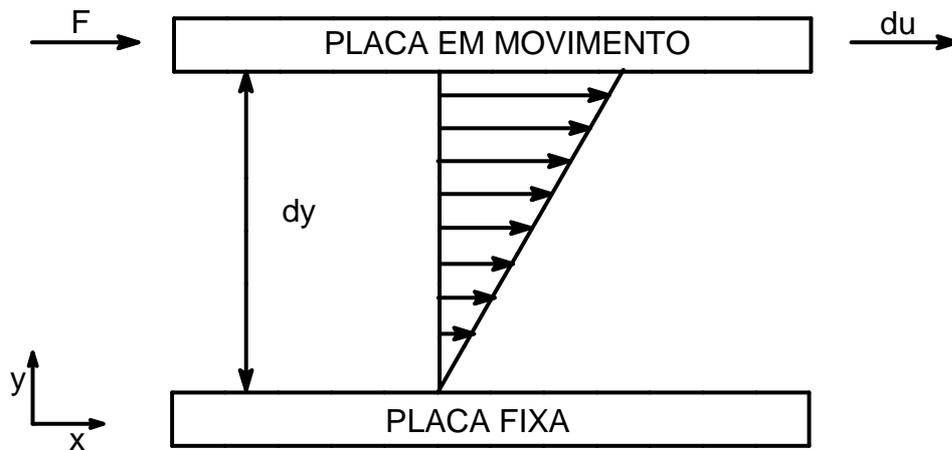


Figura 3.8 – Escoamento laminar de um fluido entre duas placas paralelas

A característica principal dos líquidos Newtonianos é a proporcionalidade entre a tensão de cisalhamento (τ) e o gradiente de velocidade ou velocidade de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) que apresentam, estabelecendo assim uma relação linear conforme a **Equação (3.11)**:

$$\tau = \mu \cdot \frac{du}{dy} \quad \text{Eq. 3.10}$$

onde:

$du/dy = \dot{\gamma}$: gradiente de velocidade ou velocidade (taxa) de cisalhamento, ou seja, a variação da velocidade na direção x com a direção y (s^{-1}).

μ : viscosidade dinâmica do fluido ($g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$ ou $dina \cdot cm^{-2} \cdot s$ no sistema CGS ou $kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$ ou $Pa \cdot s$ no SI)

De acordo com a **Equação (3.10)** as unidades da viscosidade são expressas em $g \cdot cm^{-1} \cdot s^{-1}$ ou $dina \cdot cm^{-2} \cdot s$ no sistema CGS, mais conhecida por poise, e $kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$ ou $Pa \cdot s$ no sistema internacional (SI). Essa equação é conhecida como a “Lei de Newton” da viscosidade. Portanto, todos os fluidos que, em escoamento laminar apresentarem uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a velocidade de cisalhamento, são denominados fluidos Newtonianos.

Porém, não são todos os fluidos que apresentam esse comportamento descrito anteriormente quando expostos as mesmas condições de cisalhamento. Durante um processo fermentativo é possível ocorrerem alterações muito significativas no caldo, podendo este passar à condição de líquido não-Newtoniano. Um bom exemplo para este caso são os processos que envolvem o cultivo de bactérias e fungos filamentosos.

A relação entre a tensão de cisalhamento (τ) e a velocidade de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) para fluidos não-Newtonianos não é linear. A relação que cada tipo de fluido apresentar será utilizada para classificá-lo. A **Figura 3.9** ilustra alguns reogramas (curvas de tensão de cisalhamento, τ , em função da velocidade ou taxa de cisalhamento, $\dot{\gamma}$, para vários fluidos, incluindo os Newtonianos).

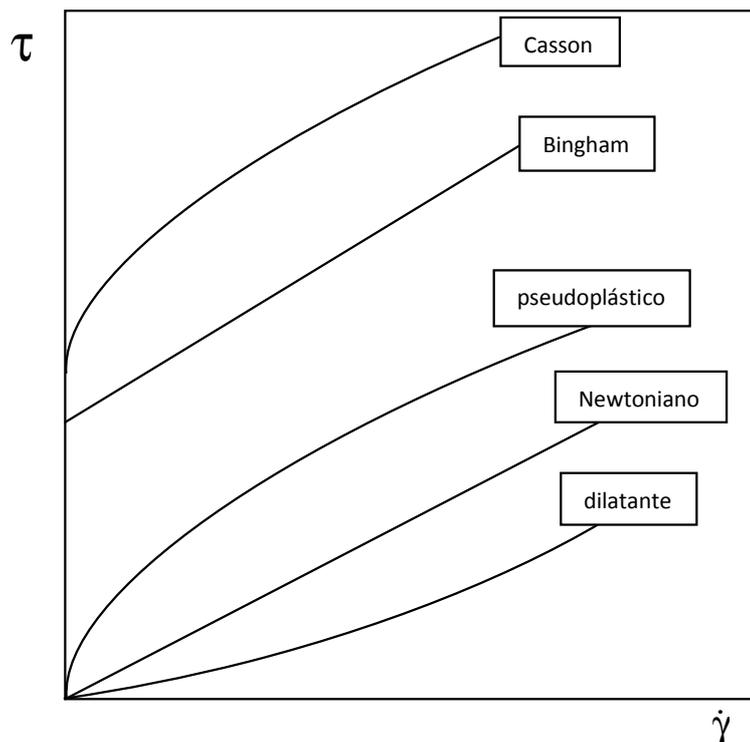


Figura 3.9 – Reogramas de alguns fluidos

O modelo da “Lei da Potência”, dado pela **Equação 3.11**, prediz o comportamento reológico da maioria dos fluidos ilustrados na **Figura 3.9**.

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{Eq. 3.11}$$

onde:

K : índice de consistência do fluido ($\text{dina.cm}^{-2}.\text{s}^n$, no CGS e Pa.s^n no SI)

n : índice de comportamento de escoamento do fluido (adimensional)

Definida como sendo a relação entre a tensão de cisalhamento (τ) e a velocidade ou taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$), a viscosidade dinâmica, no caso aparente, (μ_{ap}) para fluidos não-Newtonianos que seguem a “lei da potencia”, é dada pela

Equação 3.12:

$$\mu_{\text{ap}} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad \text{Eq. 3.12}$$

Quando $n < 1$, o fluido é caracterizado como pseudoplástico. Soluções poliméricas de alto peso molecular e grande parte das suspensões, entre as quais se incluem caldos de fermentação com microrganismos filamentosos, são exemplos de fluidos pseudoplásticos. Para $n > 1$, o fluido é classificado como dilatante. Suspensões de amido, de silicato de potássio e de areia são alguns exemplos desses fluidos (BADINO, 1997). Por fim, quando $n = 1$, o fluido é caracterizado como Newtoniano e, nesse caso, a **Equação 3.12** se reduz à **Equação 3.11**.

Em caldos fermentativos gerados pelo cultivo de fungos e bactérias filamentosas, por exemplo, o crescimento celular ocorre de maneira drástica, com partículas grandes e irregulares. Isso gera fluidos muito heterogêneos, que exibem comportamentos reológicos não-newtonianos. Assim, pode haver dificuldades com relação aos processos de transferência de oxigênio e movimento. Cultivos em biorreatores, normalmente exibem uma reologia complexa, sendo de suma importância conhecer e acompanhar o comportamento reológico durante a fermentação, uma vez que as características reológicas variam em função da concentração de seus componentes, de sua temperatura e em função das condições de cisalhamento a que são submetidos (BADINO, 1997).

3.3 *Streptomyces clavuligerus*

A grande maioria dos produtos terapêuticos utilizados no combate às doenças infecciosas causadas por bactérias é sintetizada através do metabolismo secundário de microrganismos isolados do solo, como fungos e bactérias filamentosas, entre as quais incluem as do gênero *Streptomyces*.

Streptomyces sp são actinomicetos que, em cultivo submerso, produzem hifas vegetativas (micélios) que não se fragmentam com facilidade. São microrganismos gram-positivos, aeróbios, primariamente habitantes do solo e semelhantes aos fungos (PINTO, 2002). *Streptomyces clavuligerus* é uma bactéria pertencente a esse grupo e, segundo Puentes et al. (1989), ela não é capaz de metabolizar mono e dissacarídeos como frutose, glicose, lactose e sacarose, que geralmente são as principais fontes de energia em cultivos voltados para a produção de antibióticos. A **Figura 3.10** ilustra uma imagem típica de *Streptomyces clavuligerus*.

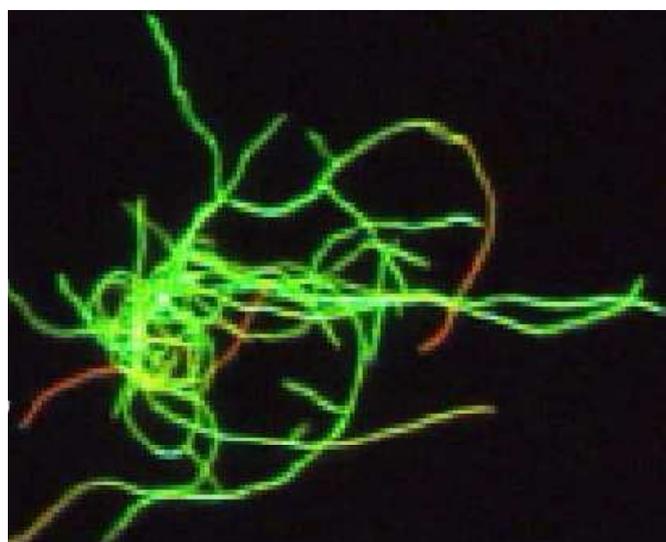


Figura 3.10 – Imagem microscópica de *Streptomyces clavuligerus* (Pinto, 2002)

Streptomyces clavuligerus é uma das espécies produtora de ácido clavulânico, potente inibidor de enzimas beta-lactamases que conferem resistência a antibióticos beta-lactâmicos a algumas bactérias patogênicas. Além do ácido clavulânico, outros compostos beta-lactâmicos como a penicilina N, a desacetoxicefalosporina C e a cefamicina C são sintetizados por *Streptomyces clavuligerus*. Por se tratar de uma bactéria estritamente aeróbia e filamentososa, o

cultivo de *Streptomyces clavuligerus* apresenta elevada a demanda de O₂ e, simultaneamente, gera caldos com alta viscosidade aparente, isso acaba por dificultar a transferência de O₂ da fase gasosa para a fase líquida, reduzindo a concentração de O₂ dissolvido, o que pode limitar o crescimento bacteriano e a própria biossíntese do produto de interesse.

Dessa forma, fica clara a importância de se avaliar cultivos dessa bactéria em diferentes modelos de biorreatores pneumáticos, além dos cultivos clássicos em biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado, analisando o crescimento celular de forma a definir parâmetros que forneçam o ambiente adequado para o crescimento sadio e, conseqüentemente, uma melhor produção de metabólitos secundários.

3.4 Estudos relacionados à velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreatores

Em processos bioquímicos a velocidade de cisalhamento é um parâmetro importante a ser estudado, pois o excesso de cisalhamento pode resultar em perda de viabilidade e até mesmo no rompimento celular, influenciando a morfologia celular. Entretanto, certo grau de cisalhamento torna-se necessário aos processos para atingir transferências de calor e massa suficientes, assim como a distribuição homogênea de constituintes no meio reacional. Na literatura são encontrados alguns estudos relacionados à velocidade de cisalhamento em biorreatores pneumáticos.

Nishikawa et al. (1977) propuseram originalmente a expressão apresentada pela **Equação 3.13**:

$$\dot{\gamma}_m = \alpha \cdot U_g \quad \text{Eq. 3.13}$$

onde:

α : constante de proporcionalidade (m⁻¹)

U_g : Velocidade superficial do gás (m.s⁻¹)

Os autores utilizaram uma análise baseada na analogia entre sistemas não-Newtonianos e soluções Newtonianas para determinar o valor de α em coluna

de bolhas. Como parâmetro de medida utilizaram o coeficiente convectivo de transferência de calor na serpentina de resfriamento para a estimativa de $\dot{\gamma}_m$.

A partir dos valores de $\dot{\gamma}_m$ e U_g , foi obtido um valor para a constante α de 5000 m^{-1} , sendo a equação válida para a faixa de $0,04 < U_g < 0,10 \text{ m.s}^{-1}$. Para a faixa de $0,008 < U_g < 0,04 \text{ m.s}^{-1}$, a **Equação 3.13** foi obtida.

$$\dot{\gamma}_m = 1000 \cdot U_g^{0,5} \quad \text{Eq. 3.14}$$

Chisti e Moo-Young (1989) levaram em conta a diferença entre os tipos de reatores coluna de bolhas e airlift e propuseram a inclusão de um fator de correção para a **Equação 3.13**, $(A_S + A_D)/A_S$, estendendo o uso da equação para biorreatores airlift.

$$\dot{\gamma}_m = \alpha \cdot \frac{A_S + A_D}{A_S} \cdot U_g \quad \text{Eq. 3.14}$$

onde:

A_S : área da região de subida (m^2)

A_D : área da região de descida (m^2)

Shi et al. (1990) propuseram uma correlação para o cálculo da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em função da velocidade superficial de gás na região de subida (U_{gs}) para um reator airlift de circulação externa de 40 L de volume útil. Soluções de glicerol foram utilizadas como fluidos Newtonianos, e soluções de carboximetil celulose (CMC) e goma xantana foram utilizadas como fluidos não-Newtonianos. Os autores escolheram a velocidade de circulação como parâmetro medido, e propuseram uma equação quadrática que segue:

$$\dot{\gamma}_m = 14800 \cdot U_{gs}^2 - 351 \cdot U_{gs} + 3,26 \quad \text{Eq. 3.15}$$

Kawase e Kumagai (1991) basearam-se no conceito de velocidade de dissipação de energia (potência por unidade de massa) e propuseram a **Equação**

3.15 para prever a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreatores coluna de bolhas.

$$\dot{\gamma}_m = (10,3 \cdot n^{-0,63})^{\frac{1}{n+1}} \cdot (U_g \cdot g)^{\frac{1}{n+1}} \cdot \left(\frac{K}{\rho_L}\right)^{-\frac{1}{n+1}} \quad \text{Eq. 3.15}$$

onde:

g : aceleração da gravidade ($\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$)

ρ_L : densidade do líquido ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)

Os autores trabalharam com fluidos não-Newtonianos e encontraram valores de $\dot{\gamma}_m$ na faixa de 500 a 2500 s^{-1} utilizando as propriedades reológicas de soluções de goma xantana.

Contreras et al. (1999) estimaram a velocidade de cisalhamento em cada seção de um biorreator airlift de cilindros concêntricos para diferentes aspersores (60 – 1000 μm de tamanho dos poros) utilizando a velocidade de dissipação de energia. Água do mar foi utilizada como fluido Newtoniano. Altos valores de velocidade de cisalhamento ($\dot{\gamma}_m$) na faixa entre 7000 e 12000 s^{-1} foram encontrados. As maiores velocidades de cisalhamento foram observadas na região do aspersor seguida pela região de topo do reator. Os menores valores foram encontrados na região de descida.

Cerri et al. (2008) elaboraram uma metodologia para avaliar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreator airlift de cilindros concêntricos operando com fluidos não-Newtonianos. A velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foi correlacionada com a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e com os parâmetros reológicos do fluido (K e n). Os dados experimentais foram obtidos na faixa de U_{gs} entre 0 e 0,095 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. As **Equações 3.16** e **3.17** mostram as correlações, para sistemas operando com $U_{gs} < 0,05 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e $U_{gs} > 0,05 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente.

$$\dot{\gamma}_m = (1,641 \cdot 10^{-3} \cdot U_{gs}^{-0,386} \cdot K^{-0,213})^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 3.16}$$

$$\dot{\gamma}_m = (4,495 \cdot 10^{-2} \cdot U_{gs}^{0,743} \cdot K^{-0,288})^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 3.17}$$

Com relação a estudos de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado, alguns trabalhos voltados para esse tema forneceram equações também em função das condições operacionais, assim como das propriedades reológicas do fluido de trabalho.

Keely e Gigas (2003) propuseram uma correlação para a velocidade de cisalhamento média em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado através de modelagem por fluidodinâmica computacional, em função da frequência de rotação do impelidor, de acordo com a **Equação 3.18**.

$$\dot{\gamma}_m = 64,3 \cdot N \quad \text{Eq. 3.18}$$

onde:

N : frequência de rotação do eixo do biorreator (rps ou s⁻¹)

No ajuste da **Equação 3.18** obteve-se um coeficiente de regressão (R²) de 0,96. Para os mesmos dados, Pérez et al. (2006) ajustaram a seguinte correlação dada pela **Equação 3.19** com o valor do coeficiente de regressão (R²) de 0,99, consideravelmente melhor do que a da **Equação 3.18** proposta por Keely e Gigas (2003).

$$\dot{\gamma}_m = 33,1 \cdot N^{1,4} \quad \text{Eq. 3.19}$$

Campesi et al. (2009) propuseram uma metodologia para correlacionar a velocidade de cisalhamento média com a frequência de rotação do impelidor e com os parâmetros reológicos K e n, para o biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado com base na metodologia proposta por Cerri et al. (2008). As

Equações 3.20 e 3.21 mostram essas correlações, para sistemas aerados a 0,50 e 1,00 vvm, respectivamente:

$$\dot{\gamma}_m = K \frac{0,6092}{1-n} \cdot (1,571 \cdot N^{0,4665})^{\frac{2,876}{1-n}} \quad \text{Eq. 3.20}$$

$$\dot{\gamma}_m = K \frac{0,6097}{1-n} \cdot (1,711 \cdot N^{0,5487})^{\frac{2,476}{1-n}} \quad \text{Eq. 3.21}$$

A metodologia foi testada em cultivos de *Streptomyces clavuligerus* e pode-se concluir que altos valores de cisalhamento geram caldos fermentativos menos viscosos com conseqüente aumento nas velocidades de cisalhamento médias ($\dot{\gamma}_m$), atrasando os términos dos cultivos.

Conforme observado nesta revisão de literatura, a velocidade de cisalhamento foi estimada adequadamente para biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado. Porém, os estudos que investigaram a velocidade de cisalhamento em biorreatores pneumáticos, analisam especificamente um modelo de biorreator pneumático, ou generalizam as correlações para todos os tipos, desprezando as diferenças na geometria desses biorreatores. Não existe estudo na literatura até o presente momento que compare valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em diferentes modelos de biorreatores pneumáticos. Além disso, é necessário levar em consideração, um intervalo maior de condições operacionais, mostrando assim o real comportamento desse parâmetro.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foi avaliada e comparada, através de cultivos de *Streptomyces clavuligerus*, em três diferentes modelos de biorreatores pneumáticos: airlift cilindros concêntricos, airlift “split-cylinder” e coluna de bolhas, com base em metodologia recentemente proposta na literatura utilizando soluções de glicerol como fluidos Newtonianos e soluções de goma xantana como fluidos não-Newtonianos.

4.1 Fluidos

Foram utilizados cinco diferentes soluções de glicerol (LabSynth, 99.5% de pureza) como fluido Newtoniano e seis diferentes soluções de goma xantana (Grinsted ULTRA 80 - Danisco Brasil, Ltda) como fluido não-Newtoniano.

Glicerol ou propano-1,2,3-triol (IUPAC, 1993) é um composto orgânico pertencente à função álcool. É líquido à temperatura ambiente (25 °C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Diluído em água forma soluções com comportamento tipicamente Newtoniano. A goma xantana (C₃₅H₄₉O₂₉) é um polissacarídeo obtido naturalmente pela fermentação da bactéria *Xanthomonas campestris*, que sintetiza a goma para evitar sua desidratação. É um aditivo bastante utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia como estabilizante, espessante e emulsificante. Diluída em água, forma soluções com comportamento tipicamente não-Newtoniano, sendo classificado como pseudoplástico, assim como grande parte de caldos fermentativos.

As viscosidades dinâmicas (μ) das soluções de glicerol e as constantes reológicas K e n para as soluções de goma xantana foram obtidas a 28°C em reômetro de cilindros concêntricos da Brookfield modelo LV-DVIII+, a partir de reogramas.

Tabela 4.1 – Viscosidade dinâmica dos fluidos Newtonianos (soluções de glicerol).

Solução de Glicerol (SG)	% (v.v⁻¹)	$\mu \cdot 10^3$ (Pa.s)
SG 1	20	2,10
SG 2	30	2,69
SG 3	40	3,80
SG 4	45	5,37
SG 5	50	6,20
SG 6	55	9,00
SG 7	60	11,79
Água destilada	0	0,84

Tabela 4.2 – Propriedades reológicas dos fluidos não-Newtonianos (soluções de goma xantana).

Solução de goma xantana (SGX)	Concentração (g.L⁻¹)	K (Pa.sⁿ)	N (-)
SGX 1	1,0	0,152	0,46
SGX 2	1,5	0,261	0,42
SGX 3	2,0	0,472	0,36
SGX 4	2,5	1,021	0,27
SGX 5	3,0	1,200	0,27

4.2 Biorreatores

Um biorreator coluna de bolhas, um airlift de cilindros concêntricos e um airlift “split-cylinder”, todos de 5 L de volume útil, foram utilizados nesse estudo (CERRI et al. 2009). Os tubos externos foram confeccionados em vidro com 5 mm de espessura. A base e tampa dos biorreatores, o tubo de aeração, o aspersor e o condensador de água são construídos utilizando aço inoxidável. A **Figura 4.1** ilustra os biorreatores pneumáticos e suas características geométricas. As relações geométricas são apresentadas na **Tabela 4.3**. Os furos dos aspersores apresentam 0,5 mm de diâmetro e são espaçados em 5 mm.

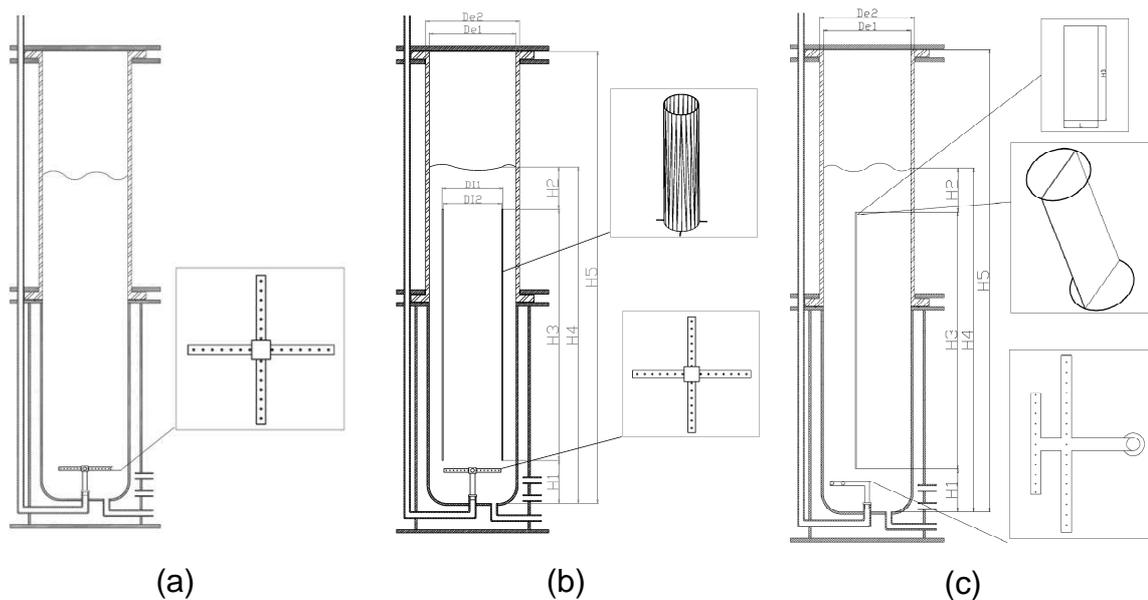


Figura 4.1 – Esquemas geométricos dos biorreatores pneumáticos, (a) Coluna de bolhas, (b) airlift de cilindros concêntricos e (c) airlift “split-cylinder”.

Tabela 4.3 – Características geométricas dos três biorreatores pneumáticos.

Medida (m)	Coluna de Bolhas	Airlift “split-cylinder”	Airlift de cilindros concêntricos
H1 (m)	-	0.045	0.045
H2 (m)	-	0.055	0.055
H3 (m)	-	0.350	0.350
H4 (m)	0.450	0.450	0.450
H5 (m)	0.600	0.600	0.600
De1 (m)	0.125	0.125	0.125
H4/De1	3.60	3.60	3.60
A_D/A_R	-	1.38	1.78
$D_{I2}/De1$	-	-	0.60
L (m)	-	0.124	-

4.3 Medidas do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$)

Para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio foi considerado o atraso da resposta do eletrodo, o qual ocorre devido ao fato de o oxigênio dissolvido no seio do líquido difundir através da membrana do eletrodo que isola o meio líquido da superfície do cátodo, onde o oxigênio é reduzido gerando o fluxo de elétrons. Com o objetivo de corrigir e identificar esse atraso do eletrodo, Aiba et al. (1973) propuseram que o sinal do eletrodo (C_e) varia no tempo proporcionalmente à diferença entre a concentração real de oxigênio dissolvido (C) e o sinal do eletrodo (C_e), ou seja:

$$\frac{dC_e}{dt} = k_e \cdot (C - C_e) = \frac{1}{\tau_e} \cdot (C - C_e) \quad \text{Eq. 4.1}$$

onde:

C : concentração real de oxigênio dissolvido (% da saturação ou mg.L^{-1})

C_e : concentração de oxigênio dissolvido lido pelo eletrodo ou sinal do eletrodo (% da saturação ou mg.L^{-1})

k_e : constante de atraso do eletrodo (s^{-1})

τ_e : tempo de resposta do eletrodo (s^{-1})

A constante de atraso do eletrodo (k_e) pode ser determinada através de um ensaio em degrau, ou seja, equilibrando-o em atmosfera de nitrogênio gasoso (eletrodo indicando o valor zero) e, em seguida, retirando o eletrodo da atmosfera de nitrogênio e introduzindo-o imediatamente no ar atmosférico. Com os valores do sinal do eletrodo registrados em função do tempo, obtidos pela exposição do eletrodo ao ar atmosférico, obtém-se o tempo de resposta (τ_e) como sendo igual ao tempo onde o sinal do eletrodo atinge 63,2 % do seu valor máximo, de acordo com a **Figura 4.2**. A constante de atraso do eletrodo (k_e) é calculada como sendo o inverso do tempo de resposta.

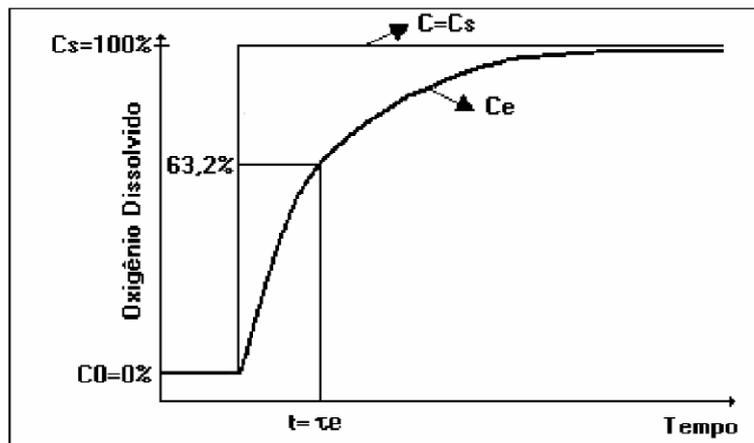


Figura 4.2 - Representação esquemática da concentração do oxigênio em função do tempo para a definição da constante de atraso do eletrodo (Cerri, 2005).

O método dinâmico consiste em se dispor no biorreator, de um eletrodo para a determinação da concentração de oxigênio dissolvido. Aerando-se o sistema, o meio líquido é saturado com o oxigênio do ar e ajusta-se o valor de 100% ($C_e=C_s=100\%$) no analisador de oxigênio. Em seguida borbulha-se nitrogênio no líquido, a fim de eliminar todo o oxigênio dissolvido, até que o eletrodo indique o valor zero ($C=C_e=0$). Dessa forma define-se a faixa (“range”) de medida. A seguir, em um dado instante, inicia-se a aeração do meio líquido nas condições em que se pretende obter o valor de $k_L a$, passando-se então a registrar o sinal do eletrodo (C_e) ao longo do tempo (t). Esse sinal sai do zero, aumentando até atingir a saturação (C_s), ou seja, até que o sinal do eletrodo indique o valor 100%. Para a determinação do $k_L a$ faz-se uso da **Equação 3.9**:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a \cdot (C_s - C) \quad \text{Eq. 3.9}$$

A **Equação 3.9** é integrada para a condição inicial de $C=C_0$ quando $t=t_0$, resultando na **Equação 4.2**:

$$C = C_s - (C_s - C_0) \cdot e^{-k_L a \cdot (t-t_0)} \quad \text{Eq. 4.2}$$

A determinação do k_{La} pela **Equação 4.2** seria estritamente correta somente se o eletrodo medisse a concentração real de oxigênio dissolvido. Na realidade, isto não ocorre devido ao atraso na resposta do eletrodo. Como mencionado anteriormente, o tempo de resposta do eletrodo (τ_e) pode ser descrito como uma equação de primeira ordem, como mostra a **Equação 4.1**. Introduzindo-se na **Equação 4.1** o valor de C em função do tempo obtido a partir da **Equação 4.2** e agora, integrando-se a equação resultante com a condição inicial $C_e = C_{eo}$ ($t = t_0$), obtém-se:

$$C_e = C_{eo} \cdot e^{-k_e \cdot (t-t_0)} + C_{es} \cdot (1 - e^{-k_e \cdot (t-t_0)}) + \frac{k_e \cdot (C_{es} - C_o)}{k_e - k_{La}} \cdot (e^{-k_e \cdot (t-t_0)} - e^{-k_{La} \cdot (t-t_0)}) \text{ Eq. 4.3}$$

A partir dos resultados experimentais de C_e em função do tempo, pode-se, utilizando a **Equação 4.3** e um algoritmo de Marquardt, obter o valor de k_{La} , conhecendo-se previamente o valor de k_e (MARQUARDT, 1963).

4.4 Software para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio

Foi desenvolvido uma ferramenta computacional (JESUS et al., 2007) que tornasse mais rápida a determinação do k_{La} de modo a auxiliar o emprego das metodologias utilizadas no presente trabalho. A interface gráfica do programa foi desenvolvida utilizando o Visual Basic 6.0 (Microsoft) e foi organizada de modo a facilitar a visualização dos dados colhidos dos biorreatores e possibilitar o cálculo do k_{La} . Com o programa, o usuário pode gravar e recuperar os dados referentes aos ensaios com diferentes condições de operação, ajustar os limites dos gráficos e salvar as curvas geradas, sendo possível ainda, ajustar os parâmetros relacionados com a comunicação serial entre o computador e o módulo de aquisição de dados (JESUS et al., 2007).

Uma vez que o usuário tenha iniciado o experimento, os valores da concentração de oxigênio são apresentados em um gráfico para facilitar seu acompanhamento, como pode ser visualizado na **Figura 4.3**. Durante o experimento, os dados passam internamente por um tratamento que visa reduzir a influência de

ruídos no sinal de entrada. Para tanto um filtro de média móvel foi utilizado e se mostrou eficaz. Ao final do ensaio, o usuário pode escolher com o *mouse* diretamente no gráfico qual trecho da curva será usado para a determinação do k_{La} . Os valores da faixa selecionada são apresentados numérica e graficamente (JESUS et al., 2007).

Em relação à estimativa de parâmetros, o programa utiliza o método de Levenberg-Maquardt como algoritmo de otimização para determinar o valor de k_{La} , que minimiza o erro entre os valores calculados pelo modelo e os experimentais (função objetivo com estrutura de mínimos quadrados). A convergência da busca é rápida e, além do valor do parâmetro, o algoritmo também fornece o resíduo do ajuste e o erro padrão associado ao parâmetro, apresentados na **Figura 4.4**. O programa, analisando os dados de oxigênio dissolvido de entrada, fornece automaticamente alguns dos parâmetros do modelo, porém o usuário pode adequá-los, a qualquer momento, para suas condições específicas.

O software como foi desenvolvido pode ser utilizado independentemente do método de determinação do k_{La} escolhido (por exemplo, método da pressão, método dinâmico ou método do sulfito) e do tipo de biorreator utilizado. Um dos pontos que realçam sua utilidade é a redução do tempo para a caracterização do biorreator quanto à transferência de massa.

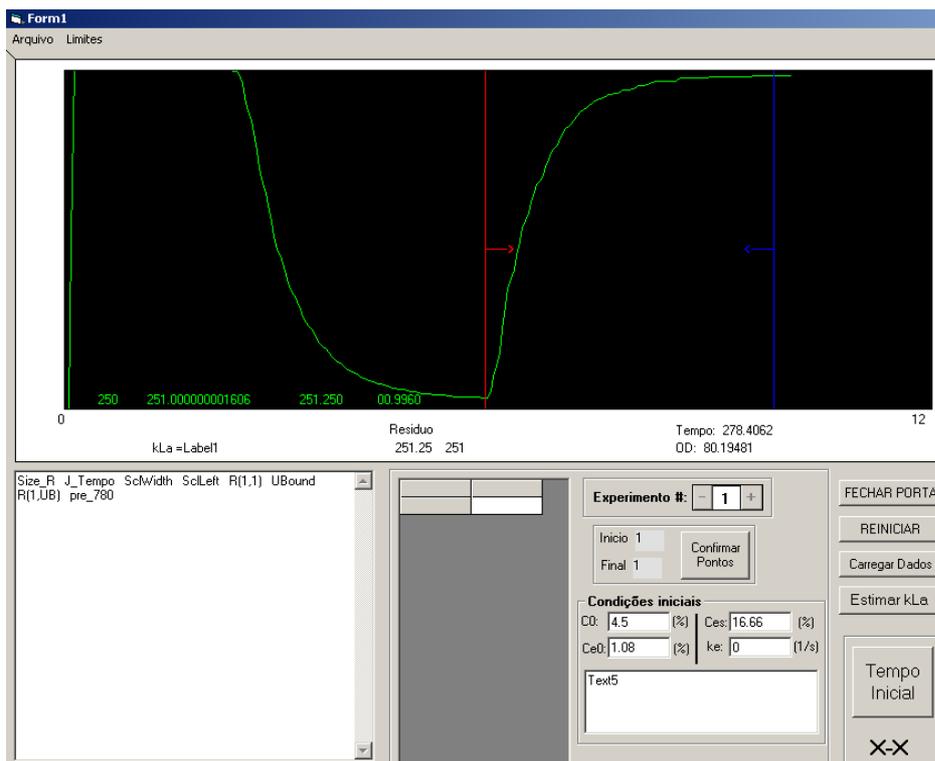


Figura 4.3 – Interface gráfica durante a aquisição de dados

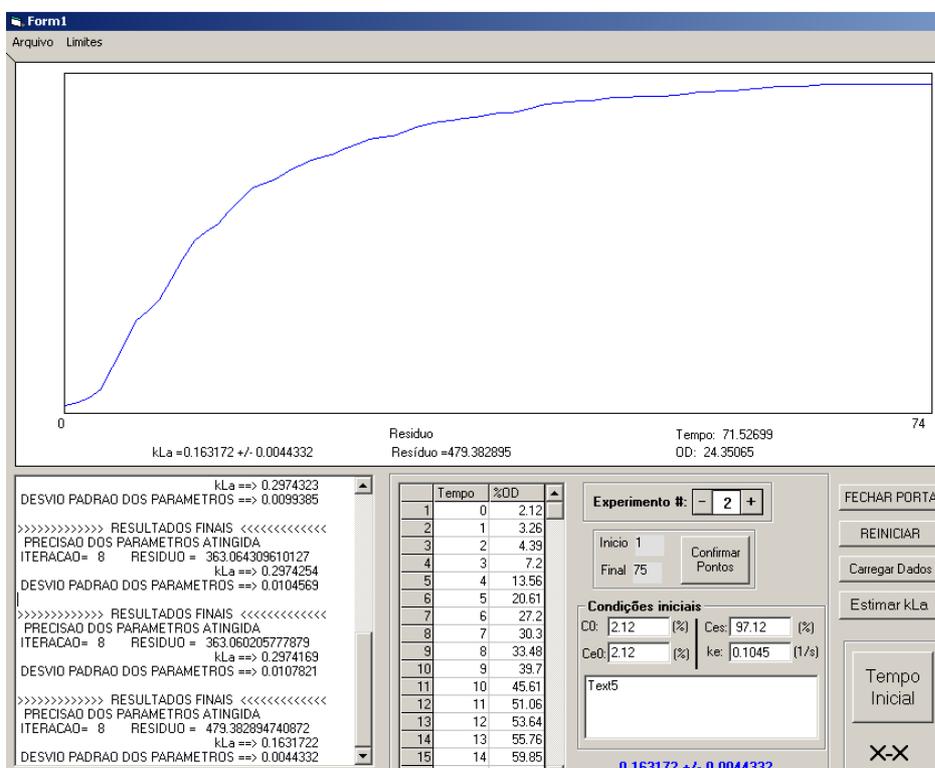


Figura 4.4 – Interface gráfica utilizado na determinação do $k_L a$

4.5 Medida da retenção gasosa global (ϵ_G)

A retenção gasosa global foi determinada através de medidas do aumento na altura do líquido quando aerado, de acordo com a **Equação 4.4**:

$$\epsilon_G = \frac{h_D - h_L}{h_D} \quad \text{Eq. 4.4}$$

onde:

h_D : altura da dispersão gás-líquido (m)

h_L : altura do líquido sem aeração (m)

4.6 Avaliação da velocidade de cisalhamento media ($\dot{\gamma}_m$)

O método usado para avaliar a velocidade de cisalhamento media ($\dot{\gamma}_m$) para fluidos não-Newtonianos em biorreatores pneumáticos foi baseada em metodologia proposta recentemente para biorreatores airlift de cilindros concêntricos (CERRI et al., 2008). O método é baseado na analogia e o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) foi escolhido como parâmetro característico. A escolha do $k_L a$ como parâmetro característico parece ser apropriada para avaliar a velocidade de cisalhamento media ($\dot{\gamma}_m$), uma vez que a transferência de oxigênio ocorre através da área interfacial das bolhas de ar, que estão distribuídas igualmente no biorreator.

Inicialmente, para a água e para as sete soluções de glicerol (fluidos Newtonianos) foram obtidos valores do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) para dez diferentes condições de aeração (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 L.min⁻¹), em triplicata nos três modelos de biorreatores pneumáticos. Em seguida, nas mesmas condições operacionais, determinaram-se os valores do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) para as cinco soluções de goma xantana (fluidos não-Newtonianos).

Observa-se na **Figura 3.9** que a relação linear existente entre a tensão de cisalhamento e a velocidade de cisalhamento para fluidos Newtonianos não ocorre para fluidos não-Newtonianos, sendo a curva de escoamento expressa pelo

modelo da lei da potência para fluidos pseudoplásticos e dilatantes (**Equação 3.12**). Rearranjando-se essa equação, obtêm-se a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), que é definida como segue:

$$\dot{\gamma}_m = \left(\frac{\mu_{ap}}{K} \right)^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 4.5}$$

Os valores do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) obtidos para as soluções de fluidos Newtonianos (glicerol e água) foram correlacionados com a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e a viscosidade dinâmica (μ), de acordo com a **Equação 4.6**.

$$k_L a = a \cdot U_{gs}^b \cdot \mu^c \quad \text{Eq. 4.6}$$

Substituindo a viscosidade (μ) da **Equação 4.6** na viscosidade aparente da **Equação 4.5** que expressa a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em função do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) e das constantes reológicas para fluidos não-Newtonianos.

$$\dot{\gamma}_m = \left(\frac{1}{K} \right)^{\frac{1}{n-1}} \cdot \left(\frac{k_L a}{a \cdot U_{gs}^b} \right)^{\frac{1}{c \cdot (n-1)}} \quad \text{Eq. 4.7}$$

Conhecendo-se as constantes a, b e c, estimadas para os fluidos Newtonianos (água e glicerol) pelo ajuste da **Equação 4.5**, e as propriedades reológicas dos fluidos não-Newtonianos (K e n) é possível, a partir da **Equação 4.7**, estimar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em biorreatores pneumáticos para um dado valor de velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) utilizando fluidos não-Newtonianos.

Porém, durante um processo fermentativo, a consistência do caldo varia muito. Normalmente, começa-se com um valor baixo para o índice de

consistência (K), que vai aumentando, conforme ocorre o crescimento celular, até o momento em que os microrganismos começam a morrer. Dessa forma, não é possível garantir que o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) seja o mesmo durante todo o cultivo. Por isso, na seqüência ajusta-se uma curva de k_{La} para fluidos não-Newtonianos, em função da Velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e de K ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$). Determinam-se, então, as constantes d, e e f pela **Equação 4.8**:

$$k_{La} = d \cdot U_{gs}^e \cdot K^f \quad \text{Eq. 4.8}$$

Substituindo a **Equação 4.8** na **Equação 4.7** obtém-se a **Equação 4.9** que expressa a velocidade de cisalhamento média em função apenas das constantes reológicas (K e n) e da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}).

$$\dot{\gamma}_m = \left(\frac{1}{K} \right)^{\frac{1}{n-1}} \cdot \left(\frac{d \cdot U_{gs}^{e-b} \cdot K^f}{a} \right)^{\frac{1}{c \cdot (n-1)}} \quad \text{Eq. 4.9}$$

4.7 Influência da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em cultivos de *Streptomyces clavuligerus*

Para avaliar a influência da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em cultivos de *Streptomyces clavuligerus* foram realizados três cultivos, um em cada modelo de biorreator pneumático, sob as mesmas condições de vazão específica de alimentação de ar (3,5 vvm), que corresponde à velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) de $0,0235 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ para o biorreator coluna de bolhas, $0,0565 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ para o biorreator arilift de cilindros concêntricos e $0,0803 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ para o biorreator airlift “split-cylinder”.

4.7.1 Microrganismo

O microrganismo utilizado neste estudo foi a bactéria *Streptomyces clavuligerus* DSM 41826, conservado na forma de células vegetativas em solução crioprotetora de glicerol 10% (v.v⁻¹) à temperatura de -70°C.

4.7.2 Meios de cultura

Os meios de culturas utilizados no presente trabalho estão descritos nas Tabelas 4.4 e 4.5.

Tabela 4.4 – Composição do meio de cultura de reativação

Componente	Concentração (g.L ⁻¹)
Glicerol	15,0
Extrato de malte	10,0
Peptona bacteriológica	10,0
Extrato de levedo	1,00
K ₂ HPO ₄	2,50
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,75
MOPS ⁽¹⁾	21,0
Solução de sais (mL.L ⁻¹) ⁽²⁾	1,00
pH	6,8

⁽¹⁾ ácido 3-[N-Morpholino]-propanesulfônico: tampão utilizado para manter o pH do meio em 6,8.

⁽²⁾ 1 g.L⁻¹ de MnCl₂.4H₂O, 1 g.L⁻¹ de FeSO₄.7H₂O e 1 g.L⁻¹ de ZnSO₄.7H₂O.

Tabela 4.5 – Composição do meio de cultura de inóculo

Componente	Concentração (g.L⁻¹)
Glicerol	20,0
Soytone ⁽¹⁾	17,0
Extrato de levedo	1,00
K ₂ HPO ₄	0,80
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,75
MOPS	21,0
Solução de sais (mL.L ⁻¹)	1,00
pH	6,8

⁽¹⁾ Soytone: hidrolisado enzimático de proteína de soja.

O meio de cultura de produção teve uma composição semelhante ao meio de inóculo, exceto pela não adição de MOPS uma vez que durante os cultivos em biorreatores, o pH foi controlado pela adição de ácido (HCl 2 M) e base (NaOH 1 M). Durante os cultivos, antiespumante a base de silicone (0,08 mL.L⁻¹) foi adicionado conforme a necessidade.

4.7.3 Cultivos

Os cultivos foram realizados em três etapas básicas: reativação do microrganismo, crescimento e produção. Primeiramente, 3,5 mL de suspensão de células vegetativas de *Streptomyces clavuligerus* mantidas em criotubos foram inoculados em Erlenmeyers de 500 mL contendo 50 mL de meio de reativação, em seguida foram incubados por 24 horas a 28°C e 250 rpm, em mesa incubadora rotativa da New Brunswick Scientific, Inc., modelo G-25 com controles de temperatura e agitação. Posteriormente, 5 mL dessa suspensão foram transferidos para Erlenmeyers de 500 mL contendo 45 mL de meio de cultura de inóculo e, novamente, incubados por 24 horas a 28°C e 250 rpm.

Na etapa de produção, após a etapa de crescimento, transferiu-se para o biorreator o volume de caldo resultante da etapa de inóculo de tal modo que correspondesse a 10% v.v⁻¹ do volume total de caldo. Os cultivos foram realizados em batelada nos biorreatores pneumáticos coluna de bolhas, airlift “split-cylinder” e airlift de cilindros concêntricos.

Amostras de 25 mL foram retiradas de três em três horas para as análises, totalizando 48 horas de cultivo. Em todas as amostras foram determinados os parâmetros reológicos dos caldos de cultivo (índice de consistência, K, e índice de comportamento de escoamento, n), a 28°C, em um reômetro digital LV-DVIII+ de cilindros concêntricos da BROOKFIELD ENGINEERING e a concentração celular através do método da massa seca, obtida por filtração a vácuo e secagem à 105°C por 24 horas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta primeira etapa do trabalho, as diferentes configurações de biorreatores pneumáticos foram caracterizadas em função dos parâmetros retenção gasosa global (ϵ_G) e coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}). Os resultados obtidos são discutidos a seguir.

5.1 Retenção Gasosa Global (ϵ_G)

A determinação da retenção gasosa global (ϵ_G) em diversas condições de operação é essencial para o projeto e operação de um reator multifásico como é o caso de um biorreator pneumático (Chisti e Moo-Young, 1988).

A fração volumétrica de gás no reator ou retenção gasosa global (ϵ_G) é um parâmetro fundamental para a construção do reator, pois determina o tempo de permanência do gás no líquido, controla a área interfacial gás-líquido e determina a transferência de massa da fase gasosa para a fase líquida.

Para os três tipos de biorreatores pneumáticos estudados, em operação com água destilada à 28°C, foram obtidas as retenções gasosas globais (ϵ_G) através da **Equação 3.2**.

A **Figura 5.1** apresenta os resultados de retenção gasosa global (ϵ_G) em função da vazão específica de alimentação ar (ϕ_{ar}) para os 3 biorreatores pneumáticos avaliados neste estudo, sendo que ϕ_{ar} é dado em vvm (volume de ar por volume de meio por minuto ou $\phi_{ar} = Q_{ar}/V$).

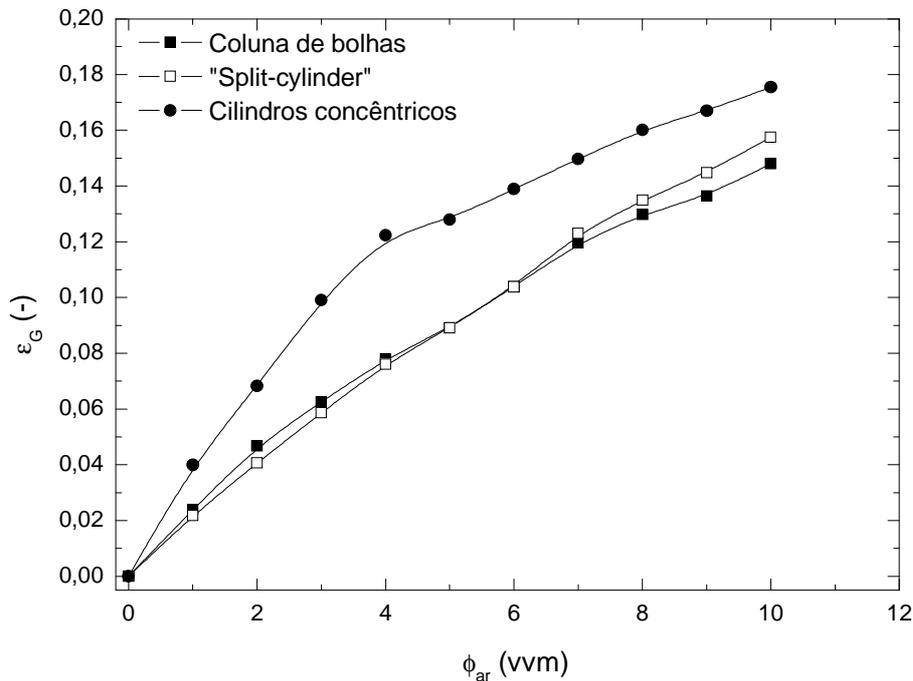


Figura 5.1 – Retenção gasosa global (ϵ_G) em função da vazão específica de alimentação de ar (ϕ_{ar}) para os três biorreatores pneumáticos.

As retenções gasosas globais (ϵ_G) apresentaram valores que variaram entre 15 e 18% nos três tipos de biorreatores avaliados. No biorreator airlift de cilindros concêntricos foi observada o maior valor de retenção gasosa global (ϵ_G) de 0,1754, na condição de operação máxima de 10 vvm ($U_{gs}=0,1617 \text{ m.s}^{-1}$). No biorreator airlift tipo “split-cylinder” foi alcançado o valor de 0,1576 para ϵ_G também a 10 vvm, o que corresponde à velocidade superficial de gás na região de subida (U_{gs}) de $0,2296 \text{ m.s}^{-1}$, enquanto que no biorreator coluna de bolhas atingiu-se o valor máximo de 0,1480 para ϵ_G à U_{gs} de $0,06683 \text{ m.s}^{-1}$.

Chisti e Moo-Young (1988) propuseram uma correlação para descrever a retenção gasosa global (ϵ_G) em função apenas de U_{gs} . Esta correlação representada pela **Equação 5.1** é aplicável para biorreatores tipo coluna de bolhas e airlift. Os autores trabalharam com biorreator coluna de bolhas utilizando o sistema ar-água.

$$\varepsilon_G = \eta \cdot U_{gs}^\omega \quad \text{Eq. 5.1}$$

onde η e ω são constantes.

Utilizando os dados experimentais da **Figura 5.1** para os três tipos de biorreatores, o modelo proposto foi ajustado obtendo-se as seguintes equações:

1. Coluna de bolhas:

$$\varepsilon_G = (1,084 \pm 0,065) \cdot U_{gs}^{(0,730 \pm 0,019)} \quad (R^2=0,996) \quad \text{Eq. 5.2}$$

2. "Split-cylinder":

$$\varepsilon_G = (0,541 \pm 0,017) \cdot U_{gs}^{(0,829 \pm 0,018)} \quad (R^2=0,998) \quad \text{Eq. 5.3}$$

3. Cilindros concêntricos:

$$\varepsilon_G = (0,486 \pm 0,012) \cdot U_{gs}^{(0,542 \pm 0,011)} \quad (R^2=0,97) \quad \text{Eq. 5.4}$$

Para uma melhor visualização da qualidade dos ajustes obtidos pelas **Equações 5.2, 5.3 e 5.4**, a **Figura 5.2** mostra que quase a totalidade dos desvios entre os valores experimentais e calculados são inferiores a 10%.

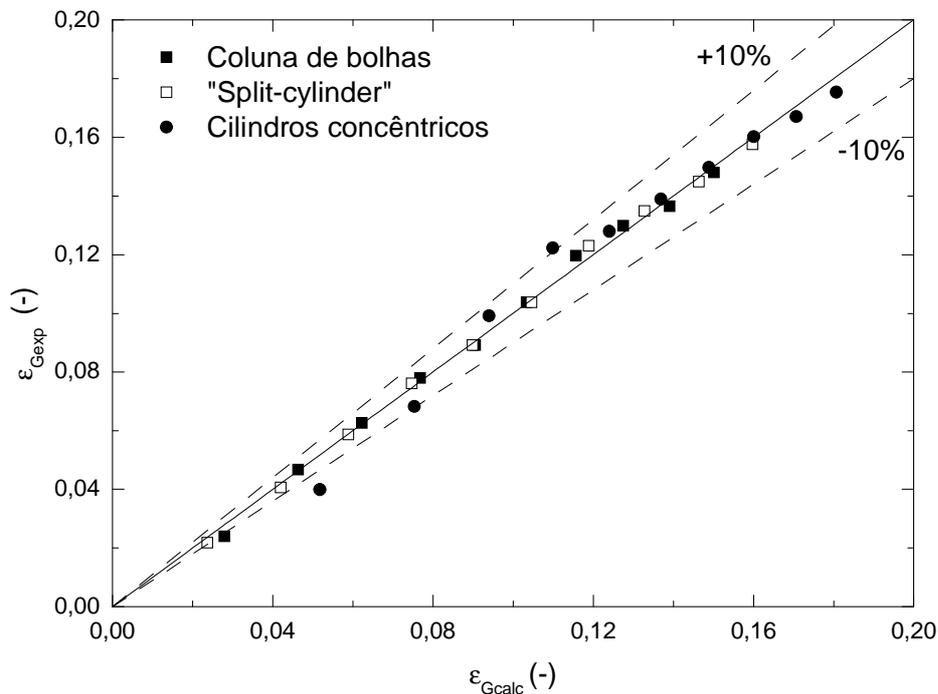


Figura 5.2 – Comparação entre valores calculados (Equações 5.2, 5.3 e 5.4) e experimentais de retenção gasosa global (ϵ_G) para água destilada à 28°C nos três tipos de biorreatores.

Paralelamente aos experimentos para determinação da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), foram realizadas medidas de retenção gasosa global (ϵ_G) nos biorreatores em operação com as sete soluções de glicerol, a 28°C, utilizadas no presente estudo. O intuito dessa análise foi avaliar a influência da viscosidade na retenção gasosa global (ϵ_G) e na velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$). Os dados experimentais de retenção gasosa para cada fluido em função da velocidade superficial de gás na região de subida (U_{gs}) estão expostos na **Figuras 5.3, 5.4 e 5.5**.

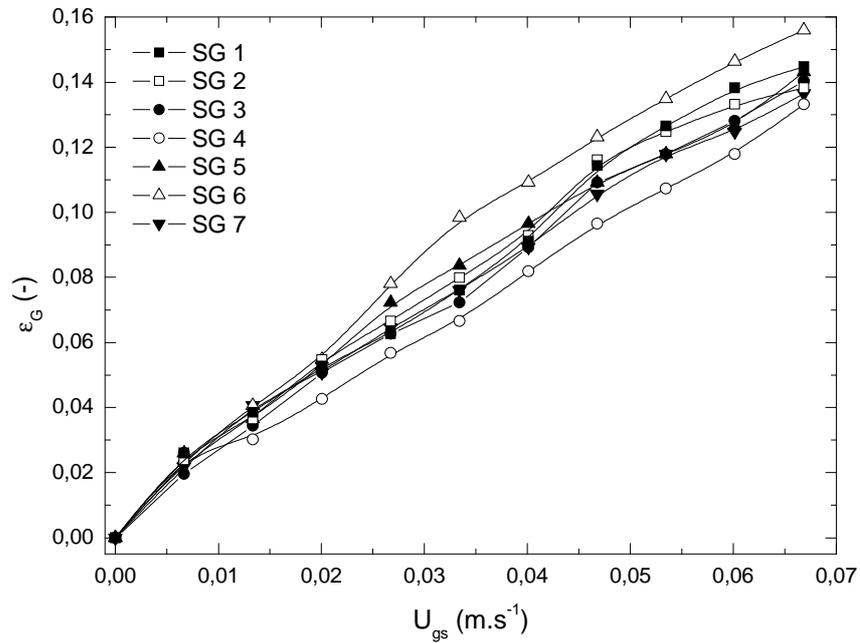


Figura 5.3 - Retenção gasosa global (ϵ_G) em função de U_{gs} para as sete soluções de glicerol no biorreator coluna de bolhas.

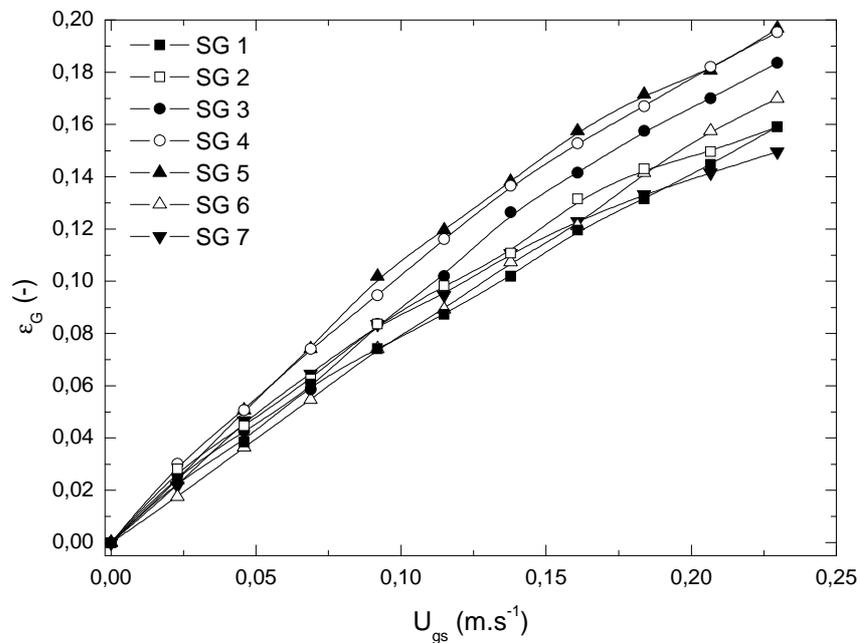


Figura 5.4 - Retenção gasosa global (ϵ_G) em função de U_{gs} para as sete soluções de glicerol no biorreator airlift tipo "split-cylinder".

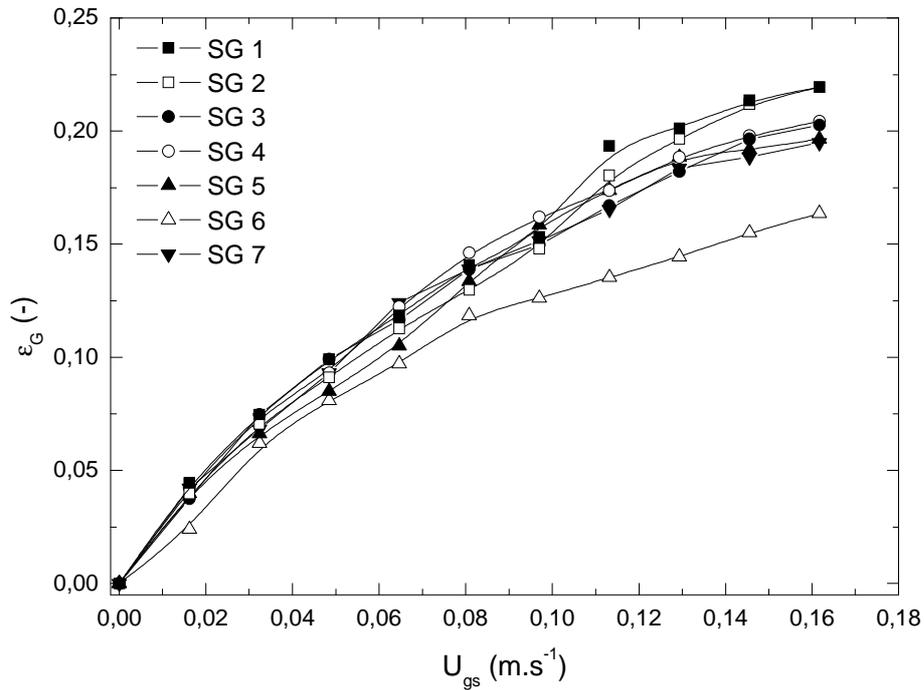


Figura 5.5 - Retenção gasosa global (ϵ_G) em função de U_{gs} para as sete soluções de glicerol no biorreator airlift de cilindros concêntricos.

De posse dos dados experimentais foi proposto o ajuste de uma correlação baseada no trabalho de Shariati et al. (2007) representada pela **Equação 5.5** que relaciona ϵ_G com a velocidade superficial de gás na região de subida (U_{gs}) e com a viscosidade dinâmica da fase líquida (μ).

$$\epsilon_G = a \cdot U_{gs}^b \cdot \mu^c \quad \text{Eq. 5.5}$$

onde a, b e c são constantes.

As equações que seguem representam as correlações ajustadas aos valores experimentais para cada modelo de biorreator:

1. Coluna de bolhas:

$$\epsilon_G = (1,375 \pm 0,154) \cdot U_{gs}^{(0,831 \pm 0,025)} \cdot \mu^{(0,002 \pm 0,015)} \quad (R^2 = 0,96) \quad \text{Eq. 5.6}$$

2. "Split-cylinder":

$$\varepsilon_G = (0,637 \pm 0,085) \cdot U_{gs}^{(0,819 \pm 0,035)} \cdot \mu^{(0,014 \pm 0,022)} \quad (R^2 = 0,94) \quad \text{Eq. 5.7}$$

3. Cilindros concêntricos:

$$\varepsilon_G = (0,412 \pm 0,038) \cdot U_{gs}^{(0,668 \pm 0,020)} \cdot \mu^{(-0,098 \pm 0,015)} \quad (R^2 = 0,96) \quad \text{Eq. 5.8}$$

Observando os valores dos expoentes da viscosidade nas **Equações 5.6, 5.7 e 5.8**, constata-se que, diferentemente de U_{gs} , μ não apresentou grande influência na retenção gasosa global (ε_G) nos três biorreatores estudados. O comportamento da retenção gasosa para fluidos Newtonianos está em concordância com os resultados obtidos por Koide et al. (1983), ratificados posteriormente por Cerri (2009), onde a retenção gasosa não variou significativamente com o aumento da viscosidade.

Para uma melhor visualização da qualidade dos ajustes obtidos pelas **Equações 5.6, 5.7 e 5.8**, a **Figura 5.6** mostra que a grande maioria dos desvios está dentro de uma faixa de erro de 20%.

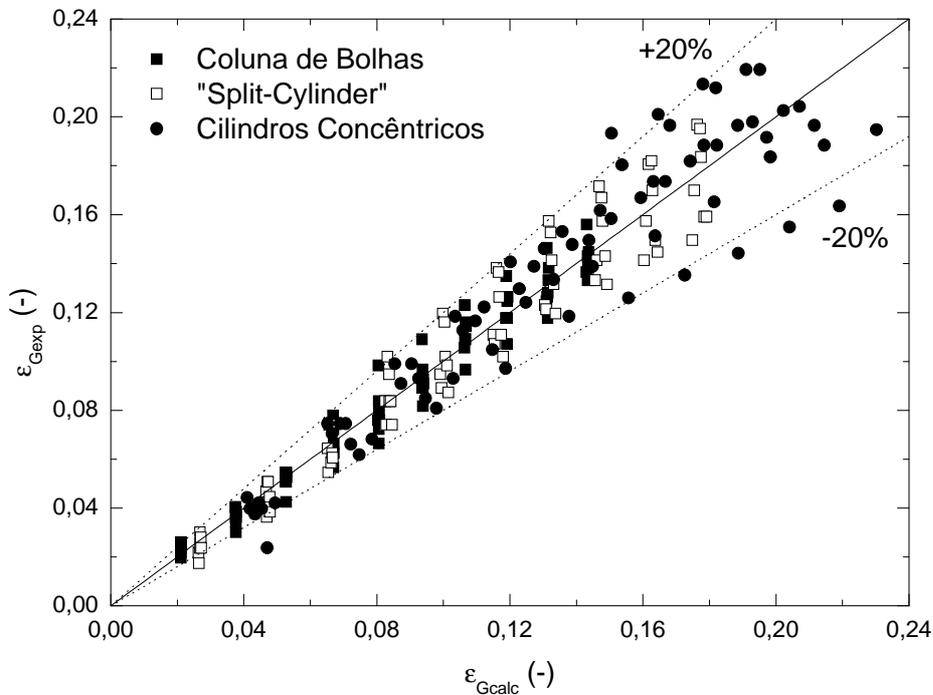


Figura 5.6 – Comparação entre valores calculados (**Equações 5.6, 5.7 e 5.8**) e experimentais de retenção gasosa global (ε_G) para as sete soluções de glicerol nos biorreatores estudados.

Medidas de retenção gasosa global (ϵ_G) também foram realizadas com as cinco soluções de goma xantana, nos três modelos de biorreatores. Diferentemente dos fluidos Newtonianos, a retenção gasosa global (ϵ_G) diminuiu com o aumento do índice de consistência (K), uma vez que os expoentes desses nos três casos apresentaram um valor negativo mais expressivo. As medidas de retenção gasosa foram correlacionadas pelas **Equações 5.9, 5.10 e 5.11**:

1. Coluna de Bolhas:

$$\epsilon_G = (0,901 \pm 0,089) \cdot U_{gs}^{(0,772 \pm 0,032)} \cdot K^{(-0,190 \pm 0,016)} \quad (R^2 = 0,96) \quad \text{Eq. 5.9}$$

2. "Split-Cylinder":

$$\epsilon_G = (0,397 \pm 0,018) \cdot U_{gs}^{(0,717 \pm 0,024)} \cdot K^{(-0,163 \pm 0,012)} \quad (R^2 = 0,98) \quad \text{Eq. 5.10}$$

3. Cilindros Concêntricos:

$$\epsilon_G = (0,446 \pm 0,042) \cdot U_{gs}^{(0,623 \pm 0,040)} \cdot K^{(-0,232 \pm 0,021)} \quad (R^2 = 0,92) \quad \text{Eq. 5.11}$$

No presente trabalho a influência da reologia do fluido não Newtoniano está representada nas **Eq. 5.9, 5.10 e 5.11** pelo índice de consistência (K). Pode-se observar bons ajustes das equações aos valores experimentais. Com relação à influência de K, o mesmo influencia a retenção gasosa global (ϵ_G), no entanto em menor grau que a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}). Ainda, observa-se pelos parâmetros estimados que a influência de K em ϵ_G praticamente independe do modelo de biorreator.

A diminuição da retenção gasosa global (ϵ_G) com o aumento do índice de consistência (K), é resultado do tipo de escoamento e também da alta coalescência de bolhas que ocorre em fluidos não-Newtonianos, sendo que esse tipo de escoamento não ocorre com fluidos Newtonianos.

A comparação entre valores de retenção gasosa calculados pelas **Equações 5.9, 5.10 e 5.11** e os valores experimentais para fluidos não-Newtonianos estão apresentados na **Figura 5.7**, que mostra que a grande maioria dos desvios está dentro de uma faixa de erro de 20%.

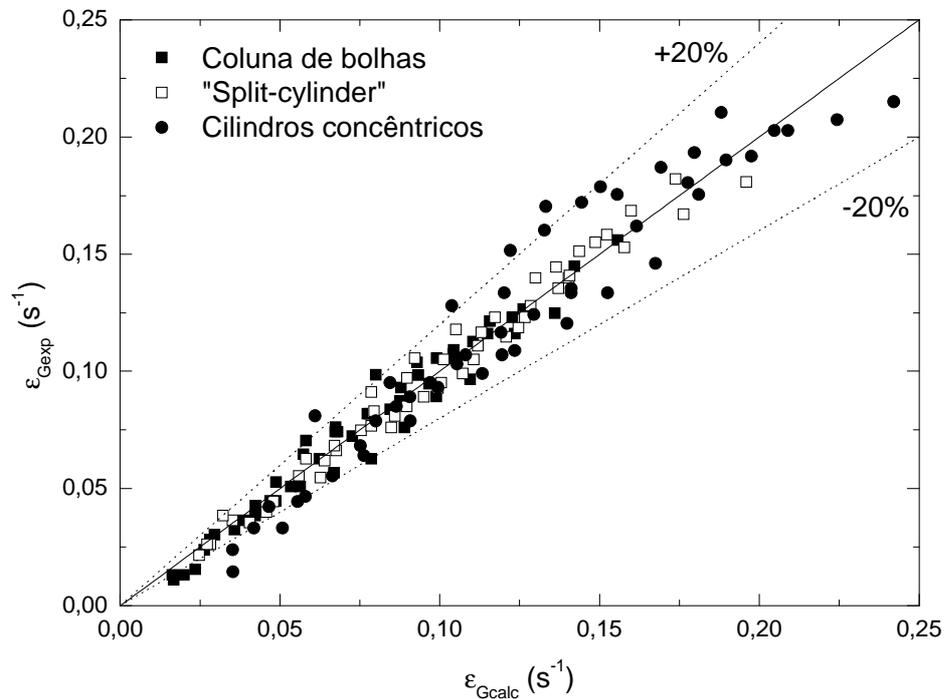


Figura 5.7 – Comparação entre valores calculados (Equações 5.9, 5.10 e 5.11) e experimentais de retenção gasosa global (ϵ_G) para fluidos não-Newtonianos nos biorreatores estudados.

5.2 Transferência de oxigênio

5.2.1 Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) utilizando água destilada como fase líquida

A segunda etapa deste trabalho foi a obtenção de curvas de coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para os três modelos de biorreatores estudados, utilizando como fase líquida água destilada a 28°C. A **Figura 5.8** ilustra os valores obtidos de $k_L a$ em função da vazão específica de alimentação de ar.

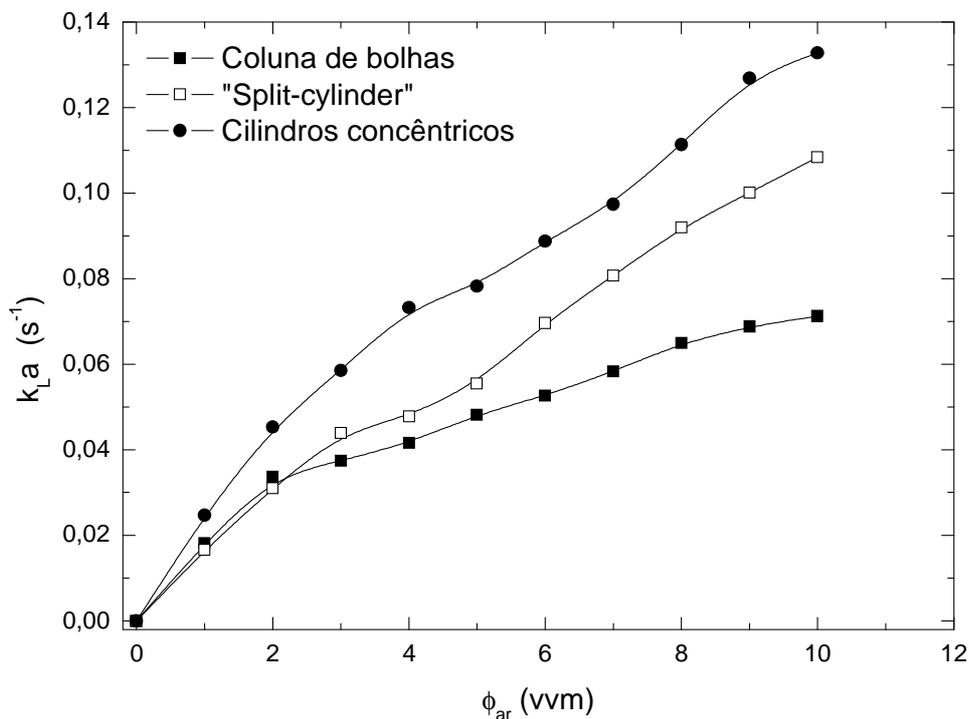


Figura 5.8 – k_{La} em função da vazão específica de alimentação de ar (ϕ_{ar}) para os três modelos de biorreatores operados com água destilada a 28°C.

Alguns pesquisadores correlacionaram dados de k_{La} com U_{gs} utilizando equações do tipo da **Equação 5.12**, com duas constantes β e ϕ , que dependem da escala de operação, das dimensões do sistema e das propriedades físicas da mistura gás-líquido (CHISTI, 1989).

$$k_{La} = \beta \cdot U_{gs}^{\phi} \quad \text{Eq. 5.12}$$

Ajustando a **Equação 5.12** aos dados experimentais obtidos, foram geradas as equações que seguem para os três tipos de biorreatores:

1. Coluna de bolhas:

$$k_{La} = (0,318 \pm 0,020) \cdot U_{gs}^{(0,550 \pm 0,010)} \quad (R^2=0,996) \quad \text{Eq. 5.13}$$

2. "Split-cylinder":

$$k_L a = (0,368 \pm 0,011) \cdot U_{gs}^{(0,832 \pm 0,018)} \quad (R^2=0,998) \quad \text{Eq. 5.14}$$

3. Cilindros concêntricos:

$$k_L a = (0,471 \pm 0,014) \cdot U_{gs}^{(0,700 \pm 0,029)} \quad (R^2=0,98) \quad \text{Eq. 5.15}$$

Mirón et al. (2000) correlacionaram o $k_L a$ com a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para os mesmos modelos de biorreatores avaliados nesse trabalho: coluna de bolhas, airlift tipo “split-cylinder” e airlift de cilindros concêntricos, entretanto, com características geométricas diferentes dos exemplares estudados no presente trabalho e com volume útil de 60 L. Utilizando água de torneira como fase líquida, os autores ajustaram o modelo representado pela **Equação 5.16** aos dados experimentais para os três modelos de biorreatores:

$$k_L a = \frac{a}{(U_{gs}^b - 1)} \quad \text{Eq. 5.16}$$

onde:

a e b: constantes que dependem da escala de operação, das dimensões do sistema e das propriedades físicas da mistura gás-líquido.

Em cada biorreator avaliado, os autores encontraram diferentes valores de a e b. Para o biorreator coluna de bolhas, $a=0,874$ e $b=-0,979$. Para o biorreator airlift tipo “split-cylinder”, $a=0,837$ e $b=-0,971$. E, por fim, para o biorreator airlift de cilindros concêntricos, $a=0,641$ e $b=-0,935$. No entanto, observa-se que os valores de a e b não apresentaram grandes diferenças.

Na **Figura 5.9** estão apresentadas as curvas correspondentes aos valores de $k_L a$ obtidos pelas correlações propostas por Mirón et al. (2000) para os três modelos de biorreatores, bem como aquelas obtidas pelas correlações obtidas no presente trabalho para os tipos de biorreatores estudados. É possível visualizar que as curvas para cada modelo de reator são semelhantes e acompanham uma mesma tendência.

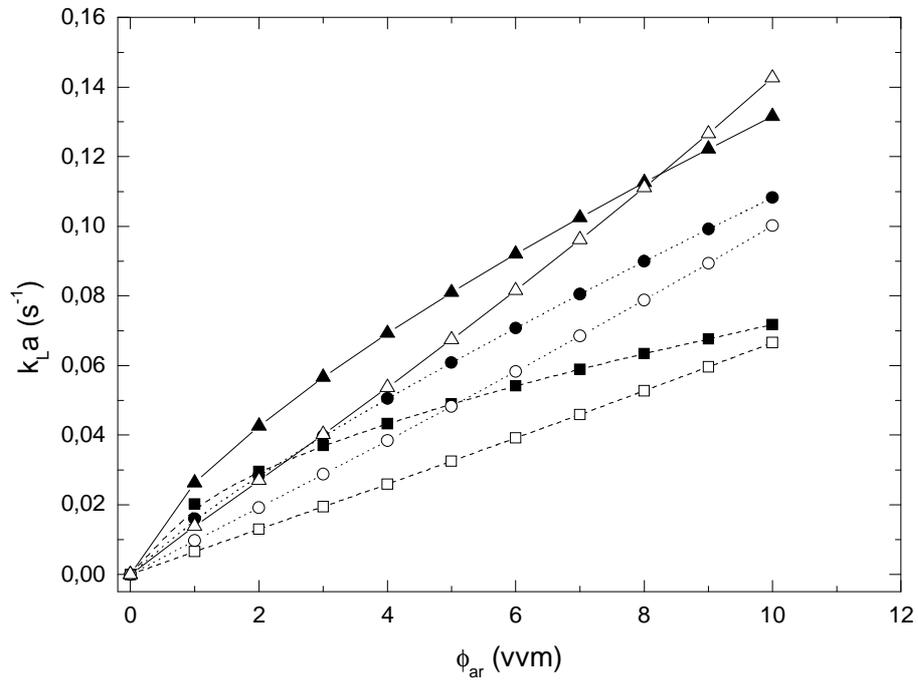


Figura 5.9 – Correlações obtidas neste estudo: (■) Coluna de bolhas, (●) “Split-cylinder”, (▲) Cilindros concêntricos. Correlações obtidas por Mirón et al. (2000): (□) Coluna de bolhas, (○) “Split-cylinder”, (△) Cilindros concêntricos.

Para uma melhor visualização da qualidade dos ajustes obtidos nas **Equações 5.13, 5.14 e 5.15**, a **Figura 5.10** mostra que a grande maioria dos desvios está dentro de uma faixa de erro de 5%.

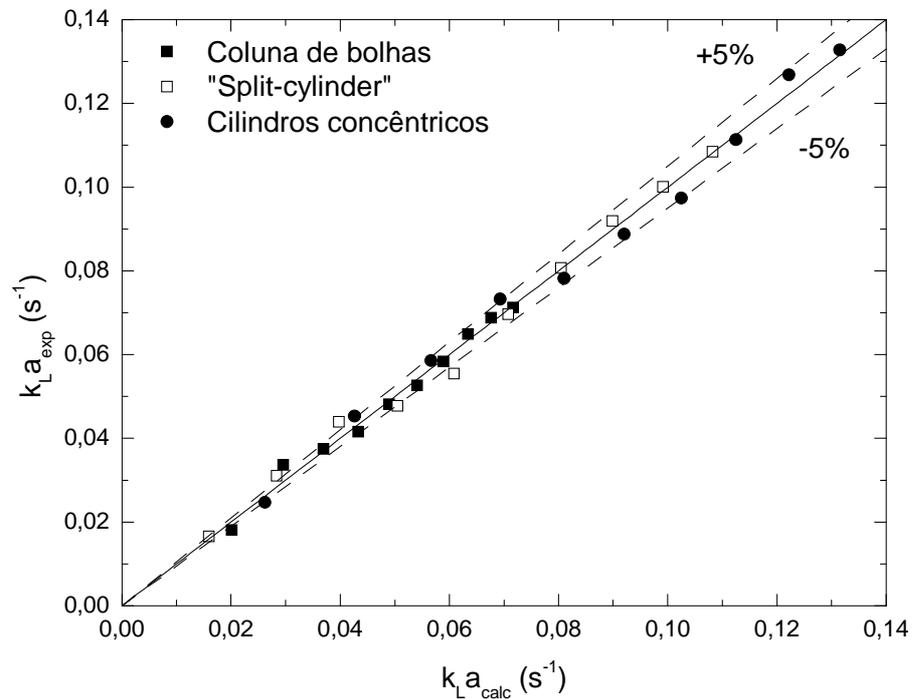


Figura 5.10 – Comparação entre valores calculados (Equações 5.13, 5.14 e 5.15) e experimentais de $k_L a$ para água destilada, à 28°C, para os três tipos de biorreatores.

5.2.2 Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{GS}) e da viscosidade (μ) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$)

Segundo Moo-Young et al. (1987), o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) depende da velocidade superficial de gás, da geometria do reator e também das propriedades físicas do fluido. A viscosidade do fluido tem um efeito muito significativo na transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida. Para ilustrar esse efeito foram determinados valores de $k_L a$ para fluidos Newtonianos com diferentes viscosidades (**Tabela 4.1**) nos três modelos de biorreatores. As **Figuras 5.11, 5.12 e 5.13** ilustram o efeito da viscosidade no $k_L a$.

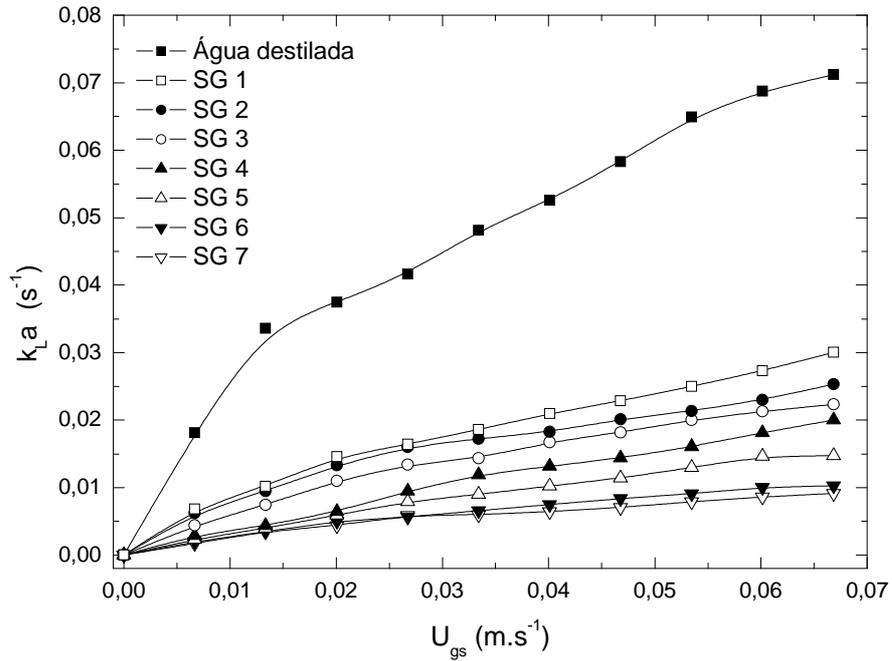


Figura 5.11 - k_{La} em função de U_{gs} para diferentes fluidos Newtonianos (biorreator coluna de bolhas).

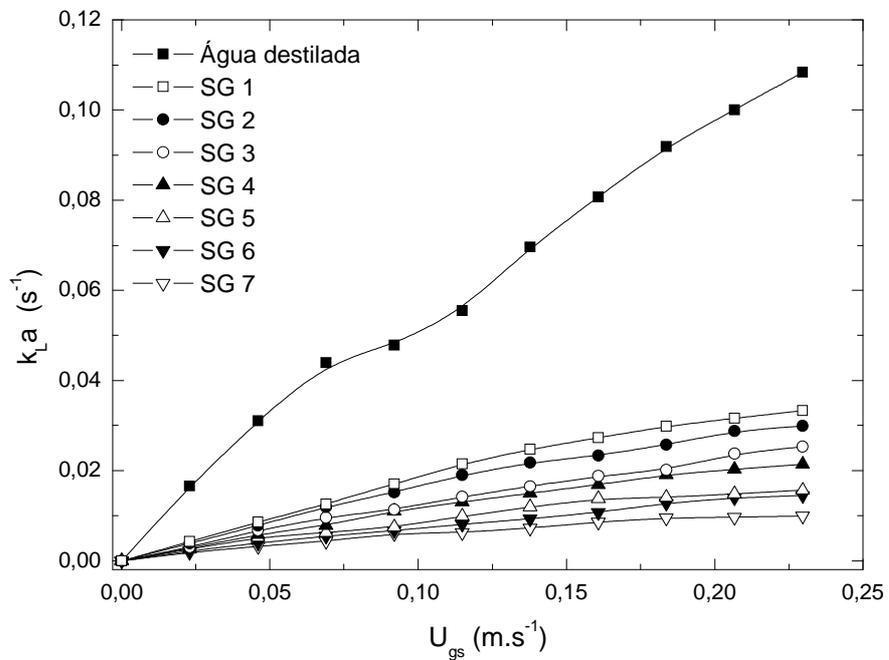


Figura 5.12 - k_{La} em função de U_{gs} para diferentes fluidos Newtonianos (biorreator airlift tipo "Split-cylinder").

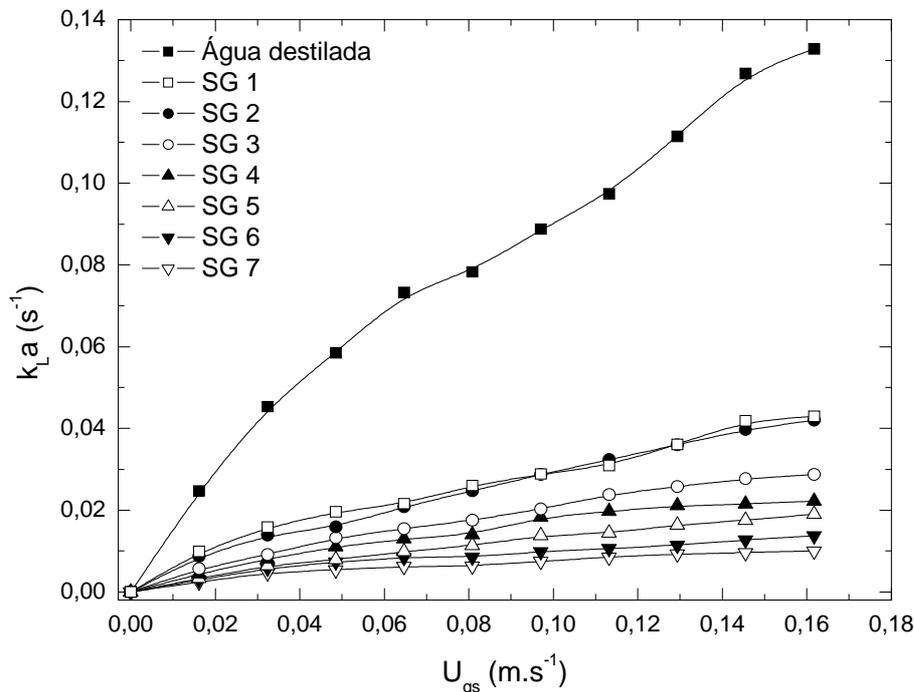


Figura 5.13 - k_{La} em função de U_{gs} para diferentes fluidos Newtonianos (biorreator de cilindros concêntricos).

Pode-se observar que os valores de k_{La} foram muito afetados pelo aumento da viscosidade dos fluidos. Para exemplificar, no reator airlift de cilindros concêntricos, o maior valor de k_{La} foi encontrado com água destilada ($\mu = 0,84 \cdot 10^{-3}$ Pa.s) à U_{gs} de $0,16172 \text{ m.s}^{-1}$ foi igual a $0,13279 \text{ s}^{-1}$. Para o mesmo biorreator operado com o mesmo valor de U_{gs} com uma solução de glicerol aproximadamente 4,4 vezes mais viscosa que a água (glicerol 40% v/v - $\mu = 3,6653 \cdot 10^{-3}$ Pa.s), obteve-se um valor de k_{La} de $0,0288 \text{ s}^{-1}$, 78% menor do encontrado para a água, provando que o aumento da viscosidade influencia fortemente a transferência de oxigênio para a fase líquida, dificultando-a. A mesma tendência foi observada nos três modelos de reatores.

Mehrnia et al. (2005) pesquisaram a transferência de oxigênio em biorreatores airlift de cilindros concêntricos de 24 L de volume útil, com fluidos à base de petróleo, mostrando que a viscosidade também influenciou nos valores de k_{La} . Os autores propuseram uma relação para demonstrar os efeitos da velocidade

superficial do gás e da viscosidade no k_{La} , seguindo a forma da **Equação 4.5**, e encontraram a seguinte correlação:

$$k_{La} = 0,235.U_{gs}^{0,757}.\mu^{-0,110} \quad \text{Eq. 5.17}$$

Esta correlação descreveu bem 85% dos pontos experimentais com erro máximo de 20%. Cerri et al. (2008) utilizando a mesma correlação para ajuste de resultados experimentais obtidos em biorreator airlift de cilindros concêntricos de 5 L de volume útil operado com diferentes soluções de glicerol, mostraram que o efeito da viscosidade no k_{La} foi muito maior que o observado por Mehrnia et al. (2005). A **Equação 5.18** mostra a correlação encontrada por Cerri et al. (2008).

$$k_{La} = 0,01304.U_{gs}^{0,803}.\mu^{-0,492} \quad \text{Eq. 5.18}$$

Os valores experimentais de k_{La} obtidos para água destilada e sete diferentes soluções de glicerol em dez diferentes valores de U_{gs} foram correlacionados para cada um dos 3 modelos de biorreatores de acordo com as **Equações 5.19, 5.20 e 5.21**:

1. Coluna de bolhas:

$$k_{La} = (7,8 \cdot 10^{-4} \pm 1,2 \cdot 10^{-4}).U_{gs}^{(0,584 \pm 0,027)}.\mu^{(-0,859 \pm 0,019)} \quad (R^2=0,97) \quad \text{Eq. 5.19}$$

2. "Split-cylinder";

$$k_{La} = (3,5 \cdot 10^{-4} \pm 5,0 \cdot 10^{-5}).U_{gs}^{(0,822 \pm 0,030)}.\mu^{(-0,979 \pm 0,019)} \quad (R^2=0,98) \quad \text{Eq. 5.20}$$

3. Cilindros concêntricos:

$$k_{La} = (1,8 \cdot 10^{-4} \pm 4,2 \cdot 10^{-5}).U_{gs}^{(0,697 \pm 0,046)}.\mu^{(-1,104 \pm 0,039)} \quad (R^2=0,95) \quad \text{Eq. 5.21}$$

Os altos valores de coeficiente de correlação (R^2) evidenciam o bom ajuste das correlações propostas. Como esperado, o k_{La} é afetado positivamente por U_{gs} e negativamente pela viscosidade (μ), como mostra os sinais dos expoentes de U_{gs} e μ que apresentam sinais contrários.

Pode-se observar ainda que, apesar das **Equações 5.17, 5.18 e 5.19** serem todas propostas para fornecer o valor de $k_L a$ em biorreator modelo airlift de cilindros concêntricos, suas constantes se diferem, devido às diferenças geométricas entre os biorreatores utilizados em cada estudo, às propriedades físicas da mistura gás-líquido, bem como às faixas experimentais de U_{gs} e μ .

Na **Figura 5.14** é possível visualizar os valores de $k_L a$ experimentais ($k_{L a_{exp}}$) em função dos valores de $k_L a$ calculados ($k_{L a_{calc}}$) através das **Equações 5.19, 5.20 e 5.21**. Pode-se observar, ainda, que a maioria dos desvios entre valores experimentais e calculados são inferiores a 20%.

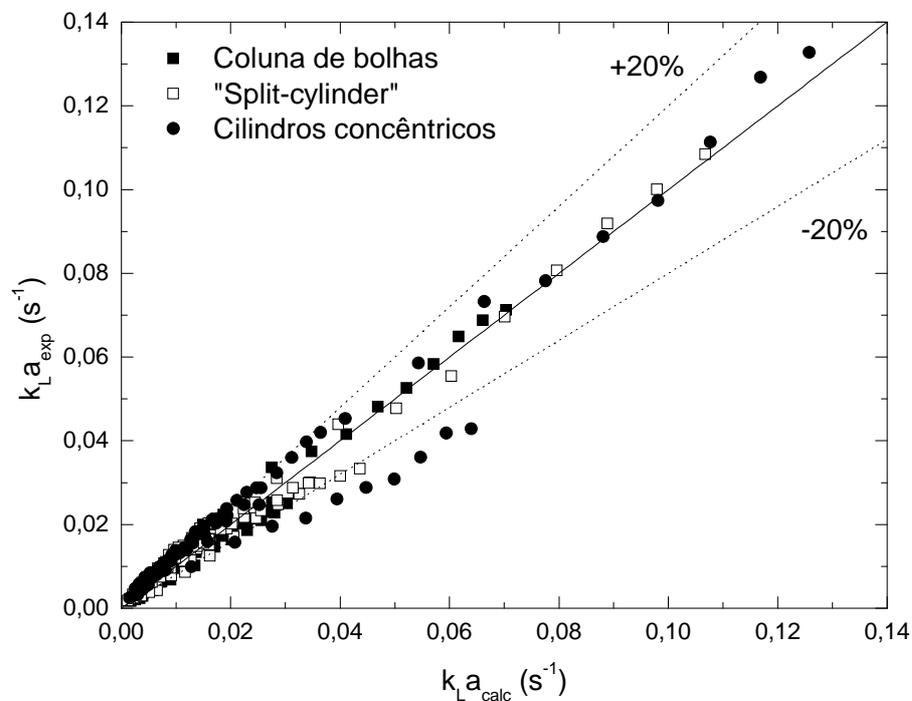


Figura 5.14 – Comparação entre valores calculados (**Equações 5.19, 5.20 e 5.21**) e experimentais de $k_L a$ para fluidos Newtonianos nos três tipos de biorreatores estudados.

5.2.3 Efeito da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e do índice de consistência do fluido (K) no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$)

Semelhantemente ao que foi realizado para fluidos Newtonianos, dez valores experimentais de $k_L a$ foram obtidos para cinco diferentes soluções de fluido

não-Newtoniano (soluções de goma xantana – **Tabela 4.2**) a dez valores diferentes de velocidade superficial de gás (U_{gs}). As **Figuras 5.15, 5.16 e 5.17** mostram o comportamento do k_{La} em função de U_{gs} para as soluções estudadas em cada biorreator.

Como esperado, o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) diminuiu com o aumento da concentração das soluções de goma xantana.

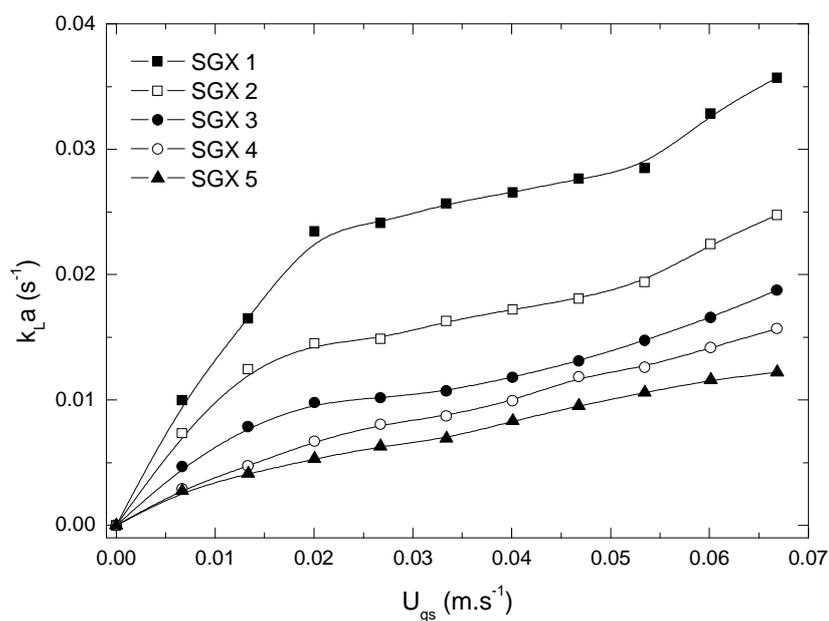


Figura 5.15 - k_{La} em função de U_{gs} para os fluidos não-Newtonianos (Coluna de bolhas).

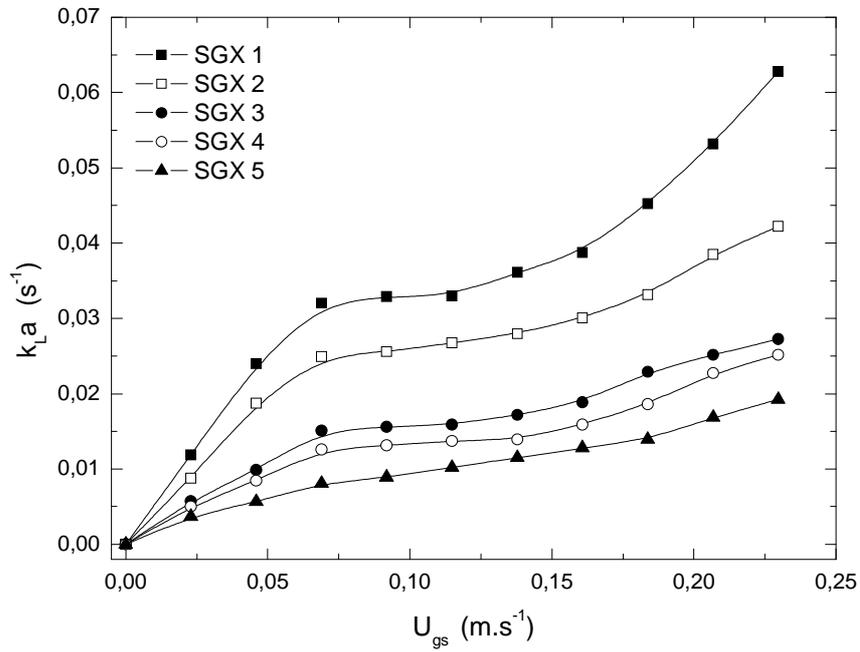


Figura 5.16 - k_{La} em função de U_{gs} para os fluidos não-Newtonianos (“Split-cylinder”).

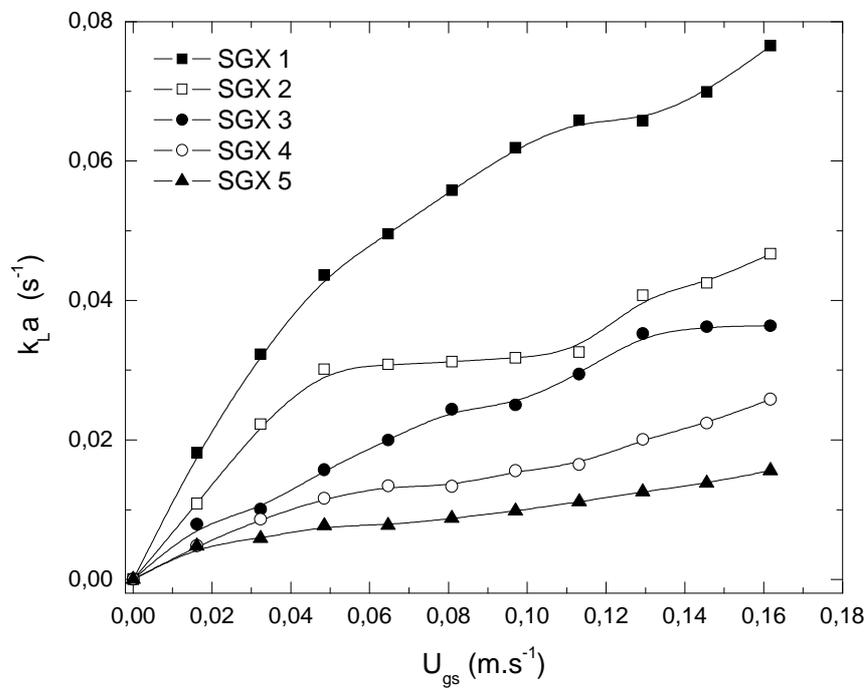


Figura 5.17 - k_{La} em função de U_{gs} para os fluidos não-Newtonianos (biorreator airlift de cilindros concêntricos).

Kawase e Hashiguchi (1996) observaram que o k_{La} foi praticamente independente do índice de comportamento de escoamento do fluido (n) para água, carboxi-metil celulose e soluções de goma xantana. Baseado nesses argumentos, neste estudo, o k_{La} foi relacionado apenas com U_{gs} e o índice de consistência (K), ignorando a influência do índice de comportamento de escoamento do fluido (n), conforme a **Equação 4.7**. As correlações obtidas para os três biorreatores são apresentadas na seqüência.

1. Coluna de bolhas

$$k_{La} = (5,28 \cdot 10^{-2} \pm 4,2 \cdot 10^{-3}) \cdot U_{gs}^{(0,491 \pm 0,024)} \cdot K^{(-0,524 \pm 0,015)} \quad (R^2=0,97) \quad \text{Eq. 5.22}$$

2. "Split-cylinder"

$$k_{La} = (4,66 \cdot 10^{-2} \pm 3,8 \cdot 10^{-3}) \cdot U_{gs}^{(0,601 \pm 0,038)} \cdot K^{(-0,554 \pm 0,026)} \quad (R^2=0,95) \quad \text{Eq. 5.23}$$

3. Cilindros concêntricos

$$k_{La} = (4,36 \cdot 10^{-2} \pm 2,3 \cdot 10^{-3}) \cdot U_{gs}^{(0,542 \pm 0,023)} \cdot K^{(-0,679 \pm 0,017)} \quad (R^2=0,98) \quad \text{Eq. 5.24}$$

Os altos valores de coeficiente de correlação (R^2) evidenciam o bom ajuste das correlações. Como esperado, o k_{La} é afetado positivamente por U_{gs} e negativamente pelo índice de consistência do fluido (K), como mostra os sinais dos expoentes de U_{gs} e K que apresentam sinais contrários.

Na **Figura 5.18** é possível visualizar os valores de k_{La} calculados ($k_{La_{calc}}$) através das **Equações 5.22, 5.23 e 5.24** em função dos valores experimentais de k_{La} ($k_{La_{exp}}$). Pode-se observar, ainda, que a maioria dos desvios entre os valores experimentais e os calculados é inferior a 10%.

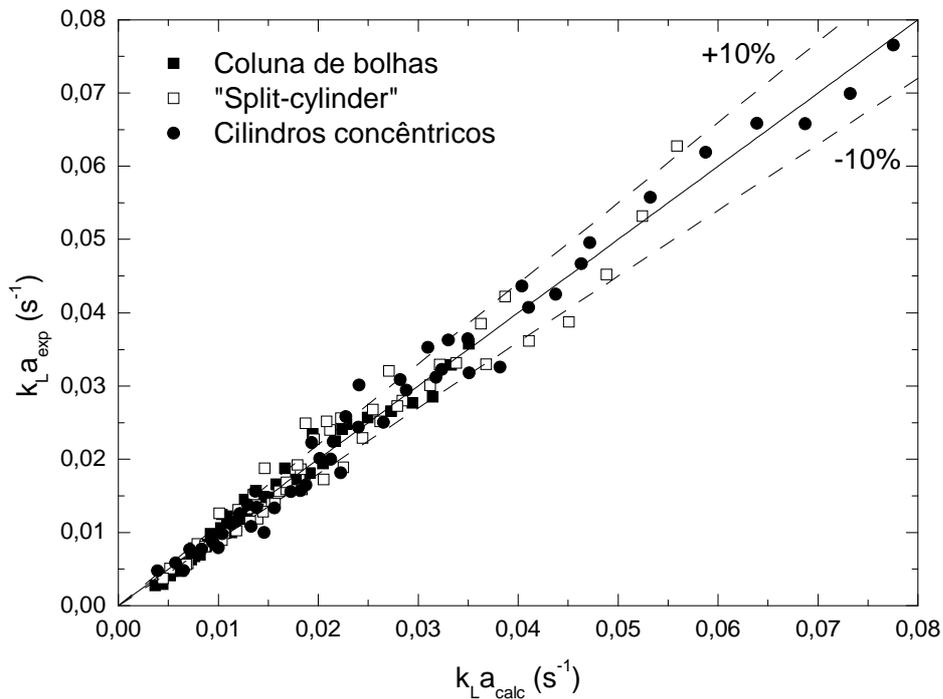


Figura 5.18 – Comparação entre valores calculados (**Equações 5.22, 5.23 e 5.24**) e experimentais de $k_L a$ para fluidos não-Newtonianos nos três modelos de biorreatores.

5.3 Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$)

A partir dos valores de $k_L a$ obtidos para os fluidos não-Newtonianos, das constantes a , b e c da **Equação 4.5** estimadas para os três biorreatores (**Equações 5.19, 5.20 e 5.21**), e das constantes d , e e f da **Equação 4.7** foi possível obter as equações de previsão da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) para cada modelo de biorreator (**Equações 5.25, 5.26 e 5.27**), conforme metodologia descrita no item 4.6. São elas:

1. Coluna de bolhas

$$\dot{\gamma}_m = (7,38 \cdot 10^{-3} \cdot U_{gs}^{0.110} \cdot K^{-0.389})^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 5.25}$$

2. "Split-cylinder"

$$\dot{\gamma}_m = (6,5 \cdot 10^{-3} \cdot U_{gs}^{0.227} \cdot K^{-0.432})^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 5.26}$$

3. Cilindros concêntricos

$$\dot{\gamma}_m = (6,95 \cdot 10^{-3} \cdot U_{gs}^{0.140} \cdot K^{-0.385})^{\frac{1}{n-1}} \quad \text{Eq. 5.27}$$

As **Equações 5.25, 5.26 e 5.27** fornecem a estimativa direta da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) a partir dos dados experimentais da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e dos parâmetros reológicos do fluido (K e n) em cada modelo de biorreator estudado. As **Figuras 5.19, 5.20 e 5.21** ilustram os valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) calculados em função de U_{gs} para fluidos não-Newtonianos em cada modelo de biorreator.

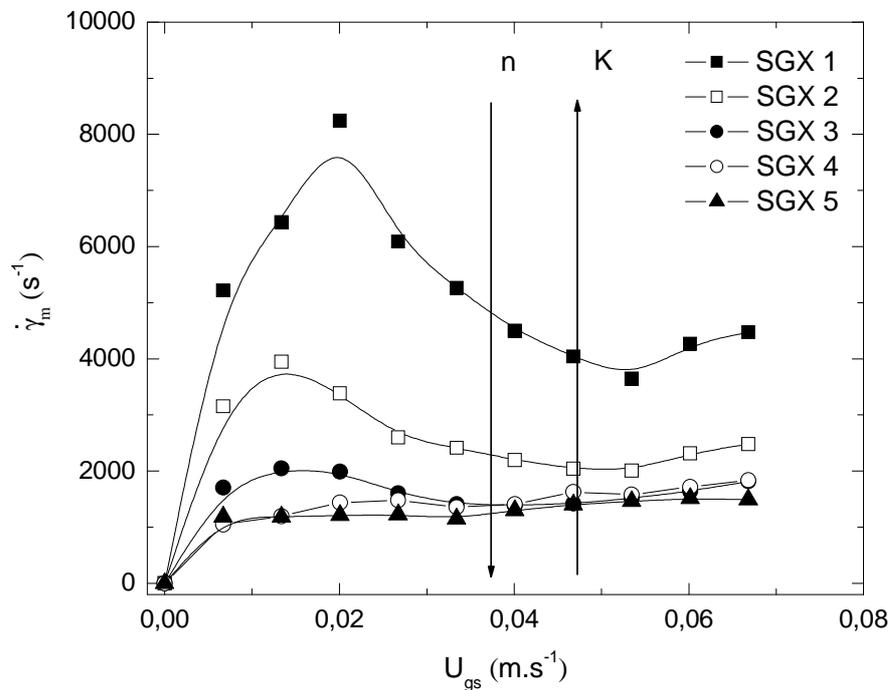


Figura 5.19 – Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) no biorreator coluna de bolhas em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para soluções de goma xantana

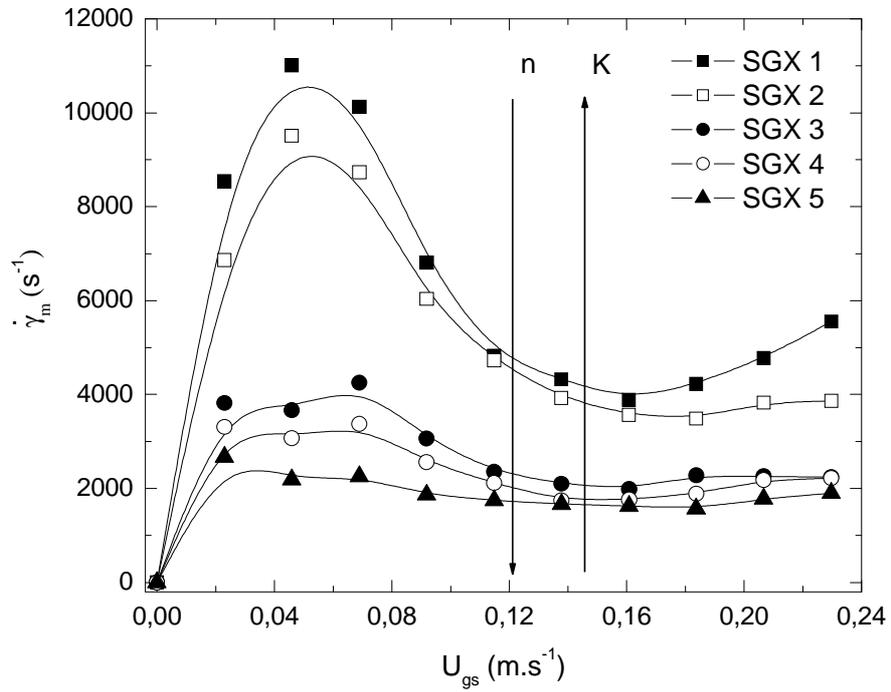


Figura 5.20 – Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) no biorreator airlift tipo “split-cylinder” em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para soluções de goma xantana

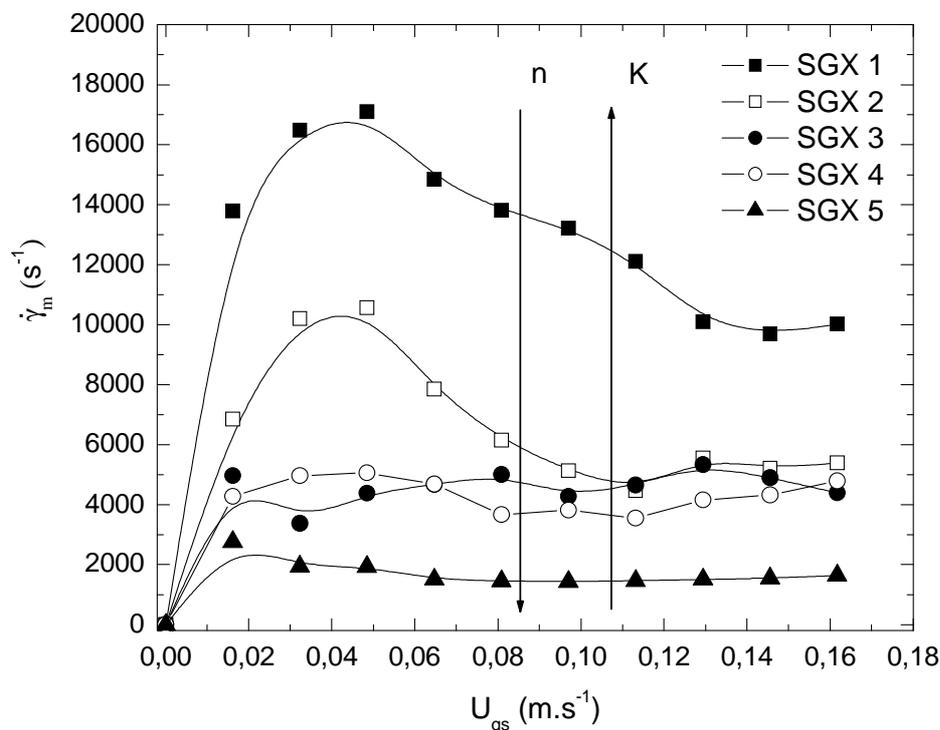


Figura 5.21 – Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) no biorreator airlift de cilindros concêntricos em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para soluções de goma xantana

Conforme pode ser observado nas **Figuras 5.19, 5.20 e 5.21**, os valores da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) tiveram um acréscimo com o aumento da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}), até que um valor máximo de $\dot{\gamma}_m$ fosse atingido, para todas as soluções de goma xantana utilizadas neste estudo, nos três modelos de biorreatores. Em seguida, a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) diminuiu com o aumento de U_{gs} .

Para um valor constante de U_{gs} , a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) diminuiu com o aumento da concentração das soluções de goma xantana ou com o aumento do índice de consistência (K) e diminuição do índice de comportamento de escoamento (n), independente do modelo de biorreator avaliado.

Esses comportamentos foram justificados por Cerri et al. (2008) para biorreator airlift de cilindros concêntricos de 5 L. “O coeficiente convectivo de transferência na fase líquida (k_L) aumenta com o aumento de U_{gs} devido à

diminuição na espessura da película ao redor da bolha de gás. A área interfacial de troca de massa (a) aumenta conforme se aumenta U_{gs} , como consequência de um aumento na retenção gasosa global (ε_G), até um valor máximo de U_{gs} . Depois desse valor máximo de U_{gs} , enquanto k_L e ε_G continuam aumentando com o aumento de U_{gs} , a área interfacial de troca de massa (a) começa a diminuir devido à coalescência de bolhas e, portanto, $k_L a$ é diretamente afetado.” O presente estudo mostra que essa é uma tendência que também ocorre nos biorreatores airlift tipo “split-cylinder” e coluna de bolhas. Nos três modelos de biorreatores, o valor máximo de $\dot{\gamma}_m$ foi atingido com valores de U_{gs} de 0,020, 0,045 e 0,050 $m.s^{-1}$, respectivamente, para os biorreatores coluna de bolhas, airlift tipo split-cylinder” e airlift de cilindros concêntricos. Com o aumento desses valores, $\dot{\gamma}_m$ diminui, mostrando que a coalescência de bolhas é uma característica visível, não apenas no biorreator airlift de cilindros concêntricos, mas também nos biorreatores airlift “split-cylinder” e coluna de bolhas.

Analisando ainda as **Figuras 5.19, 5.20 e 5.21**, os valores máximos de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foram diferentes para os três modelos de biorreatores avaliados. Entretanto, comparando os valores de $\dot{\gamma}_m$, é possível notar que os maiores valores foram encontrados para o biorreator airlift de cilindros concêntricos, seguido pelo biorreator airlift tipo “split-cylinder” e, finalmente, pelo biorreator coluna de bolhas, este com os menores valores. Parece haver uma relação direta entre a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) e a capacidade do biorreator de produzir circulação interna. Para o biorreator airlift de cilindros concêntricos, que produz uma eficiente circulação interna, $\dot{\gamma}_m$ alcançou valores próximos à $17000 s^{-1}$, utilizando solução de goma xantana à concentração de $1,0 g.L^{-1}$ como fluido não-Newtoniano. Apesar do biorreator airlift tipo “split-cylinder” ser um biorreator de circulação interna, ele não a faz com a mesma eficiência do biorreator airlift de cilindros concêntricos devido à sua própria geometria, alcançando dessa forma, valores máximos de $\dot{\gamma}_m$ próximos à $11000 s^{-1}$, sob as mesmas condições experimentais. No biorreator coluna de bolhas, que não produz circulação interna, a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) atingiu valores próximos a $8000 s^{-1}$.

É possível observar, ainda, que a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) tem relação direta com a retenção gasosa global (ϵ_G), uma vez que esta afeta a turbulência do sistema de maneira positiva, aumentando o número de bolhas presentes no biorreator. O biorreator coluna de bolhas apresentou os menores valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) quando comparado aos outros dois biorreatores estudados. Isso é devido ao fato da retenção gasosa global (ϵ_G) nesse biorreator ser menor entre os três modelos estudados. A ϵ_G variou em torno de 14% para fluidos Newtonianos a uma vazão de ar específica (ϕ_{ar}) de 10 vvm (50 L.min⁻¹) para esse modelo de biorreator, alcançando um valor máximo de $\dot{\gamma}_m$ de 8200 s⁻¹. Já no biorreator airlift tipo “split-cylinder”, no qual ϵ_G variou em torno de 17% nas mesmas condições de vazão de alimentação de ar, $\dot{\gamma}_m$ atingiu um máximo de 11000 s⁻¹. Já para o biorreator airlift de cilindros concêntricos, ϵ_G variou próximo a 20%, com um valor máximo de $\dot{\gamma}_m$ de 17100 s⁻¹.

Para fins comparativos, a **Figura 5.22** ilustra os resultados de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) encontrados neste estudo e aqueles obtidos de correlações disponíveis na literatura para biorreatores pneumáticos. Na comparação, foi utilizada como fluido solução de goma xantana 2,5 g.L⁻¹, que apresenta propriedades reológicas similares às de um caldo de fermentação não muito viscoso ($K=1,021$ Pa.sⁿ e $n=0,27$).

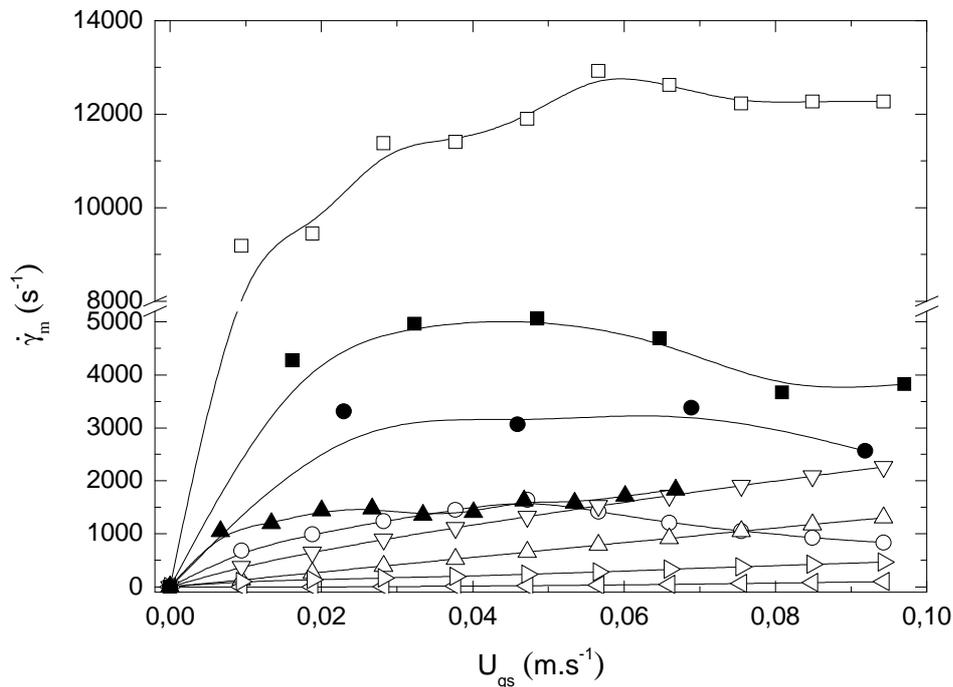


Figura 5.22 - Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em função da velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) para biorreatores pneumáticos: (\triangleright) Nishikawa et al. (1977), (\triangle) Chisti and Moo-Young (1989), (\triangleleft) Shi et al. (1990), (∇) Kawase and Kumagai (1991), (\square) Contreras et al. (1999), (\circ) Cerri et al. (2008) e presente estudo - (\blacktriangle) coluna de bolhas, (\bullet) split-cylinder e (\blacksquare) airlift de cilindros concêntricos

Pode-se observar que os valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) obtidos pela metodologia proposta e os valores obtidos pelas correlações da literatura para diferentes biorreatores pneumáticos apresentam boa concordância e mesma ordem de magnitude, com exceção à correlação de Contreras et al. (1999) proposta para fluidos Newtonianos.

As únicas correlações usadas para estimar $\dot{\gamma}_m$, que consideram os parâmetros reológicos do fluido, são as propostas por Kawase e Kumagai (1991) e Cerri et al. (2008). A primeira, apesar de levar em consideração as propriedades reológicas K e n no cálculo de $\dot{\gamma}_m$, é muito geral e prediz a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) sem considerar o tipo de biorreator pneumático (coluna de bolhas e biorreatores airlift de circulação interna ou externa). A segunda é específica

para biorreator airlift de cilindros concêntricos. Entretanto, os valores de $\dot{\gamma}_m$ encontrados pelos autores foram inferiores ao do presente trabalho, devido aos baixos valores de k_{La} obtidos em um biorreator contendo um aspersor de gás com diferentes características geométricas do utilizado no presente estudo.

5.4 Velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em cultivos de *Streptomyces clavuligerus*

Para fins comparativos, a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foi avaliada durante cultivos de *Streptomyces clavuligerus* nos três modelos de biorreatores, sob as mesmas condições experimentais de alimentação de (3,5 vvm). Durante um cultivo em batelada, o índice de consistência (K) do caldo de fermentação aumenta, enquanto o índice de comportamento de escoamento (n) diminui, uma situação comparável ao que está ilustrado nas **Figuras 5.19, 5.20 e 5.21**. No começo do cultivo, o consumo de oxigênio é baixo, uma vez que a concentração celular é pequena. Com o crescimento celular, o consumo de oxigênio vai aumentando. Por isso, é importante definir um perfil de aeração durante o cultivo de forma a fornecer oxigênio suficiente para as células, evitando uma condição de alto cisalhamento no biorreator.

A **Figura 5.24** ilustra o comportamento do índice de consistência (K) durante os cultivos de *Streptomyces clavuligerus* nos três modelos de biorreatores estudados. O maior valor de K máximo ($K_{m\acute{a}x}$) foi encontrado no cultivo realizado no biorreator coluna de bolhas e o menor no cultivo realizado no biorreator airlift de cilindros concêntricos. Um valor intermediário de $K_{m\acute{a}x}$ foi observado no cultivo realizado no biorreator airlift “split-cylinder”.

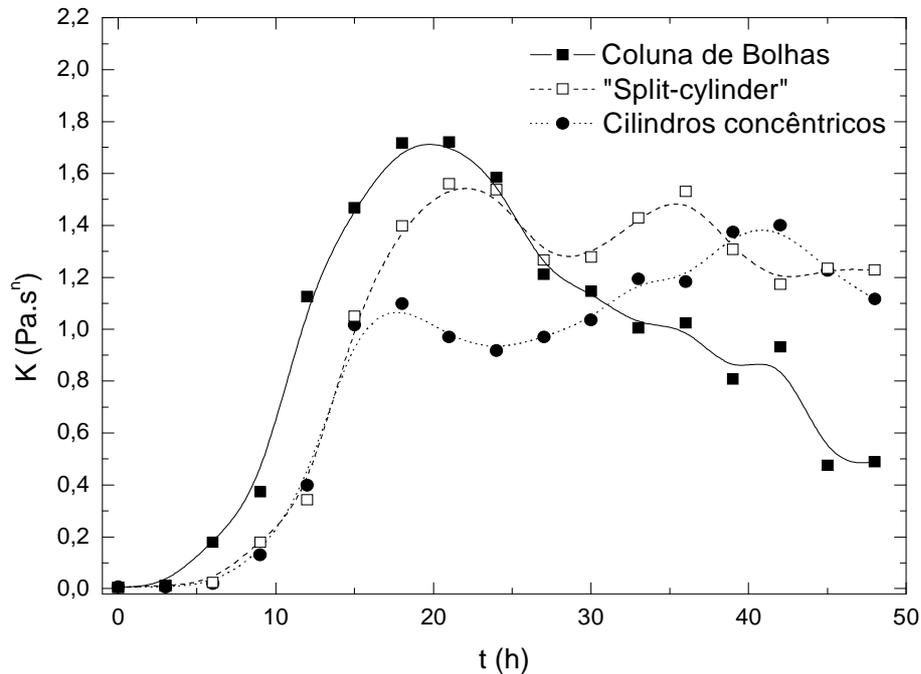


Figura 5.24 – Perfil do índice de consistência (K) durante os cultivos nos três biorreatores

A **Figura 5.25** ilustra o comportamento do crescimento celular nos três modelos de biorreatores. Os maiores valores de concentração celular (em g.L^{-1}) foram encontrados no cultivo realizado no biorreator coluna de bolhas e os menores valores no biorreator airlift de cilindros concêntricos. Valores intermediários foram encontrados para o biorreator airlift “split-cylinder”. Na seqüência, a **Figura 5.26** ilustra o perfil da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) durante cultivos de *Streptomyces clavuligerus* nos três modelos de biorreatores. Uma vez que a metodologia utilizada para estimar $\dot{\gamma}_m$ é usada para fluidos não-Newtonianos, e caldos de fermentação apresentam comportamento Newtoniano no início da fermentação, os valores experimentais de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foram calculados a partir de 15 horas de cultivo.

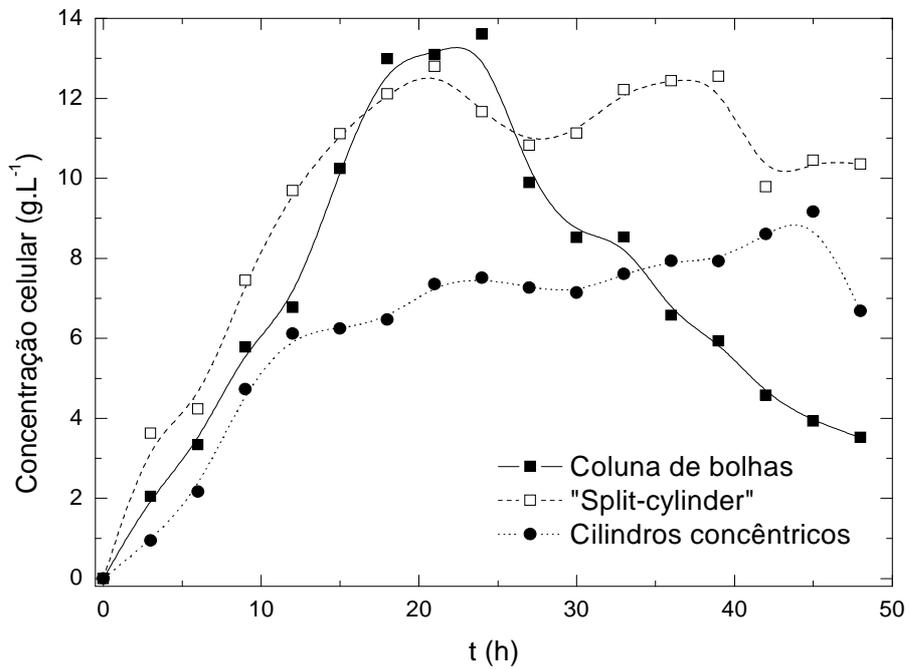


Figura 5.25 – Perfil da concentração celular (g.L⁻¹) durante os cultivos nos três biorreatores

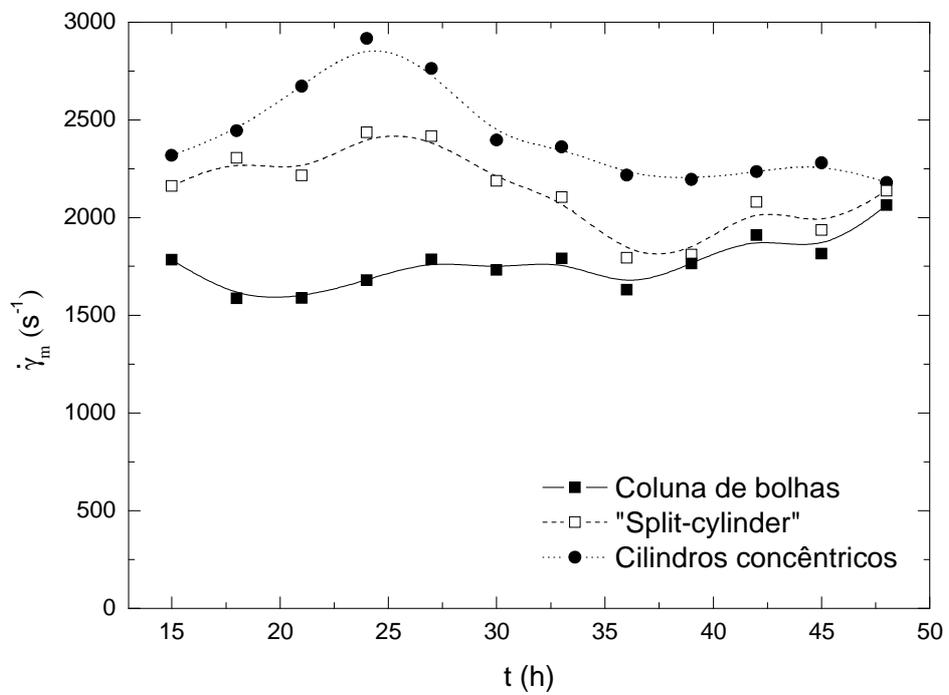


Figura 5.26 – Perfil de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) durante cultivos realizados nos três biorreatores

Conforme pode ser observado na **Figura 5.26**, os maiores valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) foram encontrados no cultivo em biorreator airlift de cilindros concêntricos. A velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) variou em torno de 2500 s^{-1} . Em contrapartida, os menores valores para o índice de consistência (K) foram encontrados nesse biorreator, variando em torno de $1,14 \text{ Pa.s}^n$, e a concentração celular máxima obtida foi de $9,2 \text{ g.L}^{-1}$. Já no biorreator airlift tipo “split-cylinder”, a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) variou em torno de 2000 s^{-1} e, como conseqüência desse decréscimo na $\dot{\gamma}_m$, houve um acréscimo nos valores do índice de consistência (K), que variaram em torno de $1,34 \text{ Pa.s}^n$. Nesse cultivo, a concentração celular máxima obtida foi de $12,8 \text{ g.L}^{-1}$. Por último, no biorreator coluna de bolhas, a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) variou em torno de 1765 s^{-1} . Conseqüentemente, os maiores valores de índice de consistência foram encontrados nesse cultivo, alcançando um máximo de $1,73 \text{ Pa.s}^n$. E, ainda, os maiores valores de concentração celular entre os três cultivos, também foram encontrados neste modelo de biorreator, chegando a $13,6 \text{ g.L}^{-1}$.

É importante observar que o índice de consistência (K) e a concentração celular, estão diretamente relacionados à saúde estrutural do micélio. Quanto maior a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), maior o grau de ruptura das hifas vegetativas da bactéria, o que gera caldos de fermentação menos viscosos, com índices de consistência (K) menores, assim como menores concentrações celulares.

Campesi et al. (2009) utilizaram a mesma metodologia aplicada no presente estudo para determinar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) em função da frequência de rotação do impelidor (N) e dos parâmetros reológicos de fluidos não-Newtonianos (K e n) em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado de 5 L de capacidade útil. Cultivos utilizando o mesmo meio de cultura utilizado nesse trabalho foram realizados à 700, 800, 900 e 1000 rpm, respectivamente. Os autores concluíram que, de maneira geral, quanto maior a frequência de rotação do impelidor (N), maior a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) durante os cultivos. A velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) estabilizou num valor próximo a 1200 s^{-1} no cultivo realizado à 1000 rpm, enquanto no cultivo

realizado no biorreator coluna de bolhas neste estudo, os valores de $\dot{\gamma}_m$ foram próximos a 1765 s^{-1} . Rosa et al. (2005) mostraram que em biorreatores convencionais, quanto maior a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), menor o crescimento celular. Um cultivo de *Streptomyces clavuligerus* realizado a 800 rpm apresentou um valor máximo para o índice de consistência (K) de $3,20 \text{ Pa.s}^n$, enquanto um cultivo realizado a 1000 rpm, apresentou como valor máximo para K de $2,23 \text{ Pa.s}^n$. Comportamento semelhante foi observado no presente estudo, uma vez que o maior crescimento celular foi observado no biorreator coluna de bolhas, que apresentou menores valores de $\dot{\gamma}_m$ e os menores valores de concentração celular foram observados no biorreator airlift de cilindros concêntricos, que apresentou os maiores valores de $\dot{\gamma}_m$.

6. CONCLUSÃO

A metodologia empregada nos biorreatores pneumáticos para correlacionar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) com a velocidade superficial do gás na região de subida (U_{gs}) e as propriedades reológicas do fluido (K e n) mostrou-se coerente. Os valores obtidos para a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) ficaram próximos aos valores dados por correlações presentes na literatura e foi possível comparar adequadamente $\dot{\gamma}_m$ nos três modelos de biorreatores estudados. Além disso, essa metodologia mostrou-se mais adequada e completa que as demais metodologias presentes na literatura, pois é esperado, que a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) seja dependente da capacidade de transferência de oxigênio, e desta forma, da reologia do fluido e do tipo de biorreator.

A velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), que é função do k_{LA} , mostrou também ser função da retenção gasosa global (ϵ_G). Altos valores de $\dot{\gamma}_m$ foram encontrados para os biorreatores com os maiores valores de ϵ_G . Isso mostra uma dependência direta entre esses parâmetros. E, ainda, a capacidade de produzir circulação interna também mostrou afetar a velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$). O biorreator airlift de cilindros concêntricos alcançou valores de $\dot{\gamma}_m$ perto de 17100 s^{-1} , já o biorreator airlift “split-cylinder” atingiu valores de $\dot{\gamma}_m$ próximos à 11000 s^{-1} e o bioreator coluna de bolhas, $\dot{\gamma}_m$ chegou à valores próximos de 8200 s^{-1} . Os dois primeiros geram circulação interna, enquanto o coluna de bolhas não.

Com relação à influência da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) nos cultivos de *Streptomyces clavuligerus* com as mesmas composições de meios de cultivo e condições de pH, temperatura e aeração, mas sob diferentes condições de cisalhamento, conclui-se que a metodologia foi aplicada satisfatoriamente. Baixos valores de índice de consistência (K) e concentração celular foram obtidos no biorreator airlift de cilindros concêntricos, que apresentou maiores valores de $\dot{\gamma}_m$, em contraste ao biorreator coluna de bolhas, que apresentou os menores valores de $\dot{\gamma}_m$, e os maiores valores de K e concentração celular. Valores intermediários foram encontrados para o biorreator airlift “split-cylinder”. Os dados dos cultivos mostraram

também, que a determinação da velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$), utilizando informações diretas dos cultivos (K , n e U_{gs}) em biorreatores pneumáticos, gera resultados mais fidedignos acerca das condições de cisalhamento impostas ao microorganismo.

E, por fim, os valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) encontrados nos biorreatores pneumáticos mostraram-se maiores que os valores de $\dot{\gamma}_m$ obtidos em biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado (CAMPESI et al. 2009), mesmo no biorreator coluna de bolhas que apresentou os menores valores de velocidade de cisalhamento média ($\dot{\gamma}_m$) entre os modelos de biorreatores estudados, quebrando assim um importante paradigma relacionado à operação e desempenho de biorreatores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIBA, S.; HUMPHREY, A. E; MILLIS, N. F., **Biochemical engineering**, 2 ed, Tóquio, University of Tokyo Press, 1973.

ASENJO. J.; A.; MERCHUK; J. C., **Bioreactor System Design**, Marcel Dekker, Inc. 1994.

BAI, F.; WANG, L.; HUANG, H.; XU, J.; CAESAR, J.; RIDGWAY, D.; GU, T.; MOO-YOUNG, M., **Oxygen mass-transfer performance of low viscosity gas-liquid-solid system in a split-cylinder airlift bioreactor**. *Biotechnology Letters*. v. 23, n 14, p. 1109-1113, 2001.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F.; **Biochemical Engineering**, New York, MCGraw Hill, 1986.

BADINO JR., A. C. **Reologia consumo de potência e de transferência de oxigênio em cultivos descontínuos *Aspergillus awamori* NRRL 312**. São Paulo, SP, [Tese de doutorado, USP], 1997.

BADINO, A. C.; HOKKA, C. O.; CERRI M. O., **Biorreator Pneumático de circulação interna e uso do mesmo**, Braz. Pat. (PI 0404703-6), 2004.

BECKER S, SOKOLICHINA A, EIGENBERGER G., **Gas-liquid flow in bubble columns and loop reactors: Comparison of detailed experiments and flow simulations**. *Int Symp Chem React Eng*, v. 13, p. 49:982, 1999.

BLAŽEJ, M.; GLOVER, G. M. C.; GENERALIS, S. C.; MARKOŠ, J., **Gas-liquid Simulation of an Airlift Bubble Column Reactor**. *Chemical Engineering and Processing*, v. 43, Issue 2, p. 137-144, 2004a.

BLAŽEJ, M.; KIŠA, M.; MARKOŠ, J., **Scale influence on the hydrodynamics of an internal loop airlift reactor**, *Chemical Engineering and Processing*, v. 43, n.12, p. 1519-1527, 2004.

BLAŽEJ M, ANNUS J, MARKOŠ J., **Using of the dynamic pressure-step method for mass transfer coefficient measurement in the internal loop airlift**. *Chem Papers*, v.57, p. 445-450, 2003.

CAMPESI, A. **Avaliação da velocidade de cisalhamento média em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado**, São Carlos – SP, [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos], 2007.

CAMPESI A.; CERRI M. O.; HOKKA C. O.; BADINO A. C.; **Determination of the average shear rate in a stirred and aerated tank bioreactor**. *Bioprocess Biosyst Eng*, v. 32, p. 241–248, 2009.

CASSIANO FILHO, L. C. M.; **Avaliação do desempenho de biorreator airlift para a produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus***, São Carlos-SP, [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos], 2003.

CERRI, M. O.; **Avaliação de Transferência de Calor e Massa de um Biorreator Airlift de Circulação Interna de Bancada Para a Produção de Ácido Clavulânico**, São Carlos-SP, 2005 [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos].

CERRI, M. O., **Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna geometricamente semelhantes**, São Carlos – SP, [Tese de doutorado, Universidade Federal de São Carlos], 2009.

CERRI, M. O.; FUTIWAKI, L.; JESUS, C. D. F.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C.; **Average shear rate for non-Newtonian fluids in a concentric-tube airlift bioreactor**. *Biochem Eng J*, v. 39, p.51-57, 2008.

CERRI, M. O.; BALDACIN, J. C.; CRUZ, A. J. G.; HOKKA, C. O.; BADINO, A. C.; **Prediction of mean bubble size in pneumatic reactors**. *Biochem Eng J*. Doi:10.1016/j.bej.2009.03.009, 2009.

CHISTI, M. Y. and MOO-YOUNG, M.; **Airlift reactors: characteristics, applications and design considerations**. *Chem. Engng Commun*, v. 60, p. 195-242, 1987.

CHISTI, M.Y. **Air-Lift Bioreactors**, Elsevier, New York, 1989.

CHISTI, Y.; **Airlift reactors – desing and diversity**. *The Chemical Engineer*, February, 1989b.

CHISTI, Y., and HAZA, U. J. J., **Oxygen transfer and mixing in mechanically-agitated airlift bioreactors**, Eng. J., v. 10, p.143-153, 2002.

CHISTI, Y., **Pneumatically agitated bioreactors in industrial and environmental bioprocessing: hydrodynamics, hydraulics, and transport phenomena**, Appl. Mech. Rev. v. 51 p. 33-112, 1998.

CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M., **Communication to the Editor, On the Calculation of Shear Rate and Apparent Viscosity in Airlift and Bubble Column Bioreactors**, Biotechnol. Bioeng. v. 34, p. 1391-1392, 1989.

CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M., **Gas hold up in pneumatic reactors**, Chem. Eng. J., v. 38, pp 149-152, 1988.

CONTRERAS, A.; GARCÍA F.; MOLINA E. MERCHUK, J. C., **Influence of sparger on energy dissipation, shear rate, and mass transfer to sea water in a concentric-tube airlift bioreactor**. Enzyme and Microbial Technology, v. 25, p. 820-830, 1999.

CONTRERAS, A.; GARCIA, F.; MOLINA, E.; MERCHUK, J. C., **Influence of sparger on energy dissipation, shear rate, and mass transfer to sea water in a concentric-tube airlift bioreactor**, Enzyme Microb. Technol. v. 25, p. 820-830, 1999.

DOMINGUES, L.; LIMA, N.; TEIXEIRA, J. A.; **Alcohol Production from Cheese Whey Permeate Using Genetically Modified Flocculent Yeast Cells**. Biotechnology and Bioengineering, v. 72, n. 5, p. 507-514, 2001.

GANZEVELD, K. J.; CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M., **Hydrodynamic behaviour of animal cell microcarrier suspensions in split-cylinder airlift bioreactors**. Bioprocess and Biosystems Engineering, v. 12, n. 5, p. 239-247, 1995.

GODBOLE, S. P.; SCHUMPE, A.; SHAH, Y. T.; CARR, N. L., **Hydrodynamics and mass-transfer in Non-Newtonians solutions in a bubble column**. A. I. Ch. E. J., v. 44, p. 213-220, 1984.

GOUVEIA, E. R.; HOKKA, C. O.; BADINO A. C., **The Effects of Geometry and Operational Conditions on Gas Holdup, Liquid Circulation and Mass Transfer in an Airlift Reactor**. Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 20, p.363-374, 2003.

GRIMA, E. M.; CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M., **Characterization of shear rates in airlift bioreactors for animal cell culture**, J. Biotechnol., v. 54 p.195-210, 1997.

IUPAC, COMMISSION ON NOMENCLATURE OF ORGANIC CHEMISTRY. **A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds (Recommendations 1993)**, Blackwell Scientific publications, Copyright 1993.

JESUS, C. D. F.; CERRI, M. O.; FUTIWAKI, L.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C., **Software para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio em biorreator**, Anais Sinaferm 2007, Curitiba, PR, (CD-ROM), 2007.

JIA, S.; CHEN, G.; KAHAR, P.; CHOI, D. B.; OKABE, M., **Effect of Soybean oil on oxygen transfer in the production of tetracycline with an airlift bioreactor**, J. Biosci. Bioeng. v. 87, n 6, p. 825-827, 1999.

KAWASE, Y.; KUMAGAI, T., **Apparent Viscosity for Non-Newtonian Fermentation media in Bioreactors**, Bioprocess Eng., v. 7, p. 25-28, 1991.

KAWASE, Y.; MOO-YOUNG, M., **Heat Transfer in Bubble Column Reactors with Newtonian and Non-Newtonian Fluids**, Chem. Eng. Res. Des. v. 65, p. 121-126, 1987.

KAWASE, Y.; MOO-YOUNG, M., **Mathematical Models for Design of Bioreactors: Applications of Kolmogoroff's Theory of Isotropic Turbulence**; Chem. Eng. J., v. 43, p. B19-B41, 1990.

KAWASE, K.; HASHIGUCHI, N., **Gas-liquid mass transfer in external-loop airlift columns with Newtonian and non-Newtonian fluids**. Chem Eng J., v. 62, p. 35-42, 1996.

KELLY, W.; GIGAS, B. **Using CFD to predict the behavior of power law fluids near axial-flow impellers operation gin the transitional flow regime**. Chem. Eng. Sci., v. 58, p. 2141-2152, 2003.

KOIDE, K.; KUREMATSU, K.; IWAMOTO, S.; IWATA, Y.; HORIBE, K., **Gas holdup and volumetric liquid-phase mass-transfer coefficient in bubble column with draft tube and with gas dispersion into tube**. J. Chem. Eng. Jpn. v. 16, p. 413-419, 1983.

LU, X., DING, J., WANG, Y., SHI, J., **Comparison of the hydrodynamics and mass transfer characteristics of a modified square airlift reactor with common airlift reactor.** Chemical Engineering Science, v.55, p.2257-63, 2000.

LUO, H. P.; AL-DAHMAN, M. H., **Local characteristics of hydrodynamics in draft tube airlift bioreactor,** Chem. Eng. Sc., v. 63, p. 3057 – 3068, 2008.

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

MEHRNIAA, M. R.; TOWFIGHIB, J.; BONAKDARPOURC, B.; AKBARNEJAD, M. M., **Gas holdup and oxygen transfer in a draft-tube airlift bioreactor with petroleum-based liquids,** Biochemical Engineering Journal, v. 22, p.105–110, 2005.

MENZEL, T.; WEIDE, T.; STAUDACHER, O., **Reynolds shear-stress for modeling of bubble column reactors.** Ind Eng Chem Res., v. 29, p.988-994, 1990.

MERCHUK, J. C.; CONTRERAS, A.; GARCÍA, F.; MOLINA, E., **Studies of Mixing Tube Airlift Bioreactor with Different Spargers.** Chemical Engineering Science, v. 53. p. 709- 719, 1998.

MERCHUK, J. C.; LADWA, A. C.; BULMER, M.; BERZIN, I.; PICKETT, A. M., **Liquid flow and mixing in concentric tube air-lift reactor.** J. Chem. Tech. Biotechnol., v. 66, p. 174- 182, 1996

MIRÓN, A.S.; CAMACHO, F. G.; GOMEZ, A. C.; GRIMA, E.M.; CHISTI, Y., **Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture.** A I Ch E J., v. 46, p. 1872-1887, 2000.

MIRÓN, A. S.; GARCIA, M. C. C.; CAMACHO, F. G.; GRIMA, E. M.; CHISTI, Y., **Mixing in Bubble Column and Airlift Reactors,** Chemical Engineering Research and Design, v. 82(A10), p.1367–1374, 2004.

MOO-YOUNG, M.; HALARD, B.; ALLEN, D. G.; BURRELL, R.; KAWASE, Y., **Oxygen transfer to mycelial fermentation broths in an airlift fermentor,** Biotech, Bioeng., v. 30, p. 746- 753, 1987.

NAGASE, H.; EGUCHI, K.; YOSHIHARA, K.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K., Improvement of microalgal NO_x removal in bubble column and airlift reactors. J Ferm Bioeng., v. 86, p.421-423, 1998.

NISHIKAWA, M.; KATO, H.; HASHIMOTO, K., **Heat Transfer in Aerated Tower Filled with Non-Newtonian Liquid**, Ind. Eng. Chem., Process Des. Dev. v. 16, p. 133-137, 1977.

ONKEN, U.; WEILAND, P., **Airlift Fermenters: Construction, Behavior, and Uses**, Adv. Biotechnol. Processes, p 67-95, 1983.

PÉREZ, J. A. R. et al. **Shear rate in stirred tank and bubble column bioreactors**. Chem. Eng. J., v. 124, p. 1-5, 2006.

PINTO, L. S.; VIEIRA, L.M.; PONS, M. N.; FONSECA, M.M.R.; MENEZES, J. C.; **Monitorização de Processos Biológicos: Análise digital de imagem**, Boletim de Biotecnologia, 2002.

ROSA, J. C.; **Influência das Condições de Transferência de Oxigênio na Produção de Ácido Clavulânico por *Streptomyces clavuligerus***, São Carlos-SP, [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos], 2002.

ROSA, J. C.; BAPTISTA-NETO, A.; HOKKA, C. O.; BADINO, A. C., **Influence of dissolved oxygen and shear conditions on clavulânico acid production by *Streptomyces clavuligerus***. Biopr Biosyst Eng., v. 27, p. 99-104, 2005

SÁNCHEZ, M. J.; APARÍCIO, A. J.; LÓPEZ, G. G.; TAPIA, G. T.; MONROY, M. R., **Broth rheology of *Beta vulgaris* cultures growing in na air lift bioreactor**, Biochemical Engineering Journal, v. 12, p. 37-41, 2002.

SCHMIDELL, W., **Agitação e aeração em biorreatores**. In: SCHMIDELL W.; LIMA U.A.; AQUARONE E.; BORZANI W., **Biotecnologia industrial, vol. 3 (Processos fermentativos e enzimáticos)**, cap. 14, p. 277 - 331, Editora Edgard Blücher Ltda., 2002.

SCHMIDELL, W., **Biotecnologia Industrial, Volume 2, Engenharia Bioquímica**, Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 2001.

SCHÜGERL, K. **Bioreaction Engineering, volume 2: Characteristics Features of Bioreactors.** John Wiley and Sons, 1987.

SCHUMPE, A., DECKWER, W. D., **Viscous media in tower bioreactors: Hydrodynamics characteristics and mass transfer properties,** Bioprocess Eng. v.2, p. 79- 94, 1987.

SHARIATI, F. P.; BONAKDARPOUR, B.; MEHRNIA, M. R., **Hydrodynamics and oxygen transfer behavior of water in diesel microemulsions in a draft tube airlift bioreactor,** Chemical Engineering and Processing, v. 46, p. 334-342, 2007.

SHI, L. K.; RIBA, J. P.; ANGELINO, H., **Estimation of Effective Shear Rate for Aerated Non-Newtonian Liquids in Airlift Bioreactors,** Chem. Eng. Commun., v. 89, p. 25-35, 1990.

SONG, H. J.; LI, H.; SEO, J. H.; KIM, M. J.; KIM, S. J., **Pilot-scale production of bacterial cellulose by a spherical type bubble column bioreactor using saccharified food wastes,** Korean Journal of Chemical Engineering, v. 26, n. 1, p. 141-146, 2009.

SUH, I. S., A. SCHUMPE, W. D. DECKWER, W. M., **Gas liquid mass transfer in the bubble column with viscoelastic liquid.** Can J. Chem. Eng., v. 69, p.506- 512, 1991.

VASCONCELOS, J. M. T.; RODRIGUES, J. M. L.; ORVALHO, S. C. P.; ALVES, S. S.; MENDES, R. L.; REIS, A., **Effect of contaminants on mass transfer coefficients in bubble column and airlift contactors,** Chemical Engineering Science, v. 58, p. 1431-1440, 2003.

VEGA-ESTRADA, J.; MONTES-HORCASITAS, M. C. ; DOMÍNGUEZ-BOCANEGRA, A. R. ; CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. , **Haematococcus pluvialis cultivation in split-cylinder internal-loop airlift photobioreactor under aeration conditions avoiding cell damage.** Applied Microbiology and Biotechnology. v. 68, n. 1, p. 31-35, 2005

VIAL, C., LAINE, R., PONCIN, S., **Influence of gas distribution and regime transitions on liquid velocity and turbulence in a 3-D bubble column.** Chem Eng Sci., v. 56, p.1085-1093, 2001

ZHAO, M.; NIRANJAN, K.; DAVIDSON, J. F., **Mass-transfer to viscous-liquids in bubble-columns and airlift reactors - influence of baffles.** Chem Eng Sci., v. 49, p. 2359-2369, 1994.