

TIAGO DE LIMA

MODELO DE INFERÊNCIA PARA A ESTIMAÇÃO DA UMIDADE DO LEITO DE UM  
BIORREATOR DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de concentração em Desenvolvimento de Processos Químicos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. David Alexander Mitchell

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Lima Luz Jr.

CURITIBA

2009

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Dorival e Adair, os grandes professores da minha vida, por tudo que me ensinaram e por sempre me apoiarem na realização de todos os meus sonhos.

Ao professor David, pela orientação, pela motivação nas horas de desânimo, pelas horas de conversa e discussões durante todo o desenvolvimento deste trabalho e principalmente pela amizade.

Ao professor Luiz Fernando, pelo incentivo e apoio para a execução do trabalho.

Ao professor Everton, pela dedicação e ajuda inestimável no desenvolvimento dos programas.

À minha namorada Karin, pela compreensão da minha ausência em muitos momentos durante o desenvolvimento da pesquisa, pela ajuda durante todo o mestrado e pelo companheirismo e apoio para que eu sempre seguisse em frente.

À professora Nádia, pelo empréstimo de equipamentos e por permitir que os alunos do laboratório me auxiliassem durante os experimentos no biorreator piloto.

Aos amigos do laboratório da Professora Nádia, em especial para Dayane, Arquimedes e Doumit, que dedicaram importantes horas dos seus trabalhos para me auxiliar durante os cultivos no biorreator piloto.

Aos colegas do laboratório do professor David e alunos de iniciação científica pela colaboração durante os experimentos.

Aos colegas de pós-graduação, Troner, Tarcila, Tom, Viridiane, Éder e Karine, pelas horas de estudo em conjunto, pelo companheirismo e momentos de descontração.

À CNPq, pelo auxílio financeiro.

## RESUMO

A fermentação no estado sólido é um processo capaz de produzir diversos compostos de interesse comercial. Uma das dificuldades para a aplicação industrial deste método é a falta de sensores economicamente viáveis capazes de realizar medidas *on-line* da umidade da fase sólida, que se for reduzida demasiadamente pode limitar o crescimento do microrganismo e a produção dos metabólitos. O objetivo deste trabalho foi de desenvolver um modelo matemático determinístico para inferir a umidade da fase sólida em um biorreator com aeração forçada e agitação intermitente. A combinação de duas características distingue este modelo de inferência de modelos anteriores: a primeira, é que o modelo descreve os gradientes axiais da umidade do leito ao invés de assumir que o leito é homogêneo; a segunda, é que o modelo descreve as transferências de massa e energia entre a fase gasosa e sólida dentro do leito ao invés de assumir que estas fases estão em equilíbrio. As medidas do processo fornecidas ao modelo de inferência eram as temperaturas da fase gasosa em diferentes alturas do leito. Inicialmente, o modelo de inferência foi testado com um modelo preditivo do biorreator: quando as temperaturas da fase gasosa do modelo preditivo foram fornecidas ao modelo de inferência, o modelo de inferência calculou corretamente a umidade da fase sólida. Na seqüência, motivado pelo fato que um biorreator real possui um número limitado de sensores de temperatura, o modelo preditivo foi utilizado para gerar curvas de temperatura da fase gasosa em função da altura do leito em diferentes tempos de cultivo. Equações empíricas foram ajustadas a estes perfis de temperatura, com a intenção de usar estas equações no modelo de inferência para estimar temperaturas dentro do leito do biorreator de escala piloto nos pontos intermediários aos sensores, que estão localizados nas alturas de 0, 5, 18, 33 e 50 cm, representando a base, três alturas intermediárias e o topo do leito. Entretanto, em um teste no qual o modelo preditivo foi utilizado para gerar temperaturas da fase gasosa nestas alturas do leito, o modelo de inferência estimou melhor a umidade da fase sólida quando temperaturas nas regiões intermediárias dos sensores foram obtidas por interpolação linear. No terceiro passo, o modelo de inferência, com interpolação linear das temperaturas, foi empregado para investigar o melhor posicionamento dos três sensores internos no leito. Foi observado que as melhores estimativas da umidade do leito eram obtidas quando os sensores estavam concentrados na região inferior do leito. Na última parte do trabalho, o modelo de inferência foi testado em cultivos de *Aspergillus oryzae* sobre uma mistura de soja e farelo de trigo no biorreator de escala piloto. Durante estes cultivos as temperaturas do gás de entrada e saída do biorreator e nas alturas internas do leito de 5,18 e 33 cm foram monitoradas. Amostras do leito foram removidas nas mesmas alturas dos sensores para a determinação da umidade do leito. Na altura de 5 cm o modelo inferiu o ressecamento do leito mais acentuado do que as medidas experimentais. Nas alturas do leito de 18 e 33 cm a umidade real estava abaixo da umidade inferida. Foi concluído que o modelo de inferência tem potencial para fornecer estimativas adequadas da umidade da fase sólida, mas em trabalhos futuros seria necessário obter melhores estimativas dos parâmetros chave, especialmente dos coeficientes de transferência de massa e calor.

Palavras-chave: Fermentação no estado sólido. Modelo de inferência. Umidade.

## ABSTRACT

Various products of commercial interest can be produced by solid-state fermentation. One of the difficulties faced in this cultivation method is the lack of simple sensors that can be used to measure the water content of the solids *on-line*; this is an important state variable since, if it falls to low values during the process, the growth of the microorganism and the production of metabolites will be adversely affected. The aim of the current work was to develop a deterministic mathematical model to infer the water content of the solids in a bioreactor with forced aeration and intermittent agitation. The combination of two features distinguishes this inference model from previous models: Firstly, the model describes axial gradients in water content, rather than assuming that the bed of solids is well mixed and, secondly, the model describes heat and mass transfer between the solids and gas phases within the bed, rather than assuming that these two phases are in equilibrium with one another. The input for the inference model is comprised of gas phase temperatures measured at different heights within the bed of solids. Initially the inference model was tested against a predictive model of the bioreactor: when the gas phase temperatures from this predictive model were supplied to the inference model, the inference model correctly calculated the solid phase water content. In a second step, motivated by the fact that in a real bioreactor there is a limited number of temperature sensors, the predictive model was used to generate gas phase temperature profiles for different cultivation times. Empirical equations were adjusted to these temperature profiles, with the intention of using these equations within the inference model to estimate temperatures within the bed of a pilot-scale bioreactor, at points between the temperature sensors, which are located at the bed heights of 0, 5, 18, 33 and 50 cm, representing the bottom of the bed, three internal heights, and the top of the bed. However, in a test in which the predictive model was used to generate gas phase temperatures at these bed heights, the inference model estimated the solid phase water content best when temperatures in the intervening regions were obtained simply by linear interpolation. In a third step, the inference model, with linear interpolation of temperatures, was used to investigate the optimum positioning of the three internal bed sensors. It was shown that the best estimates of bed moisture content will be obtained when the internal sensors are concentrated in the bottom part of the bed. In the last part of the work, the inference model was tested in cultivations carried out in the pilot-scale bioreactor and involving the growth of *Aspergillus oryzae* on a mixture of wheat bran and soybeans. During these cultivations gas phase temperatures were monitored at the air inlet and outlet and at the internal bed heights of 5, 18 and 33 cm. Samples also were removed from these bed heights for the determination of the solid phase water content. At a bed height of 5 cm the model inferred a rate of drying of the solids that was higher than the experimentally measured rate. On the other hand, at the bed heights of 18 and 33 cm, the model overestimated the solids phase water content. It was concluded that the inference model has the potential to give adequate estimations of the solids phase water content, but that further work will be needed to obtain better estimates of key parameters, especially the mass and heat transfer coefficients.

Key words: Solid-state fermentation. Inference model. Water content.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
1.1	OBJETIVOS .....	10
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO .....	11
2.2	CULTIVO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO .....	13
2.3	BIORREACTORES DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO .....	16
2.3.1	Biorreator sem aeração forçada e sem agitação. ....	17
2.3.2	Biorreator sem aeração forçada e com agitação contínua.....	18
2.3.3	Biorreator com aeração forçada e sem agitação ou agitação intermitente.....	19
2.3.4	Biorreator com aeração forçada e agitação contínua. ....	22
2.4	VARIÁVEIS OPERACIONAIS E INSTRUMENTAÇÃO .....	22
2.5	MODELOS DE INFERÊNCIA.....	28
2.5.1	Modelo de Nagel et al. (2000) .....	29
2.5.2	Modelo de Peña y Lillo et al. (2001) .....	32
2.5.3	Modelo de Khanahmadi et al. (2006) .....	36
2.5.4	Modelo de Barga (2007).....	38
2.5.5	Avaliação geral dos modelos de inferência .....	43
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
3.1	MICROORGANISMO.....	44
3.1.1	Reativação da cepa .....	44
3.1.2	Conservação da cepa.....	44
3.2	PRODUÇÃO DE ESPOROS PARA O CULTIVO EM BIORREATOR .....	45
3.2.1	Produção de esporos em placa de Petri .....	45
3.2.2	Contagem de esporos .....	45
3.2.3	Produção de esporos sobre arroz .....	46
3.2.3.1	<i>Quantidade de água para produção de esporos .....</i>	<i>46</i>
3.3	SUBSTRATO.....	47
3.3.1	Densidade do substrato.....	47
3.3.2	Porosidade do leito .....	48
3.3.3	Correção da umidade do leito .....	48
3.3.4	Determinação dos coeficientes de transferência de massa e calor .....	49
3.3.4.1	<i>Secagem do leito em camada delgada .....</i>	<i>49</i>
3.3.4.2	<i>Determinação da velocidade mássica e da umidade absoluta da fase gasosa .....</i>	<i>50</i>
3.3.4.3	<i>Cálculos dos coeficientes .....</i>	<i>51</i>
3.4	INSTALAÇÃO DO ANALISADOR DE GASES .....	52

3.4.1	Instalação física .....	53
3.4.2	Leitura dos resultados .....	54
3.5	CULTIVO NO BIORREATOR .....	56
3.5.1	Descrição do biorreator e do sistema de aeração e umidificação .....	56
3.5.1.1	<i>Esterilização do biorreator e limpeza do sistema de umidificação .....</i>	<i>58</i>
3.5.1.2	<i>Condições operacionais das fermentações .....</i>	<i>59</i>
3.5.2	Produção do inóculo .....	59
3.5.3	Calibração dos instrumentos .....	59
3.5.3.1	<i>Calibração dos termopares .....</i>	<i>60</i>
3.5.3.2	<i>Calibração do analisador de gases .....</i>	<i>61</i>
3.5.4	Preparo do substrato e inoculação .....	62
3.5.5	Amostragens e determinação da umidade do leito .....	63
<b>4</b>	<b>DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE INFERÊNCIA .....</b>	<b>65</b>
4.1	MODELO PREDITIVO DE SECAGEM .....	67
4.2	MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO .....	70
4.2.1	Balanço de massa para a água na fase gasosa .....	70
4.2.2	Balanço de energia da fase gasosa .....	71
4.2.3	Balanço de massa para a água na fase sólida .....	71
4.2.4	Balanço de energia da fase sólida .....	72
4.2.5	Produção de Biomassa .....	72
4.2.6	Balanço de sólidos secos .....	73
4.2.7	Isoterma do milho e Umidade relativa da fase sólida .....	74
4.2.8	Atividade da água na fase gasosa .....	74
4.2.9	Coeficiente de Transferência de massa .....	75
4.2.10	Coeficiente de Transferência de calor .....	75
4.2.11	Resolução do sistema de equações .....	76
4.3	DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE INFERÊNCIA .....	76
4.3.1	Filtro de Dados .....	77
4.3.1.1	<i>Filtro 1 – Eliminações de medições em um mesmo intervalo de amostragem .....</i>	<i>77</i>
4.3.1.2	<i>Filtro 2 – Eliminação de Variações inferiores à sensibilidade do instrumento .....</i>	<i>78</i>
4.3.1.3	<i>Filtro 3 – Filtro Exponencial .....</i>	<i>78</i>
4.3.1.4	<i>Filtro 4 – Média móvel .....</i>	<i>79</i>
4.3.2	Ajuste da curva para Temperatura da fase gasosa .....	79
4.3.3	Modelo de Inferência .....	80
4.3.3.1	<i>Considerações para o desenvolvimento do modelo .....</i>	<i>81</i>
4.3.3.2	<i>Equações de propriedades físico-químicas e de transferência de massa e calor .</i>	<i>81</i>
4.3.3.3	<i>Umidade da fase gasosa .....</i>	<i>82</i>
4.3.3.4	<i>Temperatura da fase sólida .....</i>	<i>83</i>
4.3.3.5	<i>Calor metabólico .....</i>	<i>84</i>
4.3.3.6	<i>Consumo de oxigênio .....</i>	<i>84</i>

4.3.3.7	<i>Produção de gás carbônico e de água metabólica</i>	85
4.3.3.8	<i>Balanço dos sólidos secos</i>	86
4.3.3.9	<i>Umidade da fase sólida</i>	86
4.3.3.10	<i>Seqüência dos cálculos</i>	87
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>90</b>
5.1	PRODUÇÃO DE ESPOROS PARA O CULTIVO EM BIORREATOR	90
5.1.1	Produção em Placa de Petri	90
5.1.2	Produção de esporos sobre grãos de arroz	90
5.2	SUBSTRATO	91
5.2.1	Densidade do Substrato	91
5.2.2	Porosidade do Leito	92
5.2.3	Correção da umidade do leito	93
5.2.4	Determinação dos coeficientes de transferência de massa e calor	94
5.2.4.1	<i>Velocidade mássica do ar</i>	94
5.2.4.2	<i>Cálculo dos coeficientes</i>	95
5.3	MODELO DE INFERÊNCIA	99
5.3.1	Modelo de Secagem	99
5.3.2	Modelo Preditivo de Fermentação no Estado Sólido	101
5.3.3	Ajuste da curva para a temperatura da fase gasosa	106
5.3.4	Avaliação do Programa do Modelo de Inferência	111
5.3.5	Análise do ajuste da curva da temperatura da fase gasosa no modelo de inferência	113
5.4	FERMENTAÇÕES NO BIORREATOR PILOTO	120
5.4.1	Experimento 1	120
5.4.2	Experimento 2	121
5.4.3	Experimento 3	128
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>134</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>136</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>143</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A fermentação no estado sólido (FES) é um processo no qual o crescimento do microrganismo ocorre sobre partículas sólidas úmidas, sendo que o espaço entre elas é preenchido por uma fase gasosa contínua e com o mínimo de água visível (MITCHELL et al., 2006). Este processo vem sendo utilizado há muitos anos no preparo de alimentos orientais tradicionais como o tempeh, shoyu (molho de soja) e miso.

Nas últimas décadas estudos laboratoriais apresentaram outras aplicações deste processo fermentativo. Alguns exemplos são: a produção de antibióticos (ELLIAH et al., 2004), ácido giberélico (PASTTRANA et al., 1995), aromas (MEDEIROS et al., 2000), biopesticidas (VICCINI et al., 2007) e outros.

Os resultados publicados despertaram interesse para utilizar a fermentação no estado sólido em escala industrial, não apenas devido aos produtos gerados, mas também em decorrência de características do processo. Foi observado que, em alguns casos, a fermentação no estado sólido pode apresentar maior produtividade, menores custos operacionais, menor investimento inicial e produtos com maior atividade do que a fermentação submersa (LEKHA; LONSANE, 1994; VINIEGRA-GONZÁLEZ et al., 2003; PANDEY et al., 2001). Entretanto, a aplicação industrial ainda não ocorre de forma ampla em virtude da dificuldade de manter as condições de cultivo, como temperatura e umidade, próximas àquelas consideradas as ideais no interior do biorreator. Quando os desvios tornam-se muito acentuados ocasionam a redução, ou até mesmo a impossibilidade, do crescimento do microrganismo. Conseqüentemente, a formação dos metabólitos de interesse é prejudicada (BARGA, 2007).

Para a manutenção das condições ótimas de cultivo dentro do biorreator são necessárias medidas confiáveis, e em tempo real, das principais variáveis do processo. Também são necessárias estratégias de controle eficientes para retornar o sistema para as condições ideais. Deste modo é possível saber o momento exato para corrigir os desvios e obter a produção máxima.

A temperatura do leito, que é facilmente medida através da instalação de sensores no interior do biorreator, pode ser considerada uma variável crítica na



fermentação no estado sólido, porque o crescimento do microrganismo está associado a altas taxas de produção de calor metabólico. O calor produzido e a baixa condutividade térmica do sólido podem elevar demasiadamente a temperatura do leito.

Um modo de remover o calor gerado é a passagem forçada de ar úmido através do leito. Esta estratégia apresenta duas vantagens. A primeira é a possibilidade de manter o leito estático durante a maior parte do tempo, um pré-requisito da maioria dos processos da FES, pois estão associados ao cultivo de fungos filamentosos (KHANAHMADI et al., 2006). A segunda é a manutenção da temperatura dentro de uma faixa de valores aceitáveis através da retirada de energia pelos mecanismos de convecção e evaporação. Todavia, a evaporação reduz a umidade do leito tornando necessária a adição de água durante o cultivo (GUTIERREZ-ROJAS et al., 1996).

A adição de água deve ocorrer de modo a deixar o leito o mais homogêneo possível, pois o excesso ou a falta de água em determinados pontos do leito podem ser prejudiciais. Portanto, a agitação do leito torna-se necessária ao menos durante a adição de água, desde que o fungo filamentoso suporte a agitação intermitente.

Para determinar a frequência de agitações e a quantidade de adição de água é necessário conhecer as características do microrganismo e ter medidas da umidade do leito em tempo real. Os limites de umidade que propiciam a máxima produção do processo fermentativo podem ser determinados experimentalmente em laboratórios enquanto que, para medir a umidade, são necessários sensores que atuem durante o cultivo do microrganismo.

Sensores sofisticados que permitem determinar a umidade do leito sólido foram desenvolvidos, entretanto o uso destes equipamentos não ocorre na prática devido ao elevado custo (BELLON-MAUREL et al., 2003). Por outro lado, o tradicional método de secagem de amostras em estufa também não se apresenta eficiente devido ao tempo necessário para se obter os resultados. Visando contornar a dificuldade de leitura da umidade, utilizam-se modelos de inferência, os quais estimam o valor da variável de interesse a partir de balanços de massa e energia e de medidas de variáveis secundárias de fácil medição.

Modelos de inferência para determinar a umidade do leito em biorreatores já foram propostos na literatura. Alguns utilizaram medidas do consumo de oxigênio e produção de gás carbônico para determinar a umidade (NAGEL et al., 2000; PEÑA

Y LILLO et al., 2001) enquanto outros utilizaram apenas medidas da temperatura KHANAHMADI et al., 2006, e BARGA, 2007). Entretanto, estes modelos consideraram o equilíbrio térmico e de umidade entre as fases gasosa e sólida, situação diferente do modelo matemático proposto por Von Meien e Mitchell (2002). Neste último modelo foram previstas diferenças nas temperaturas e nas umidades relativas entre as duas fases o que contraria a simplificação dos modelos anteriores.

## 1.1 OBJETIVOS

A presente dissertação está inserida em um projeto que visa estudar os princípios de engenharia e colaborar para levar o conhecimento adquirido em escala laboratorial de fermentação no estado sólido para as indústrias.

O objetivo geral deste trabalho foi de desenvolver um modelo de inferência determinístico para estimar a umidade do leito a partir de leituras de temperatura da fase gasosa, sem considerar o equilíbrio entre as fases. Para alcançar este objetivo foram realizados os seguintes passos:

- Desenvolver um programa de modelo preditivo baseado no modelo de Von Meien e Mitchell (2002) para ser empregado como um biorreator virtual;
- Elaborar o modelo que irá inferir a umidade da fase sólida a partir da temperatura da fase gasosa;
- Desenvolver o programa do modelo de inferência e testá-lo com os valores da temperatura da fase gasosa obtidos do modelo preditivo (biorreator virtual);
- Realizar experimentos no biorreator piloto e coletar os dados do processo necessários ao modelo;
- Elaborar e testar filtros para os dados coletados no biorreator;
- Ajustar uma curva da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito do biorreator piloto;
- Definir os coeficientes de transferência de massa e calor para o leito dos experimentos do biorreator piloto;
- Testar o modelo de inferência com os resultados obtidos dos experimentos no biorreator piloto de fermentação no estado sólido.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Inicialmente, serão abordadas as características gerais da fermentação no estado sólido e os potenciais deste processo para uso na indústria. Na seqüência serão comentados os tipos de biorreatores, quais são as variáveis importantes do processo e como elas podem ser medidas. Finalmente, serão apresentados resumidamente trabalhos que buscaram desenvolver modelos de inferência para a umidade do leito.

### 2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

“Fermentação é um termo geral que denota a degradação anaeróbica da glicose ou de outros nutrientes orgânicos em vários produtos (característicos para os diferentes organismos) para obter energia conservada na forma de ATP.” (NELSON; COX, 2002). Entretanto, muitos textos sobre fermentação tratam-na com o sentido de cultivar organismos de forma controlada, independente do consumo de oxigênio (MITCHELL et al., 2006). Neste segundo contexto, é possível separar a maioria dos processos entre fermentação submersa (FS) e fermentação no estado sólido (FES).

Na fermentação submersa, os microrganismos são cultivados em uma fase líquida contínua e dela retiram os nutrientes necessários para se multiplicar. Na fermentação no estado sólido, o crescimento de microrganismos ocorre sobre partículas sólidas úmidas, sendo que a maior parte da água encontra-se adsorvida no substrato e o espaço entre as partículas é preenchido por uma fase gasosa contínua.

Destes processos, a fermentação submersa é amplamente utilizada como método de processamento biológico para a produção de muitos compostos químicos, ingredientes alimentícios, materiais e fármacos. Por outro lado, ainda são poucas as aplicações industriais para a fermentação no estado sólido, apesar de estudos demonstrarem que, em determinados casos, ela pode ser igualmente ou mais útil e eficiente (OOSTRA et al., 2001).

Nas últimas décadas, ensaios laboratoriais demonstraram que a fermentação no estado sólido pode ser aplicada para a produção de diversos composto e também para mediar processos (QUADRO 1).

<b>COMPOSTOS PRODUZIDOS</b>	<b>FONTE</b>
Aflotoxinas	BARRIOS-GONZALEZ; TOSMANI, 1996
Ácido Giberélico	BANDELIER et al., 1997
Antibióticos	KOTA et al., 1999; YANG, 1996
Drogas Imunossupressoras	SEKAR et al., 1997
Proteases	VISHWANATHA et al., 2009
Celulases	TENGERDY, 1996
Enzimas Lignolíticas	COUTO; SANROMÁN, 2005
Xilanases	SOUZA et al., 2001
Pectinases	SINGH et al., 1999
Amilases	RAHARDJO et al., 2005
Glucoamilases	PANDEY; RADHAKRISHNAN, 1993
Ácido Cítrico	LU et al., 1998
Ácido Lático	XAVIER; LONSANE, 1994
Ácido Oxálico	LEANGON et al., 1999
Biopesticidas	DAIGLE et al., 1998
Biosurfactantes	MAKKAR; CAMEOTRA, 1999
Etanol	SAUCEDO-CASTANEDA et al., 1992
Pigmentos	CHIU; CHAN, 1992
Aromas	CHRISTEN et al., 1997
Rações animais	ROBINSON; NIGAM, 2003
<b>PROCESSOS</b>	<b>FONTE</b>
Biodegradação e Biorremediação	MASAPHY et al., 1996; KASTANEK et al., 1999
Detoxificação Biológica de resíduos agroindustriais	ZHANG et al., 2007
Biopolpação	FACKLER et al., 2006

QUADRO 1 – EXEMPLOS DE APLICAÇÕES INVESTIGADAS PARA A FES

A fermentação no estado sólido possui características que são economicamente atraentes para a aplicação em grande escala. Uma das principais vantagens é a utilização de resíduos da agroindústria como matéria-prima, pois estes substratos são, normalmente, de baixo custo e difíceis de dispor sem gerar impactos negativos ao meio ambiente devido à natureza orgânica e ao alto volume gerado. Outras características são: os biorreatores que podem consumir baixa quantidade de energia quando não são operados com agitação contínua; o alto rendimento medido em termos de produto por volume, que faz o processo ser economicamente viável; e a menor quantidade de efluentes gerados, que reduz o impacto ambiental e o custo do tratamento dos resíduos (PÉREZ-CORREA; AGOSIN, 1999).

Apesar das vantagens apresentadas, a fermentação no estado sólido ainda não é amplamente aplicada na indústria. Isto se deve à dificuldade de manutenção das condições ideais de cultivo, por causa da falta de ferramentas para desenvolver e otimizar a operação de biorreatores industriais (MITCHELL et al., 2006). Situação

diferente da fermentação submersa, que é desenvolvida desde o final da década de 40 devido à necessidade de produção de antibióticos (HÖLKER; LENZ, 2005).

Embora existam dificuldades na aplicação industrial, existem alguns processos comerciais de sucesso para a fermentação no estado sólido. Entre eles estão: a produção de *koji* para molho de soja, alimentos fermentados tradicionais do oriente, ácido cítrico, ácido glucônico e enzimas (celulase, amilase, pectinase e lipase) (MITCHELL et al., 1999). Destes processos comerciais, a tradicional indústria de *koji* para produção de molho de soja parece ter desenvolvido grande conhecimento para a utilização de biorreatores em escala industrial, porém são poucos os dados disponíveis na literatura (MITCHELL et al., 2006). Algumas poucas informações podem ser encontradas em patentes (WILLIAMS, 1980 e IZUMI, 1977).

## 2.2 CULTIVO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

A maioria dos processos de fermentação no estado sólido envolve o crescimento de fungos filamentosos, pois as condições de cultivo simulam as condições ambientais em que muitos destes microrganismos são encontrados na natureza. Por este motivo, estes fungos, suas enzimas, seus esporos e seus metabólitos são melhores ajustados ao crescimento sobre substratos sólidos úmidos (HÖLKER; LENZ, 2005), apresentando melhores rendimentos e produzindo maior variedade de compostos do que outros microrganismos.

Devido à melhor adaptação dos fungos filamentosos ao processo, o cultivo destes microrganismos será usado como base para esta descrição, que tem por objetivo apresentar como que o desenvolvimento dos fungos influencia o meio e dificulta a manutenção das condições ideais de cultivo em grandes leitos porosos.

O processo fermentativo inicia com a inoculação, que é a mistura de uma solução de esporos ou de micélio com o substrato úmido. Esporos são organelas de resistência formadas por certos fungos que podem permanecer inertes por longos períodos, mas são capazes de germinar e gerar hifas quando encontram condições favoráveis ao crescimento. Micélio é a massa de filamentos, ramificados ou

enovelados, que constitui a estrutura vegetativa de um fungo. Cada um destes filamentos do micélio é denominado hifa (PELCZAR et al., 1996).

Durante o período de germinação, o esporo precisa que a temperatura do leite seja mantida próxima da temperatura ótima de crescimento, por esta razão pode ser necessário aquecer o leite se a temperatura ambiente estiver abaixo do ideal. Nesta fase, o esporo utiliza nutrientes internos para formar o tubo de germinação que irá se estender para fora do esporo e ramificar para gerar hifas filhas, as quais se estendem e ramificam novamente, formando uma microcolônia. Entretanto, a quantidade de nutrientes dentro do esporo é limitada e, para continuar crescendo, o fungo necessita obter nutrientes do meio externo. Normalmente, a fonte de carbono encontra-se na forma de polímeros, porém estes compostos precisam ser hidrolisados em produtos solúveis para que possam ser aproveitados pelo fungo. Para esta finalidade, os fungos secretam uma ou mais enzimas (biomoléculas que catalisam reações específicas) que se difundem até o substrato e catalisam a hidrólise. Os produtos solúveis formados difundem até o fungo e então são empregados nas reações metabólicas.

Durante este período inicial, que pode durar entre 2 e 10 horas, o fungo alcança a velocidade de crescimento específica máxima, mas, por causa da baixa quantidade de biomassa, o calor metabólico produzido ainda é baixo e pode ser necessário manter o aquecimento do leite.

Conforme a densidade de biomassa aumenta, as velocidades das atividades associadas ao crescimento também aumentam como, por exemplo, a produção de calor metabólico e o consumo de nutrientes e de oxigênio. A velocidade de consumo de oxigênio e nutrientes na região próxima das células microbianas pode se elevar a ponto de ser superior à capacidade destes compostos de se difundir até o local onde podem ser aproveitados pelo microrganismo. Neste caso, o crescimento fica limitado pela transferência de massa.

Em condições adequadas de cultivo, o fungo continua a crescer rapidamente através da extensão das hifas tanto para o espaço entre partículas como para o interior do substrato. As hifas que penetram no substrato crescem mais lentamente a cada momento devido à redução na concentração de oxigênio. Enquanto isto, as hifas aéreas contribuem significativamente com o aumento da densidade de biomassa global. Em um leite estático, as hifas aéreas começam a encontrar as hifas dos outros esporos e, desta maneira, formam uma rede no espaço entre

partículas (FIGURA 1). Em um leito agitado, mesmo que de modo intermitente, a rede de hifas aéreas é rompida restaurando a porosidade do leito. Entretanto, os danos causados ao fungo podem ser suficientes para reduzir ou até mesmo interromper o crescimento.

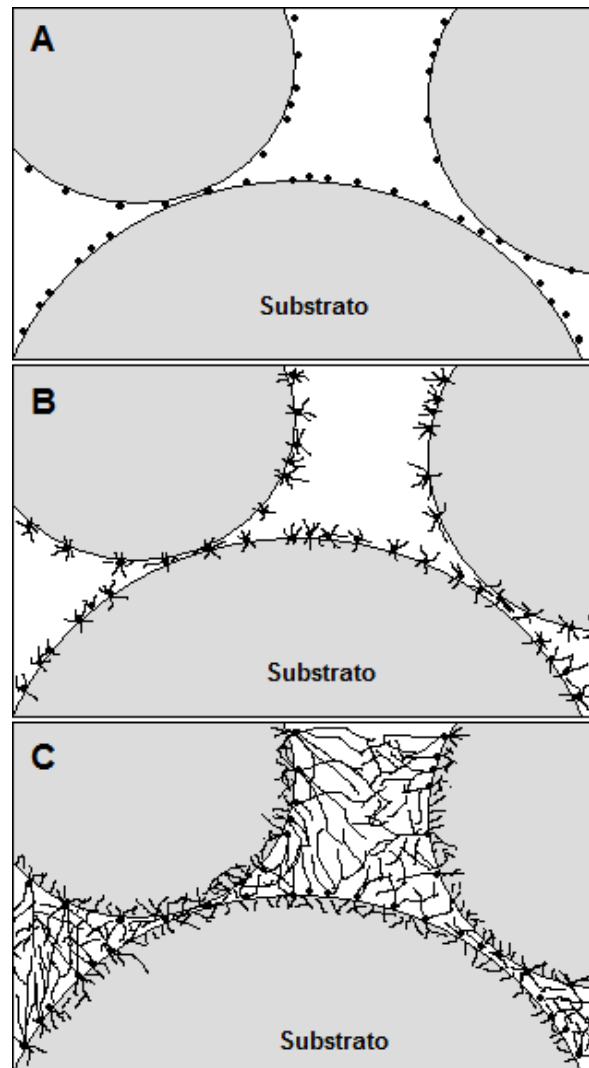


FIGURA 1 – CRESCIMENTO DAS HIFAS AÉREAS E PENETRATIVAS DURANTE UM PROCESSO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO COM LEITO ESTÁTICO. (A) Distribuição inicial de esporos sobre o substrato; (B) Estágio inicial de desenvolvimento cobrindo a superfície do substrato e (C) Formação da rede de hifas aéreas no espaço entre partículas.

FONTE: MITCHELL et al., 2006

Nesta fase de crescimento rápido, a velocidade de produção de calor metabólico excede a capacidade de remoção do calor e a temperatura do leito aumenta. A temperatura continua a aumentar enquanto a produção total de calor for superior à capacidade total de remoção de calor. Em biorreatores que operam nas condições típicas da fermentação no estado sólido, mesmo os que possuem

aeração forçada e camisas de resfriamento com os fluidos entrando na temperatura ótima de crescimento, é possível obter aumento de 10 ou até 20°C em algumas regiões do leito. Esta elevação na temperatura é suficiente para que, na maioria das vezes, o crescimento seja afetado de modo definitivo por causa da desnaturação de enzimas essenciais às funções metabólicas do fungo.

Portanto, o cultivo dos fungos na fermentação no estado sólido durante o crescimento rápido pode ser limitado tanto pelo aumento de temperatura, quanto pelas baixas concentrações de nutrientes, produtos hidrolisados solúveis ou oxigênio. Quando as condições de cultivo não são adequadamente controladas ou quando o substrato é consumido até limitar as atividades metabólicas, o microrganismo pode desencadear processos como a esporulação, redução no crescimento ou morte celular. Como resultado, o crescimento desacelera, a temperatura do leito volta para a temperatura inicial e o processo fermentativo é concluído.

Este período de declínio no crescimento pode ser importante se os produtos desejados são esporos ou metabólitos secundários, mas para outros produtos o processo fermentativo deve ser interrompido no início desta fase, que pode durar poucas horas ou até mesmo alguns dias, dependendo do processo.

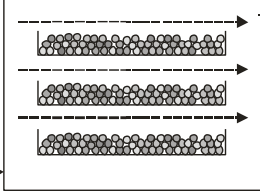
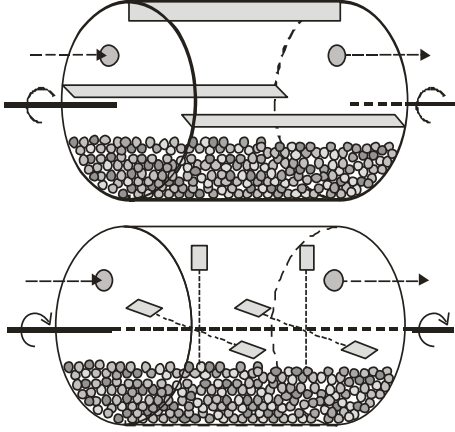
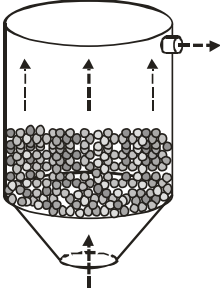
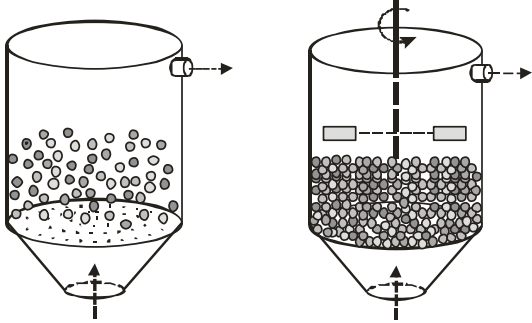
### 2.3 BIORREATORES DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

O biorreator é o local onde ocorre o processo fermentativo, nele são adicionados o substrato e o inóculo para posterior retirada do produto. Através deste equipamento procura-se fornecer as condições ambientais favoráveis para o crescimento dos microrganismos e para a formação do composto desejado.

Os biorreatores de fermentação no estado sólido podem ser classificados de acordo com os regimes de agitação e aeração (MITCHELL et al., 2000). A aeração forçada diz respeito aos biorreatores em que o ar é impelido a passar por dentro do leito durante a fermentação enquanto que naqueles sem a aeração forçada o ar passa por sobre ou ao redor do leito.

O formato tradicional dos biorreatores pode ser observado no QUADRO 2.



Agitação → Aeração ↓	Sem agitação (ou pouco freqüente)	Agitação contínua ou freqüente
Sem aeração forçada (o ar passa sobre o leito)		
Aeração forçada (o ar é forçado para passar por dentro do leito)		

QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DOS TIPOS DE BIORREATORES PARA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO, CLASSIFICADOS DE ACORDO COM A AGITAÇÃO E A AERAÇÃO.

FONTE: MITCHELL et al., 2000

### 2.3.1 Biorreator sem aeração forçada e sem agitação.

O principal representante desta classe é o biorreator de bandejas. Trata-se de um dos tipos mais simples de biorreatores e que é empregado no oriente para produção de alimentos tradicionais. Neste biorreator, a quantidade de substrato a ser fermentada fica determinada pela quantidade de bandejas utilizadas.

Cada bandeja pode receber, normalmente, uma camada entre 5 e 15 cm de profundidade, pois a transferência de massa e calor estão limitadas à difusão e a condução, respectivamente. Estas limitações formam gradientes significativos no interior do leito como foi demonstrado por Rathbun e Shuler (1983) através da

fermentação de *tempeh* em bandejas. Foram observados gradientes de temperatura de 3°C/cm e de 1,7% (vol.O<sub>2</sub>/vol.gás)/cm para leitos com 6,35 cm de profundidade.

Após a adição do substrato inoculado nas bandejas, elas são colocadas no interior de uma câmara que permite a passagem de ar, com temperatura e umidade controlada, ao redor das bandejas. O ar que atravessa a câmara tem por objetivo remover o excesso de calor e dióxido de carbono, e fornecer oxigênio na superfície do sólido. Para auxiliar na redução dos gradientes de temperatura e de concentração dos gases no interior do leito, podem ser realizadas agitações ocasionais, tanto de modo manual quanto automatizado.

As principais desvantagens deste tipo de biorreator são: a necessidade de manipulação intensiva e o grande volume das câmaras para a produção industrial, uma vez que o aumento de escala limita-se à utilização de mais bandejas de dimensões semelhantes.

### 2.3.2 Biorreator sem aeração forçada e com agitação contínua.

O formato mais comum desta classe de biorreatores é de um cilindro na horizontal cujo interior é parcialmente preenchido com o substrato sólido e a aeração é realizada somente no *headspace*, que é a fração gasosa superior ao leito do biorreator. A agitação é controlada de modo a favorecer as transferências de massa e calor entre o *headspace* e o leito e permitir a distribuição uniforme dos nutrientes adicionados durante o processo. Entretanto, a agitação não deve ser demasiada para evitar danos ao microrganismo ou quebra excessiva de partículas do substrato. Conforme o tipo de agitação, os biorreatores são divididos em tambores rotativos e tambores agitados.

No primeiro tipo, o biorreator gira ao redor do eixo central para misturar o substrato. Nos tambores agitados, o corpo do biorreator permanece estático enquanto misturadores instalados no interior do cilindro movimentam-se para agitar o leito.

Apesar da redução dos gradientes no interior do leito em comparação com as bandejas, muitas culturas de fungos não se desenvolvem adequadamente devido às forças de cisalhamento (PANDEY et al., 2001). Deste modo, a aplicação destes biorreatores fica restrita aos microrganismos que toleram agitação contínua.

Algumas variáveis no projeto destes biorreatores são: a inserção de chicanas; presença ou ausência de camisas de resfriamento; proporções em relação ao comprimento e diâmetro do equipamento; quantidade e tipos de misturadores utilizados. Entre as variáveis de processo é possível citar: velocidade de rotação; fração do volume ocupado pelo leite; temperatura, umidade e vazão do ar de entrada; e adição de água no leite.

Tambores rotativos foram empregados em escala comercial para a produção de penicilina e na indústria do *koji*. Ziffer (1988) descreveu a produção de penicilina através de 40 biorreatores de 1,22 m de diâmetro e 11,28 m de comprimento, que utilizava como substrato o farelo de trigo. A produção de *koji* foi descrita para um biorreator com capacidade de 1500 kg e que operava com agitação intermitente (SATO; SUDO, 1999).

### 2.3.3 Biorreator com aeração forçada e sem agitação ou agitação intermitente.

Os biorreatores deste grupo, chamados de leito fixo, são usualmente empregados quando não se deseja a agitação do leite, devido aos efeitos indesejados no microrganismo ou na estrutura física do produto final. O formato básico dos biorreatores consiste em um tanque cilíndrico com uma superfície perfurada na base. Esta superfície possui a função de sustentar o substrato sólido e permitir a passagem do ar que atravessa o leite.

A aeração forçada possibilita a utilização de leitos maiores do que os biorreatores de bandejas, em virtude da disponibilidade de oxigênio e da remoção do calor através dos mecanismos de convecção e evaporação.

Na transferência de energia por convecção, o ar entra com temperatura inferior à do leite e recebe energia da fase sólida, aumentando a temperatura do ar. A vazão do ar deve ser controlada, pois, se for baixa, gradientes significativos de temperatura axial podem ser formados, elevando a temperatura de saída para valores que são deletérios para o microrganismo (GHILDYAL et al., 1994; ASHLEY et al., 1999). Quando a taxa de aeração aplicada é satisfatória para a necessidade do resfriamento, ela também é alta o suficiente para que a concentração de oxigênio na fase gasosa não seja um fator limitante do processo (GOWTHAMAN et al., 1993; THIBAUT et al., 2000).

No resfriamento evaporativo, a água presente na fase sólida passa para a fase gasosa, removendo energia na forma de entalpia de vaporização. Conforme o ar atravessa o leito, o mecanismo de convecção eleva a temperatura do ar e também aumenta a capacidade do ar de carregar água, por isto o mecanismo de resfriamento evaporativo auxilia a evitar altas temperaturas mesmo quando ar saturado é fornecido na entrada do leito. No entanto, a evaporação promove o ressecamento do leito que também pode limitar o crescimento do microrganismo.

Nos biorreatores sem agitação, busca-se minimizar o resfriamento evaporativo através da entrada de ar saturado durante toda a fermentação, pois não é prática a adição de água de modo homogêneo no leito estático. Desta forma, as variáveis de operação são a taxa de aeração, a temperatura do ar de entrada e a temperatura do fluido que passa por dentro dos equipamentos de resfriamento.

O uso de camisas de resfriamento em biorreatores de leito fixo industriais não é uma estratégia vantajosa, uma vez que a remoção de calor será eficiente somente nos 10 a 20 cm de leito mais próximo da parede do biorreator (MITCHELL et al., 2000). Por isto, o resfriamento do leito por placas internas de transferência de calor é mais interessante. Algumas propostas da literatura são: o biorreator do tipo Zymotis (HARDIN; MITCHELL, 1998 e ROUSSOS et al., 1993) que possui placas de resfriamento no interior do leito, orientados paralelamente com a direção do fluxo, e os bioreatores do tipo “Prophyta” (LÜTH; EIBEN, 1999) e “PlaFractor” (SURANARAYAN; MAZUMDAR, 2000; SURYANARAYAN, 2003) que usam vários leitos finos sobre placas de resfriamento e fluxo de ar normal ao posicionamento dos leitos.

Quando o microrganismo gera grande quantidade de calor, o ressecamento excessivo do leito pode ocorrer mesmo com a entrada de ar saturado e o emprego de trocadores de calor. Neste caso, uma estratégia alternativa para que a umidade relativa da fase sólida não reduza significativamente é o emprego de substratos que sofrem pouca variação na umidade relativa mesmo com altas variações na quantidade de água, como o cânhamo impregnado com solução de glicose e extrato de batata (WEBER et al., 1999). Entretanto, freqüentemente a escolha do substrato é baseada em outras considerações, como a necessidade de utilizar um determinado resíduo da agroindústria ou pela capacidade do microrganismo de utilizar o substrato como fonte de energia. Na maioria destes substratos a umidade

relativa reduz significativamente quando água é removida e, portanto, torna-se necessária a adição de água durante a fermentação.

Biorreatores de agitação intermitente permitem que a água seja adicionada de modo relativamente uniforme durante os períodos de movimento do leito. Esta estratégia de cultivo pode ser uma solução promissora, uma vez que muitos processos com fungos conseguem tolerar eventos infreqüentes de agitação sem sofrer efeitos deletérios sobre o crescimento cinético, se os períodos de agitação forem relativamente curtos.

O emprego da agitação intermitente pode apresentar três vantagens operacionais adicionais à homogeneização do leito. A primeira é o aumento da porosidade do leito e conseqüente redução na perda de carga do ar que atravessa o leito. A porosidade é reduzida naturalmente durante a fermentação devido ao crescimento da rede de hifas aéreas no espaço entre as partículas do substrato. A segunda é a prevenção da esporulação, pois as forças de cisalhamento durante a agitação podem danificar os conidióforos aéreos, estrutura dos fungos responsável pela produção dos esporos. A última vantagem é a possibilidade de utilizar ar abaixo do ponto de saturação para aumentar a taxa de evaporação no interior do leito e conseqüentemente aumentar a remoção de calor. Neste caso, a maior taxa de evaporação resultará no ressecamento mais rápido do leito e na necessidade de mais eventos de agitação com adição de água durante a fermentação. A quantidade destes eventos será determinada pelo crescimento do fungo, pelo substrato utilizado e pela umidade do ar de entrada, porém se o número de agitações aumentar demasiadamente poderá ocorrer a inibição do crescimento dos fungos.

A aeração forçada do leito associada com agitação intermitente apresenta-se, portanto, como uma estratégia interessante para cultivar fungos filamentosos em biorreatores de fermentação no estado sólido. De fato, diversos autores desenvolveram trabalhos de sucesso com biorreatores em escala piloto que operam com agitação intermitente e aeração forçada, indicando o potencial desta estratégia (DURAND; CHEREAU, 1988; CHAMIELEC et al., 1994; FERNÁNDEZ et al., 1996; BANDELIER et al., 1997).

Quando a agitação intermitente é empregada, o número de variáveis operacionais aumenta. Pode-se determinar a estratégia para o início, duração e intensidade dos eventos de agitação. Além da possibilidade de adição de água e do ar entrar abaixo da saturação, como já foi citado anteriormente.

#### 2.3.4 Biorreator com aeração forçada e agitação contínua.

Os biorreatores desta classe podem ser agrupados de acordo com a forma que o leito é agitado. Eles podem ser semelhantes aos tambores agitados, que utilizam misturadores mecânicos, semelhantes aos tambores rotativos, que realizam a rotação do corpo do biorreator, e também podem ser homogeneizados através do movimento do ar. Neste último caso, são denominados biorreatores de leito fluidizado.

Biorreatores de leito fluidizado são cilindros verticais dentro dos quais existe uma placa perfurada onde o ar é forçado a passar em alto fluxo, suspendendo o sólido e permitindo que a mistura do sólido-ar atue como um fluido. A altura do biorreator deve ser o suficiente para permitir que o leito seja fluidizado. A maior vantagem deste tipo de biorreator é a alta taxa de transferência de calor e aeração, resultante da enorme área da interface do sólido com o ar. Outras características presentes são: a facilidade de remoção dos gases e metabólitos voláteis, o bom nível de mistura do sólido e a ausência de componentes mecânicos o que simplifica o controle automático do processo. Estes fatores permitem altos rendimentos, reduzindo a necessidade de grandes biorreatores.

Algumas investigações com o leito fluidizado apresentaram a produção de etanol (SCHÖBLER et al., 1987) e a fermentação de dendê para enriquecimento de rações animais (FOONG et al., 2009). Nestes casos, foram utilizados fungos e leveduras nos experimentos.

Estudos foram realizados para a estrutura dos tambores agitados (NAGEL et al., 2000 e ELLIS et al., 1994) com diferentes mecanismos de agitação e aeração, e para a agitação dos tambores rotativos (SCHUTYSER et al.; 2003). Entretanto, em todos estes casos foram utilizados biorreatores de escala laboratorial.

## 2.4 VARIÁVEIS OPERACIONAIS E INSTRUMENTAÇÃO

Os biorreatores de fermentação no estado sólido devem ser operados de modo a garantir que o microrganismo crescerá adequadamente e produzirá as quantidades esperadas do composto desejado. Entretanto, o crescimento do microrganismo provoca alterações no meio de cultivo, que se não forem detectadas

a tempo e compensadas corretamente irão afetar a operação e o desempenho do processo, resultando em produtos fora da especificação ou perda de produção. Portanto, para que a operação do processo ocorra de modo reprodutivo, são necessárias medidas confiáveis das principais variáveis do processo e estratégias de controle capazes de retornar o sistema para as condições ideais de cultivo.

As estratégias de controle estabelecem quais são as variáveis medidas e quais são os valores limites destas variáveis para que tenham início as ações de controle. Estas ações são alterações em algumas variáveis manipuláveis do sistema que tem por objetivo retorná-lo para as condições de maior crescimento do microrganismo no menor tempo possível.

A aplicação de estratégias de controle para biorreatores da fermentação no estado sólido provou ser uma tarefa difícil e que ainda está muito distante de uma solução satisfatória (PÉREZ-CORREA; AGOSIN, 1999). Um dos motivos para esta deficiência é a falta de sensores capazes de apresentar medidas *on-line* precisas de algumas variáveis fundamentais do processo (PEÑA Y LILLO et al., 2001).

Sensores são equipamentos que se baseiam em princípios físicos, químicos ou biológicos, para transformar sinais de magnitude real para sinais utilizáveis, na maioria dos casos em sinais elétricos. De acordo com o sistema de medição, os sensores de processos podem ser divididos em cinco grandes grupos de acordo com a amostragem e análise (FIGURA 2): nos sensores no sistema *off-line* as amostras são coletadas e então transportadas para um laboratório onde a análise é realizada; no sistema *at-line* as amostras também são retiradas do biorreator, mas o equipamento para a análise é colocado ao lado do local de onde a amostra é retirada; no sistema *on-line* a amostra é coletada de modo automático através de um duto no qual ocorre o condicionamento da amostra, medição, e processamento de dados; no sistema *in-line* o sensor analítico encontra-se em contato direto com o processo, interagindo diretamente com a amostra; e no sistema *non-invasive* o sistema também não necessita de amostragens e o analisador não entra em contato com o processo (TREVISAN; POPPI, 2006).

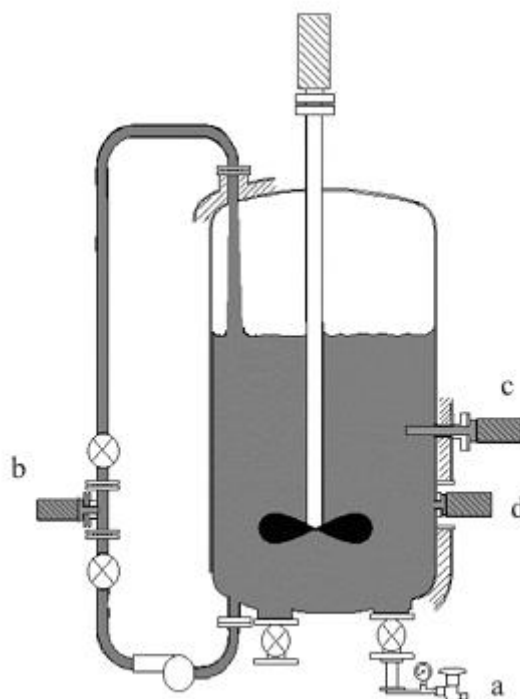


FIGURA 2 - COMBINAÇÃO DE VÁRIOS GRUPOS DE SENSORES EM UM MESMO REATOR QUÍMICO. (a) válvula de amostragem, necessária para sistemas de medições *off-line* e *at-line*; (b) linha de amostragem que conduz a amostra até um sensor *on-line*; (c) sensor *in-line*; e (d) sensor *non-invasive*.

FONTE: TREVISAN e POPPI, 2006

Em um biorreator de aeração forçada com agitação intermitente, as variáveis de operação disponíveis são: a vazão, temperatura e umidade do ar de entrada; a frequência, intensidade e duração dos eventos de agitação; e a quantidade de água adicionada no leito durante cada agitação. As variáveis medidas mais importantes para o controle do processo são a temperatura e a umidade do leito, porque o microrganismo consegue crescer e produzir metabólitos somente dentro de uma faixa muito estreita de variação destas condições. A porosidade, o pH, as concentrações de oxigênio e gás carbônico no ar de saída, as concentrações de nutrientes, o produto e os metabólicos voláteis também afetam a biomassa e podem ser monitoradas.

A temperatura é a variável mais importante e mais fácil de medir, pois muitos sensores de baixo custo estão disponíveis comercialmente. Devido à heterogeneidade do leito, quando ele permanece estático por longos períodos, é necessário operar com vários sensores para obter uma melhor estimativa do perfil de temperatura no leito e para buscar por regiões mais aquecidas, que podem afetar seriamente o crescimento e a produção.



Os equipamentos utilizados para medir a temperatura são os termopares e os detectores de temperatura de resistência (RTDs). O termopar é o sensor mais empregado devido ao baixo custo, à capacidade de operar tanto com baixas como com altas temperaturas, à maior resistência ao choque, ao fornecimento de resposta linear e rápida, e ao pequeno volume ocupado dentro do leito. Quando calibrados periodicamente, os erros variam entre  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $\pm 2,2^{\circ}\text{C}$ , dependendo do tipo de termopar e da qualidade (PÉREZ-CORREA; AGOSIN, 1999). Os detectores de temperatura de resistência são mais bem adaptados para as necessidades da FES porque são precisos, estáveis, de resposta rápida e não necessitam de calibrações constantes, por outro lado são mais caros e mais frágeis do que os termopares.

A redução da porosidade do leito pode limitar a remoção de calor metabólico e diminuir as transferências de oxigênio e gás carbônico entre a fase gasosa e sólida. Esta redução pode ocorrer devido ao crescimento de fungos filamentosos no espaço entre as partículas quando o leito permanece estático ou devido à fragmentação do substrato durante os eventos de agitação. Em qualquer um destes casos, as variações na porosidade podem ser percebidas através do monitoramento *on-line* da perda de carga do ar que atravessa o leito sólido (AURIA et al., 1993; VILLEGAS et al., 1993). Quando a perda de carga é monitorada por medidores de pressão, os tubos de Bourdon são os sensores mais empregados por serem simples, baratos e confiáveis, porém eles não são rápidos nem precisos. Os sensores Piezoelétricos podem ser utilizados para medir maiores faixas de pressão, com respostas rápidas e com a vantagem de serem insensíveis à temperatura (FERNÁNDEZ; PÉREZ-CORREA, 2006).

Nos períodos de operação estática, a perda de carga também auxilia na estimativa da biomassa produzida uma vez que não existem métodos confiáveis para a medição contínua desta variável na FES.

Praticamente, o único meio efetivo de regular a temperatura do leito durante o período em que o biorreator opera de modo estático é através da manipulação das condições do ar de entrada (VON MEIEN et al., 2006). Como parte do controle destas condições, a temperatura, vazão e umidade da corrente do ar de entrada devem ser medidas. A temperatura do ar de entrada pode ser verificada através de termopares ou detectores da temperatura de resistência. A vazão pode ser medida através de equipamentos como: rotâmetros, anemômetros, turbinas, ou tubos baseados na perda de carga associados com sensores de pressão diferencial (tubo

de Venturi, tubo de Pitot, Tubo Annubar e placas de orifício). Entretanto, os sensores baseados na perda de carga possuem a limitação do custo energético, pois a perda de carga pode ser significativa. Para medir a umidade do ar de entrada existem sensores capazes de monitorar a umidade e a temperatura, todavia eles não apresentam bom desempenho quando o ar está próximo da saturação, devido à condensação de água sobre o sensor (KHANAHMADI et al., 2006 e BARGA, 2007)

A análise da composição do ar de saída pode ser útil para verificar o andamento do processo fermentativo. Medidas das concentrações de gás carbônico e oxigênio, associados com medidas da vazão do ar, podem ser utilizados para calcular importantes variáveis como a velocidade de consumo de oxigênio, a velocidade de produção de gás carbônico, o coeficiente respirométrico e obter uma estimativa da velocidade de crescimento específica. Por outro lado, medidas de metabólitos voláteis podem servir de indicativos da atividade metabólica e da velocidade de produção do composto desejado, como por exemplo, a produção de ácido giberélico (GONZÁLEZ-SEPÚLVEDA; AGOSIN, 2000).

Medidas *on-line* de gás carbônico e oxigênio podem ser realizadas por cromatografia gasosa (SAUCEDO-CASTAÑEDA et al., 1994) ou por analisadores específicos para cada composto (FERNÁNDEZ et al., 1997). A principal vantagem do primeiro método é que muitos compostos podem ser monitorados com o mesmo instrumento e com capacidade de leitura para grandes variações na concentração. Entretanto, a análise necessita de vários minutos para apresentar o resultado. No caso do monitoramento da produção de alguns compostos voláteis pode ser necessário usar um espectrômetro de massa em conjunto com o equipamento cromatográfico (SUNESSON et al., 1995).

Os analisadores específicos podem ser mais precisos e com respostas mais rápidas. Dentre os muitos tipos de instrumentos estão inclusos os analisadores paramagnéticos para o gás oxigênio e amônia, instrumentos de infravermelho para o dióxido de carbono e analisadores eletroquímicos para o gás oxigênio. Os analisadores paramagnéticos são caros, porém são precisos, não necessitam de calibrações constantes e sofrem pouca influência com os outros gases; os analisadores eletroquímicos são de baixo custo e de boa precisão, todavia a célula eletrolítica necessita ser trocada periodicamente; e os analisadores por infravermelho são precisos e de longa duração, embora sejam de elevado custo e necessitem de calibrações ocasionais. Os principais cuidados com estes

instrumentos referem-se ao processo de amostragem, pois o gás deve ser seco e entrar no equipamento com vazão regulada e constante.

O pH é uma variável importante, pois cada microrganismo consegue o crescimento ótimo dentro de uma faixa estreita de valores. As variações podem ocorrer naturalmente no decorrer da fermentação devido ao consumo do substrato e à produção de metabólitos (BELLON-MAUREL et al., 2003). Entretanto, monitorar o pH em leitos sólidos não é uma situação prática por causa da ausência de água não adsorvida ao substrato (DURAND et al.; 1996). Em consequência disto, é comum o preparo do substrato com uma solução tampão para que o pH não varie demasiadamente durante o cultivo do microrganismo (FERNÁNDEZ; PÉREZ-CORREA, 2006). Os equipamentos tradicionais para a medida do pH, que utilizam eletrodos de vidro, não apresentam respostas confiáveis em decorrência do pouco contato entre o sólido e a parte sensível do eletrodo. Quando uma amostra é diluída em água a resposta obtida é rápida e exata, porém o valor encontrado é uma média do pH total da amostra e não pode ser extrapolado para todos os pontos dentro do biorreator, devido à heterogeneidade do leito e aos gradientes significativos existentes dentro da partícula do fungo.

As concentrações de biomassa e de substrato residual não são fáceis de monitorar durante a fermentação em função da dificuldade de separar os dois elementos. A biomassa pode ser estimada a partir dos resultados das concentrações dos gases envolvidos na respiração e da variação da temperatura. O substrato residual também pode ser estimado se forem conhecidos os coeficientes de consumo do substrato em relação à produção de biomassa, mas esta variável normalmente não é monitorada em reações em batelada, pois é possível garantir que a operação será normal ao se empregar elevada concentração inicial de substrato (FERNÁNDEZ; PÉREZ-CORREA, 2006).

A umidade relativa do leito possui forte influência no crescimento e na produção de metabólitos dos microrganismos. A quantidade de água deve ser medida periodicamente para evitar o ressecamento do leito, especialmente durante o período de crescimento rápido. O método tradicional de secagem em estufa para verificar a umidade nas amostras do leito não é prático, em virtude do tempo do processamento das amostras, uma vez que são necessárias muitas horas para obter os resultados. Balanças de infravermelho são interessantes, já que eles fornecem uma indicação mais rápida e precisa da umidade da amostra retirada do processo.

Entretanto, tanto o método tradicional como as balanças de infravermelho não são apropriados para o controle automático de umidade do leito por requererem a intervenção do operador para a amostragem (FERNÁNDEZ E PÉREZ-CORREA, 2006). Além disto, existe a dificuldade de remover, sem perturbar o leito, quantidade suficiente de amostra durante os períodos de operação estática.

A espectroscopia no infravermelho trabalha com a absorção das radiações das ligações moleculares no infravermelho próximo (NIR) e no infravermelho médio (MIR). A espectroscopia NIR, pode ser utilizada para a quantificação do conteúdo de água no leito (YANO et al., 1998 e SUEHARA et al., 1999), porém as medidas são realizadas após a amostragem manual, o que dificulta seu uso como sensor. Para empregar este método como sensor *on-line* seria necessário unir o espectroscópio NIR com fibras óticas ao biorreator de modo a criar uma detecção remota ou retirar amostras de modo automático (BELLON-MAUREN et al., 2003). Várias técnicas tomográficas que empregam sensores de microondas, raios-X e imagem de ressonância magnética são capazes de fornecer medidas *on-line* e em três dimensões da umidade do leito, entretanto a aplicação é muito restrita na atualidade devido ao elevado custo (BELLON-MAUREN et al., 2003). Em decorrência da dificuldade de leitura direta da umidade do leito através de sensores, alguns autores desenvolveram modelos de inferência para estimar o valor desta variável a partir de medidas da temperatura ou composição do gás.

## 2.5 MODELOS DE INFERÊNCIA

Nos biorreatores que utilizam o resfriamento evaporativo, o monitoramento da umidade do leito é de grande importância durante o cultivo do microrganismo, para evitar o ressecamento do leito e a limitação do processo. Entretanto, sensores que sejam de baixo custo e que sejam capazes de realizar medidas confiáveis e rápidas não estão disponíveis. Neste caso, podem ser utilizados modelos de inferência, que usam valores de variáveis de fácil medição, para estimar a umidade do leito.

Os modelos de inferência são baseados em balanços elementares e não possuem relações cinéticas. A cinética é fornecida ao modelo pelas medidas das variáveis do processo, como a temperatura e a concentração de gases. Os valores

destas variáveis medidas são inseridos em balanços de massa e energia, que utilizam coeficientes de rendimento específicos para cada reação para determinar a umidade do leito. Trabalhos que desenvolveram modelo de inferência para monitorar a umidade do leito serão descritos a seguir.

#### 2.5.1 Modelo de Nagel et al. (2000)

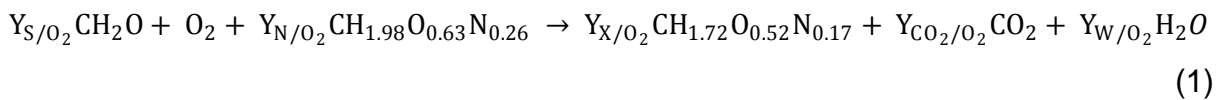
O modelo elaborado por Nagel et al. (2000) busca estimar a quantidade de água no meio extracelular e a quantidade de água total, utilizando medidas *on-line* da concentração de oxigênio, da concentração de gás carbônico e do ponto de orvalho na saída da fase gasosa. No desenvolvimento do modelo, foram calculadas separadamente as quantidades de água contida na biomassa e no substrato residual, pois foi considerado que o crescimento do fungo pode ser prejudicado pela limitada disponibilidade de água no substrato residual, mesmo quando a umidade total do leito fermentado permanecesse constante com o tempo. O aumento da biomassa causaria aumento da quantidade de água no interior das células e redução da umidade do substrato residual. Por este motivo, a umidade do substrato residual e não a umidade total deveria ser controlada para o adequado crescimento do microrganismo.

As leituras de produção do gás carbônico foram utilizadas para estimar a redução da massa seca; as medidas de consumo de oxigênio para calcular a produção de água metabólica, o consumo de água pela hidrólise do amido, a incorporação de água pela nova biomassa e a produção de massa da biomassa seca; e as medidas da temperatura do ponto de orvalho para calcular a diferença entre a umidade do ar de entrada e saída, que representa a evaporação. A validação do modelo foi realizada através de cultivos de *Aspergillus oryzae* sobre grãos de trigo em biorreator do tipo tambor agitado com volume de 35 litros e em biorreator do tipo tambor rotativo de 1,5 litros.

Um sistema experimental foi desenvolvido para estimar os coeficientes de rendimento durante a fermentação. Neste sistema, uma membrana, que ficava entre o fungo e uma torta de grãos de trigo, possibilitava a separação da biomassa e do leito durante o cultivo. Deste modo, foi possível medir a massa de substrato consumido e da biomassa produzida, o que normalmente não é possível nos cultivos

em FES devido à penetração das hifas no substrato. Durante os experimentos foram monitorados também o consumo de gás oxigênio e a produção de gás carbônico.

Os coeficientes de rendimento de biomassa, de gás carbônico e de consumo de carboidrato em função do oxigênio foram medidos diretamente do experimento, enquanto que os coeficientes de rendimento de água metabólica e de consumo de proteínas em função do oxigênio foram calculados a partir dos coeficientes medidos e da equação de reação do crescimento de *A. oryzae* (equação (1)) com fontes nutricionais de glicose e proteína de trigo.



Os termos do lado esquerdo da equação representam o substrato ( $CH_2O$ ), oxigênio ( $O_2$ ) e proteína de trigo ( $CN_{1.98}O_{0.63}N_{0.26}$ ). Os termos de  $Y_{A/B}$  representam o coeficiente de rendimento de A em função do elemento B. Os termos do lado direito da reação representam a biomassa ( $CH_{1.72}O_{0.52}N_{0.17}$ ), gás carbônico ( $CO_2$ ) e produção de água metabólica ( $H_2O$ ).

O balanço de massa para a água extracelular ( $W_{ex}$ ) possui quatro contribuições: a evaporação, a água incorporada pela nova biomassa, a produção de água metabólica e a água utilizada durante a hidrólise do amido.

$$\frac{dW_{ex}}{dt} = F_{ar}(C_{W\ ent} - C_{W\ sai}) + X_{W,X}Y_{X/O_2}r_{O_2}Mw_X - Y_{W/O_2}r_{O_2}Mw_W + Y_{hid}Y_{S/O_2}r_{O_2} \quad (2)$$

O primeiro termo do lado direito representa a variação da umidade do ar devido à evaporação, onde  $F_{ar}$  é a vazão volumétrica do gás e  $C_{W\ ent}$  e  $C_{W\ sai}$  são as umidades do ar de entrada e saída, respectivamente. O segundo termo representa a variação da massa de água no interior da biomassa onde  $X_{W,X}$  é a fração mássica de água na biomassa,  $Y_{X/O_2}$  é o coeficiente de rendimento de biomassa em função do oxigênio,  $Mw_X$  é a massa molar da biomassa e  $r_{O_2}$  é a taxa de produção de oxigênio. O terceiro termo representa a produção de água metabólica, onde  $Y_{W/O_2}$  é o coeficiente de rendimento de água em função do oxigênio e  $Mw_W$  é a massa molar da água. Por último, está a água consumida durante a hidrólise do amido, onde  $Y_{hid}$

é a água necessária para a hidrólise e  $Y_{S/O_2}$  é coeficiente de rendimento da hidrólise do amido em função do oxigênio.

A velocidade de variação do substrato residual seco ( $M_{ex}$ ) em função do tempo foi calculada pela seguinte relação:

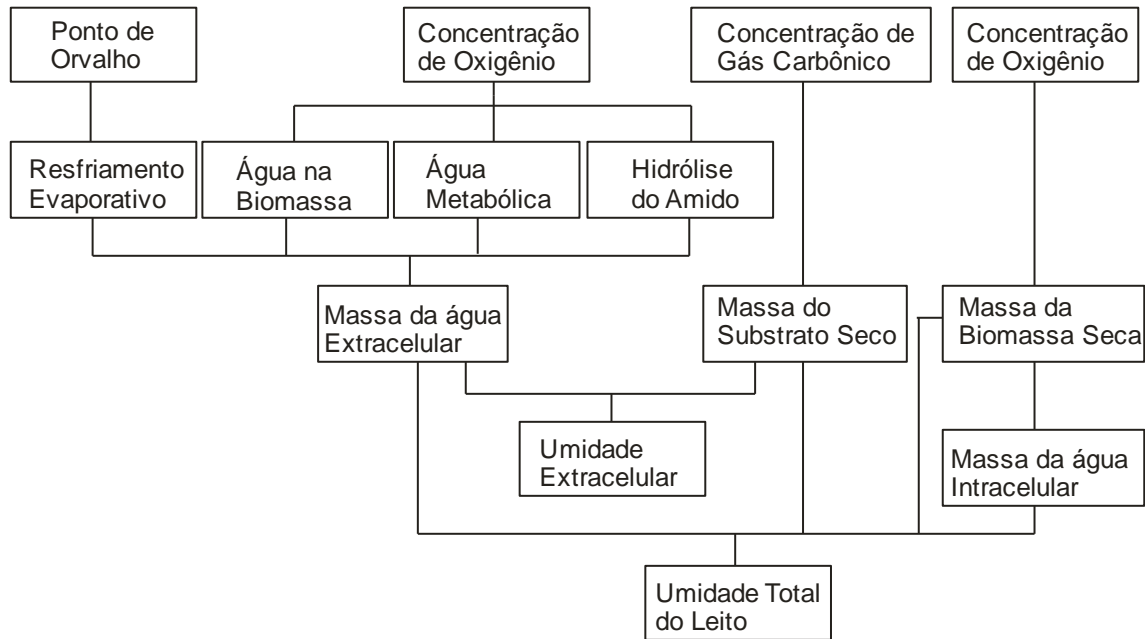
$$\frac{dM_{ex}}{dt} = \left( \frac{Y_{S/O_2}}{Y_{CO_2/O_2}} Mw_S + \frac{Y_{N/O_2}}{Y_{CO_2/O_2}} Mw_N \right) r_{CO_2} \quad (3)$$

Os termos do lado direito representam consumo de carboidrato e de proteína em função da taxa de produção de gás carbônico ( $r_{CO_2}$ ). Os termos  $Mw_S$  e  $Mw_N$  são as massas molares do amido e da proteína no substrato por mol de carbono, respectivamente. A concentração de água no substrato residual em um determinado instante foi calculada a partir da divisão da massa de água no substrato ( $W_{ex}$ ) pela massa seca do substrato ( $M_{ex}$ ).

Para a validação do modelo, foi calculada a quantidade global de água para comparar com valores medidos experimentalmente, uma vez que a umidade extracelular pode ser estimada pelo modelo, mas não pode ser medida diretamente na fermentação com os grãos de trigo. Para estimar a concentração de água no leito total, foram calculadas a massa total de biomassa seca ( $M_X$ ) e a massa da água intracelular ( $W_X$ ).

$$\frac{dM_X}{dt} = -Y_{X/O_2} r_{O_2} Mw_X \quad (4)$$

$$W_X(t) = X_{w,X} M_X(t) \quad (5)$$



FLUXOGRAMA 1 - UNIDADES BÁSICAS PARA O CÁLCULO DA UMIDADE EXTRACELULAR E UMIDADE TOTAL SEGUNDO MODELO DE NAGEL et al., 2000.  
 FONTE: NAGEL et al.; 2000

A umidade total do leito ( $X_{W \text{ total}}$ ) foi calculada pela seguinte relação:

$$X_{W \text{ total}} = \frac{W_{\text{ex}} + W_X}{M_{\text{ex}} + M_X} \quad (6)$$

Em um dos experimentos realizados para a validação do modelo, o resfriamento evaporativo foi favorecido enquanto que no outro este processo foi reduzido através do aumento da retirada de calor pelas paredes do biorreator. Nos dois ensaios, os valores calculados pelo modelo de inferência eram próximos àqueles medidos experimentalmente, entretanto os valores calculados para a umidade extracelular apresentaram desvios médios elevados que foram causados pelos erros de aproximadamente 15% na biomassa estimada.

### 2.5.2 Modelo de Peña y Lillo et al. (2001)

O modelo de Peña y Lillo et al. (2001) foi desenvolvido para estimar a umidade e a temperatura média do leito em biorreatores de aeração forçada e agitação periódica. O valor da umidade foi utilizado para o controle do processo enquanto que o da temperatura, para a validação do modelo a partir de dados



coletados durante a fermentação de *Gibberella fujikuroi* sobre farelo de trigo em biorreator de 200 kg de capacidade. Sensores foram utilizados para as medidas da umidade relativa do ar de entrada, da temperatura do gás de entrada e saída, da vazão de ar seco e da concentração de gás carbônico. Outros valores medidos foram: a umidade do leito (determinada *off-line* a cada 4 horas), a água adicionada ao leito, a água retirada pelo fundo do biorreator e a massa inicial e final do substrato.

No desenvolvimento do modelo, foi considerado que a fase sólida era homogênea em relação à temperatura e à umidade, que a temperatura não tinha influência sobre as propriedades físicas, que as relações estequiométricas permaneceram constantes durante todo o cultivo, que o ar de saída estava sempre saturado na temperatura medida e que a fase gasosa permanecia no estado pseudo-estacionário.

Segundo os autores, a parede do biorreator possui contribuição significativa no acúmulo de calor em biorreatores de grande escala devido à alta capacidade calorífica e à alta condutividade térmica, por isto ela foi inserida no balanço de energia. Nos modelos laboratoriais a contribuição das paredes do biorreator pode ser desprezada.

O balanço de energia global utilizado foi:

$$C_{\text{ptot}} k_{\text{exp}} \frac{dT}{dt} = [-\Delta H_r - Q_g - Q_{\text{parede}} + F_w C_{p_w} (T_w - T)] \quad (7)$$

No lado esquerdo  $C_{\text{ptot}}$  representa a capacidade calorífica total do biorreator incluindo o substrato seco, a fase aquosa e as paredes do biorreator,  $k_{\text{exp}}$  é um parâmetro empírico que foi adicionado para corrigir os erros introduzidos devido à consideração da homogeneidade da temperatura no leito. O primeiro termo dentro dos colchetes do lado direito da equação representa a variação de entalpia da reação e foi calculado a partir da taxa de produção de gás carbônico. O segundo termo representa o calor removido pelo gás. Este foi separado em duas partes, uma representando a convecção forçada entre o leito e o ar e a outra o calor latente da evaporação da água:

$$Q_g = Q_{g \text{ conv}} + Q_{g \text{ evap}} \quad (8)$$

Sendo

$$Q_{g \text{ conv}} = \{F_{\text{ar}} [C_{\text{pg}} (T_s - T_e) + C_{\text{p vap}} (\varphi_{\text{sai}} T_s - \varphi_{\text{ent}} T_e) - C_{\text{p vap}} T (\varphi_{\text{sai}} - \varphi_{\text{ent}})]\} \quad (9)$$

$$Q_{g \text{ evap}} = G\lambda(\varphi_{\text{sai}} - \varphi_{\text{ent}}) \quad (10)$$

Os componentes das equações são a vazão de ar ( $G$ ), a capacidade calorífica do ar seco ( $C_{\text{pg}}$ ), a capacidade calorífica do vapor de água ( $C_{\text{p vap}}$ ), as medidas de umidade específica do ar de entrada e de saída ( $\varphi_{\text{ent}}$  e  $\varphi_{\text{sai}}$ ), as temperaturas do ar de entrada e saída ( $T_s$  e  $T_e$ ) e o calor latente da água ( $\lambda$ ).

O terceiro termo do lado direito da equação do balanço total de energia (equação (7)) representa a transferência de calor para as vizinhanças por convecção natural e radiação assumindo que a temperatura da parede é igual à temperatura do leito.

$$Q_{\text{parede}} = [hA(T - T_{\text{viz}}) + h\sigma\varepsilon(T^4 - T_{\text{viz}}^4)] \quad (11)$$

Os parâmetros deste termo são o coeficiente de transferência de calor por convecção ( $h$ ), a área da parede ( $A$ ), a temperatura das vizinhanças ( $T_{\text{viz}}$ ), a emissividade das paredes do reator ( $\varepsilon$ ) e a constante de Stefan-Boltzmann ( $\sigma$ ).

O último termo da equação (7) representa as mudanças de entalpia associadas com a água retirada na fase líquida no fundo do biorreator, considerando que ela se encontra na temperatura do leito, e o volume de água adicionada por hora ( $F_w$ ) na temperatura  $T_w$ .

A velocidade de variação dos sólidos secos foi considerada diretamente proporcional à taxa de produção de gás carbônico.

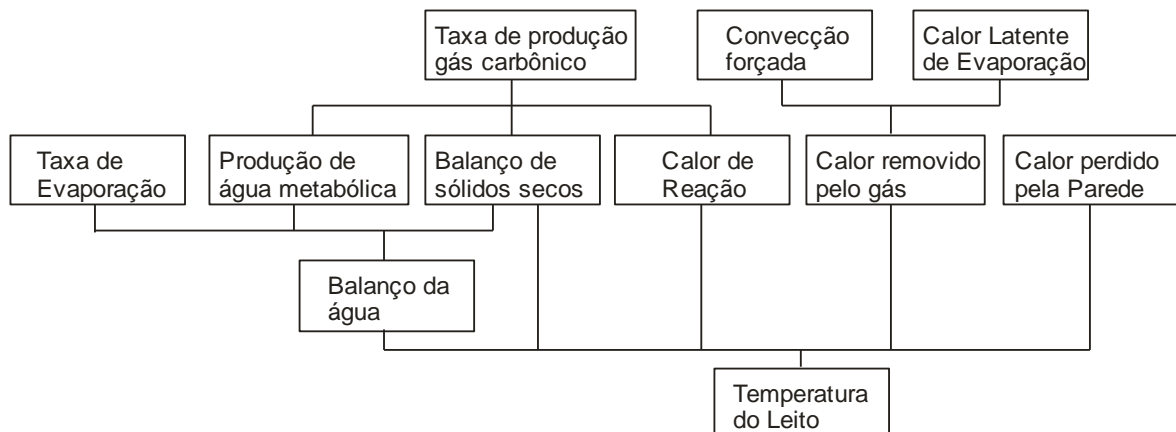
$$\frac{dM_s}{dt} = -k_g \cdot \text{CPR} \quad (12)$$

Onde  $k_g$  é uma constante empiricamente determinada e CPR a taxa de produção de gás carbônico.

O balanço de umidade do leito levou em consideração a produção de água metabólica, a adição de água durante o cultivo, a evaporação e a água retirada pelo fundo do biorreator.

$$\frac{dX_w}{dt} = R_w + \frac{F_w}{M_s} - \frac{G(\varphi_s - \varphi_e)}{M_s} - \frac{W_p}{M_s} - \frac{X_w}{M_s} \frac{dM_s}{dt} \quad (13)$$

O primeiro termo do lado direito da equação representa a produção de água metabólica ( $R_w$ ), que foi calculada a partir da produção de gás carbônico e da estequiometria da reação; o segundo termo, adição externa de água ( $F_w$ ); o terceiro, a evaporação que utilizou as medidas de umidade relativa e de temperatura de entrada e saída do gás para calcular a umidade específica ( $\varphi_s$  e  $\varphi_e$ ). O quarto termo representa a água coletada no fundo do biorreator ( $W_p$ ) e o último termo calcula a degradação do substrato, pois a umidade ( $X_w$ ) foi expressa em base seca ( $M_s$ ).



FLUXOGRAMA 2 - UNIDADES BÁSICAS PARA O CÁLCULO DA UMIDADE E TEMPERATURA DO LEITO SEGUNDO MODELO DE PEÑA Y LILLO et al., 2001.  
 FONTE: PEÑA Y LILLO et al., 2001

Durante os cálculos pelo modelo, os valores da temperatura eram corrigidos pelos dados experimentais a cada 10 h de fermentação. Mesmo assim, os valores da temperatura medidos *on-line* apresentaram grandes desvios em relação aos estimados pelo modelo. A umidade do leito sofreu variações superiores a 30%, especialmente no final do cultivo, apesar disto os valores estimados pelo modelo apresentaram bom ajuste com os dados experimentais medidos *off-line*.

### 2.5.3 Modelo de Khanahmadi et al. (2006)

Khanahmadi et al. (2006) buscaram estimar a umidade do leito em biorreatores do tipo leito fixo com agitação intermitente e passagem forçada de ar através de um modelo que utiliza instrumentos de baixo custo. Temperaturas do ar de entrada e saída foram medidas por termopares e apenas estes dados foram coletados *on-line* para utilizar no modelo de inferência. Os experimentos para validação do modelo foram realizados com o microrganismo *Aspergillus niger* cultivado sobre farelo de trigo em um leito de camada delgada com 4 cm de altura e umidade inicial de 55% em base úmida.

Algumas considerações foram necessárias para utilizar apenas as medidas das temperaturas no desenvolvimento do modelo. Foi assumido que o ar está saturado em todos os pontos dentro do leito e em equilíbrio térmico com a fase sólida que está em contato. Foi assumido também que a atividade da água no sólido permanece próxima da unidade durante todo o experimento e que as transferências de massa e calor ocorrem apenas na direção do fluxo de ar. Por fim, foi assumido que tanto o acúmulo de energia térmica no leito quanto a contribuição da convecção na remoção de calor paralela a direção do ar são desprezíveis.

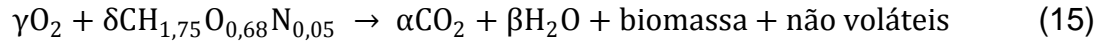
Inicialmente foi calculada a produção de calor metabólico.

$$Q_m(t) = \int_0^t v_x A \rho_{da} (Cp_{da} + f\Delta H_w)(T_{ao} - T_{ai}) dt \quad (14)$$

Nesta equação foram considerados os ganhos energéticos do ar seco para elevar a temperatura entre a entrada e a saída do biorreator ( $T_{ao}$  e  $T_{ai}$ , respectivamente) e da evaporação da água para manter o ar saturado na temperatura mais elevada do ar de saída. Os elementos da equação são a velocidade superficial do ar ( $v_x$ ), a secção transversal do leito perpendicular ao fluxo do ar ( $A$ ), a densidade do ar seco ( $\rho_{da}$ ), a capacidade calorífica do ar seco ( $Cp_{da}$ ), o aumento na umidade de saturação do ar por unidade da temperatura ( $f$ ), o calor latente de evaporação da água ( $\Delta H_w$ ) e o tempo ( $t$ ).

O calor metabólico calculado foi utilizado para determinar a redução da massa seca total e a variação da quantidade de água no leito. Nos cálculos destas outras variáveis foram empregados os coeficientes de rendimento baseados na

equação estequiométrica simplificada para processos da fermentação no estado sólido.



A velocidade de variação da massa seca total foi estimada a partir das taxas de produção volumétrica de água ( $r_{H_2O}$ ), gás carbônico ( $r_{CO_2}$ ) e oxigênio ( $r_{O_2}$ ) e as massa molares destas moléculas ( $M_n$ ).

$$r_{dm} = -M_{H_2O} r_{H_2O} - M_{CO_2} r_{CO_2} - M_{O_2} r_{O_2} \quad (16)$$

No cálculo da velocidade de variação da quantidade total de água no leito foram consideradas a produção de água metabólica e a evaporação.

$$\frac{dW}{dt} = r_{w,av} V_{bed} - \frac{q_{ev}}{\Delta H_w} \quad (17)$$

Os termos apresentados na equação são a taxa média de produção de água metabólica no leito em base mássica ( $r_{w,av}$ ), o volume do leito ( $V_{bed}$ ), a taxa de transferência de calor para o ar devido à evaporação da água ( $q_{ev}$ ) e o calor latente de evaporação da água ( $\Delta H_w$ ).

Com os valores estimados da variação da massa seca ( $\Delta W$ ) a partir da equação (16) e da variação quantidade de água no leito ( $\Delta M_{dm}$ ) a partir da equação (17), foi calculada a umidade do leito em base úmida.

$$x_w(t) = \frac{W}{W + M_{dm}} = \frac{W_0 - \Delta W}{[W_0 - \Delta W] + [M_{dm0} - \Delta M_{dm}]} \quad (18)$$

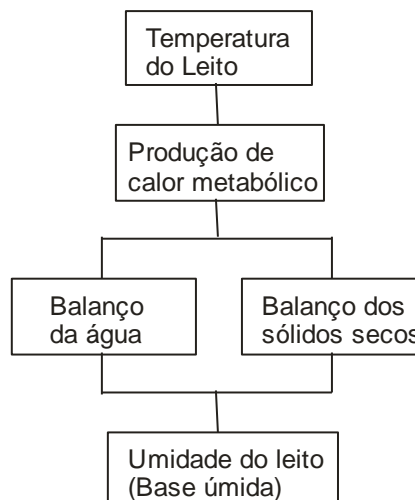
Os termos ( $W_0$  e  $M_{dm0}$ ) representam as condições iniciais da variável.

As previsões da quantidade de água no leito foram comparadas com os valores obtidos durante as duas fermentações realizadas no biorreator. Estas previsões também foram usadas para calcular a quantidade de água a ser adicionada durante os eventos de agitação do leito ( $W_{mk}$ ).

$$W_{mk} = \frac{x_{wf} - x_{wi}}{(1 - x_{wf})(1 - x_{wi})} [M_{dm0} - \Delta M_{dm}] \quad (19)$$

Os termos  $x_{wi}$  e  $x_{wf}$  são a umidade do leite imediatamente antes e imediatamente depois da adição de água, sendo que os limites da umidade foram  $0.4 \text{ kg.kg}^{-1}$  em base úmida para  $x_{wi}$  e  $0,66 \text{ kg.kg}^{-1}$  em base úmida para  $x_{wf}$ .

Os valores previstos pelo modelo de inferência apresentaram erros de até 25% para a perda de água e 29% para a perda de massa seca em relação aos valores medidos experimentalmente. Erros maiores ocorreram após a última adição de água (48% para a água e 80% para a massa seca) que foram provocados pelas mudanças no metabolismo do microrganismo. Os coeficientes de rendimento utilizados nas equações foram estimados para o metabolismo de crescimento, entretanto, após a última adição de água, o metabolismo de manutenção, que difere do metabolismo de crescimento, predominou no processo fermentativo.



FLUXOGRAMA 3 - UNIDADES BÁSICAS PARA O CÁLCULO DA UMIDADE DO LEITO SEGUNDO MODELO DE KHANAHMADI et al., 2006.  
 FONTE: KHANAHMADI et al., 2006

#### 2.5.4 Modelo de Barga (2007)

Diferentemente dos modelos anteriores, que consideravam que o leite estava bem misturado, o modelo de Barga (2007) considerou a heterogeneidade do leite. O modelo desenvolvido utilizava medidas da temperatura em várias alturas do

leito, do ar de entrada e do ar de saída para estimar a umidade como função da altura do leito em um biorreator de escala piloto com agitação intermitente e passagem forçada de ar.

No modelo foi considerada a diminuição na quantidade total de sólidos secos devido à conversão do substrato em biomassa, gás carbônico e água metabólica. Apesar da redução dos sólidos secos, a geometria do leito foi considerada constante para facilitar os cálculos. Na transferência de calor foram consideradas as trocas por convecção e evaporação, mas foram desconsideradas as perdas pela parede do biorreator.

Na estimativa da produção de biomassa, foi considerada somente a produção de calor metabólico obtido pelo balanço de energia através das temperaturas medidas durante o processo. A partir do calor metabólico e da estequiometria da reação global foi estimada a produção de água metabólica. Este último valor foi incorporado dentro do balanço de massa da água para determinar a umidade do leito.

Inicialmente, a equação do balanço global de energia foi usada para estimar o calor metabólico produzido, a partir das temperaturas medidas no leito.

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = -\varepsilon\rho_g(C_{pg} + \varphi_g C_{pv}) \frac{\partial T}{\partial t} + (C_{pg} + \varphi_g C_{pv})G \frac{\partial T}{\partial z} + S(C_{ps} + \varphi_s C_{pw}) \frac{\partial T}{\partial t} + \lambda \frac{\partial H_{sat}}{\partial T} \frac{\partial T}{\partial z} G \quad (20)$$

O primeiro termo do lado direito da equação representa a variação de energia na fase gasosa enquanto que o segundo representa a variação de energia nas diferentes posições do leito devido à convecção. O terceiro termo do lado direito da equação representa a variação da energia na fase sólida e o quarto termo representa a variação de energia nas diferentes posições do leito devido ao resfriamento evaporativo, onde  $\lambda$  é a entalpia de evaporação da água e  $H_{sat}$  é a umidade de saturação do ar em função da temperatura. Os parâmetros apresentados na equação são a porosidade ( $\varepsilon$ ), a densidade da fase gasosa ( $\rho_g$ ), o fluxo mássico de ar ( $G$ ), o calor específico do ar seco ( $C_{pg}$ ), a umidade da fase gasosa ( $\varphi_g$ ), o calor específico do vapor de água ( $C_{pv}$ ), a massa de substrato contido no leito ( $S$ ), o calor específico do substrato seco ( $C_{ps}$ ), a umidade da fase sólida ( $\varphi_s$ ),

o calor específico da água ( $C_{PW}$ ), a entalpia de evaporação da água ( $\lambda$ ), a umidade de saturação ( $H_{sat}$ ), o calor metabólico ( $Q$ ) e a temperatura ( $T$ ).

Com o valor do calor metabólico e com o coeficiente de rendimento do calor metabólico em função do oxigênio ( $Y_{Q/O_2}$ ) foi calculado o consumo de oxigênio através da relação

$$\frac{\partial O_2}{\partial t} = \frac{1}{Y_{Q/O_2}} \frac{\partial Q}{\partial t} \quad (21)$$

O valor estimado do consumo de oxigênio associado com a equação estequiométrica foi usado para determinar a produção de gás carbônico, produção de água metabólica e no balanço de sólidos secos. As equações para estimar todos estes elementos do modelo de inferência foram baseadas nos coeficientes de rendimento do elemento de interesse em função do oxigênio ( $Y_{X/O_2}$ ).

$$\frac{\partial CO_2}{\partial t} = -Y_{CO_2/O_2} \frac{\partial O_2}{\partial t} M_{CO_2} \quad (22)$$

$$\frac{\partial W}{\partial t} = -Y_{W/O_2} \frac{\partial O_2}{\partial t} M_{H_2O} \quad (23)$$

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \left( -Y_{W/O_2} M_{H_2O} - Y_{CO_2/O_2} M_{CO_2} + M_{O_2} \right) \frac{\partial O_2}{\partial t} \quad (24)$$

Os termos  $M_{CO_2}$ ,  $M_{H_2O}$  e  $M_{O_2}$  da equação (24) são as massas molares do gás carbônico, da água e do oxigênio, respectivamente.

O valor dos sólidos secos, atualizado em cada iteração, foi utilizado no terceiro termo do lado direito da equação do balanço global de energia e, juntamente com o valor da água metabólica produzida, foi utilizado no balanço global de água no leito para determinar a umidade da fase sólida ( $\varphi_s$ )

$$\varepsilon \rho_g \frac{\partial \varphi_g}{\partial t} - G \frac{\partial \varphi_g}{\partial z} = -\frac{\partial (S \varphi_s)}{\partial t} + \frac{\partial W}{\partial t} \quad (25)$$

O primeiro termo do lado esquerdo desta equação representa a variação de umidade da fase gasosa e o segundo termo representa a variação da umidade da fase gasosa nas diferentes posições no eixo vertical devido à convecção. O primeiro



termo do lado direito representa a variação da umidade da fase sólida em relação à variação dos sólidos secos e o segundo termo representa água produzida pelo metabolismo do microrganismo.

Apesar da umidade na fase sólida estar calculada, foi necessário atualizar a cada iteração a umidade da fase gasosa ( $\phi_g$ ) que era utilizada tanto no balanço global de energia quanto no balanço global de água. Para isto foi estimada a atividade da água da fase gasosa através de curvas de isotermas de sorção dos substratos e considerando o equilíbrio entre a fase gasosa e sólida.

$$a_w = a_{ws} = \left\{ 1 - \exp\left[-\phi_s^{(C_3+C_4T)} \exp(C_1 + C_2T)\right] \right\}^{\frac{1}{C_5}} \quad (26)$$

Os elementos  $C_n$  da equação são constantes cujos valores foram determinados pelo ajuste da curva de isotermas de sorção com os dados experimentais em diferentes temperaturas.

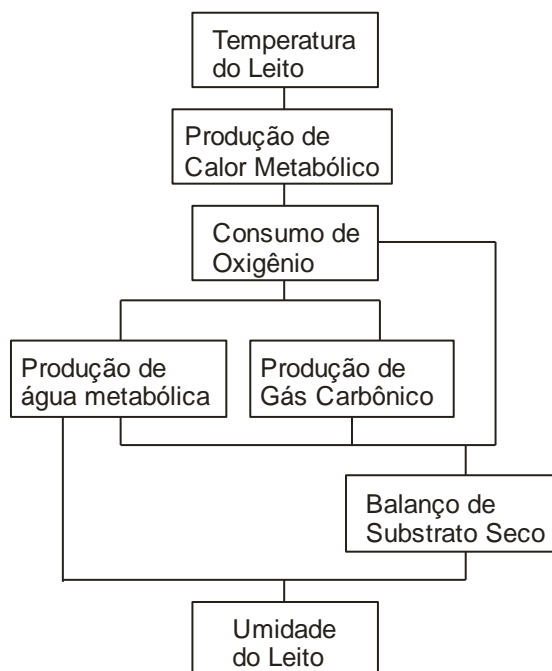
A umidade da fase gasosa foi estimada pela equação

$$\phi_g = \frac{a_w P_w^{sat} 0,62413}{P - a_w P_w^{sat}} \quad (27)$$

onde  $P_w^{sat}$  é a pressão parcial de saturação da fase gasosa e foi calculada pela equação de Antoine (REID et al., 1977).

Um biorreator piloto foi utilizado para o cultivo de *Rhizopus oryzae* em soja ou trigo moído. Os experimentos foram realizados para coleta dos valores da temperatura e para comparação entre os valores da umidade do leito medidos experimentalmente e os calculados pelo modelo de inferência. O leito possuía aproximadamente 130 kg de substrato úmido e altura de 35 cm para passagem do ar.

O primeiro experimento utilizou a soja como substrato e os valores estimados pelo modelo obtiveram um fator de correlação de 0,86 com os dados experimentais. No segundo experimento com soja, foi necessário adicionar água durante o evento de agitação. Após este evento, a umidade estimada apresentou desvios significativos em relação aos dados experimentais.



FLUXOGRAMA 4 - UNIDADES BÁSICAS PARA O CÁLCULO DA UMIDADE DO LEITO SEGUNDO MODELO DE BARGA, 2007.  
 FONTE: BARGA, 2007

No terceiro e quarto experimentos foi usado trigo moído como substrato. No terceiro experimento o fator de correlação antes da agitação foi de 0,56 e após a agitação ocorreram novos desvios, sendo que a umidade estimada pelo modelo foi muito inferior à umidade obtida experimentalmente. No último experimento, as estimativas da umidade foram superiores às do terceiro, mas novamente ocorreram desvios após a agitação.

Os desvios encontrados foram possivelmente causados pela compactação do leito, pela gelatinização do amido quando foi usado trigo moído (que reduzia a porosidade) e pelas alterações nas propriedades do leito, principalmente na isoterma de sorção que é alterada com o crescimento do microrganismo (MARQUES et al., 2006).

### 2.5.5 Avaliação geral dos modelos de inferência

Nagel et al., (2000); Peña y Lillo et al., (2001) e Khanahmadi et al., (2006) propuseram modelos de leito homogêneo e estimavam a umidade média do leito. Em biorreatores constantemente agitados o leito pode ser considerado homogêneo, entretanto em biorreatores de leito fixo, que apresentam as melhores condições para o crescimento dos fungos filamentosos, os gradientes em função da altura do leito são significativos e necessitam ser considerados. Por isto, Barga (2007) considerou a heterogeneidade do leito e estimou a umidade da fase sólida a partir de leituras da temperatura em diferentes alturas do leito.

Porém, no modelo de Barga (2007) era pressuposto o equilíbrio entre a fase gasosa e a fase sólida e esta condição não pode ser sempre considerada. Existem dados da literatura que demonstram que as duas fases não estão em equilíbrio quando o ar entra abaixo do ponto de saturação para favorecer a evaporação em um leito estático (BARSTOW et al., 1988; RYOO et al., 1991) e também na região próxima da entrada do ar (VON MEIEN; MITCHELL, 2002), mesmo quando o ar entra próximo da saturação.

Portanto, existe a necessidade de desenvolver um modelo de inferência que trate as partículas do substrato e o ar como fases separadas e calcule o processo de transferência de massa da água e de energia entre elas para a estimativa da umidade do leito.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MICRORGANISMO

A cepa do fungo *Aspergillus oryzae* INCQS40068, origem ATCC 1003 e lote 069540068, gentilmente cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), foi utilizada nos cultivos em laboratório e no biorreator de escala piloto.

##### 3.1.1 Reativação da cepa

A cepa foi recebida na forma liofilizada dentro de uma ampola de vidro, a hidratação foi realizada em câmara de fluxo laminar conforme orientação da Fiocruz. Primeiramente, o frasco foi limpo com álcool 70% e, após a evaporação do álcool, a região do lacre foi aquecida na chama de bico de Bunsen. Adicionou-se sobre a parte aquecida algumas gotas de solução salina estéril (NaCl 0,85%) para que o rompimento ocorresse por choque térmico e então foi adicionado 0,5 ml de caldo de cultivo Batata Dextrose Ágar (BDA), (Acumedia), para a hidratação do liofilizado. A solução foi homogeneizada por inversão e transferida para duas placas de Petri com o mesmo meio de cultivo endurecido. Estas placas foram mantidas em estufa de cultivo a 30°C por três dias e então foram realizados cinco repiques a cada três dias, sob as mesmas condições de cultivo, para a reativação da cepa.

##### 3.1.2 Conservação da cepa

O microrganismo foi mantido no laboratório através de repiques trimestrais em placas de Petri e através da conservação em óleo mineral. Nos dois casos, o microrganismo foi cultivado sobre o meio BDA, sendo que, para a conservação em óleo, foi utilizado tubo de ensaio com o meio inclinado.

Após cinco dias de cultivo a 30°C, tempo necessário para a produção de esporos, as placas foram fechadas com filme de cloreto de polivinila (PVC) e conservadas em geladeira por três meses, enquanto que no tubo de ensaio foi adicionado óleo mineral estéril até cobrir completamente o microrganismo. Este tubo

também foi fechado com filme de PVC, mas foi conservado em geladeira por prazo indeterminado.

### 3.2 PRODUÇÃO DE ESPOROS PARA O CULTIVO EM BIORREATOR

A cada cultivo em biorreator, era necessária a produção de seis a dez litros de inóculo fresco. Para que a solução de esporos tivesse o volume e a concentração de esporos desejada, foi elaborado um procedimento de aumento de escala que iniciou com o cultivo em placas de Petri e terminou com a produção em frascos de erlenmeyer.

#### 3.2.1 Produção de esporos em placa de Petri

O microrganismo foi inoculado em placas de Petri sobre o meio BDA e mantido durante cinco dias a 30°C em estufa de cultivo. Depois deste período, foram adicionados 5,0 ml de solução de água esterilizada com 0,05% (v/v) de Tween 80 sobre o meio de cultivo. Com o auxílio de uma alça de platina, a superfície foi raspada para a extração dos esporos e a solução resultante foi transferida para um tubo de ensaio estéril, de onde uma amostra foi retirada para a contagem dos esporos.

Após a determinação do número de esporos, a solução foi corrigida com água destilada para gerar um inóculo com concentração de  $10^6$  esporos.ml<sup>-1</sup> (BARGA, 2007).

#### 3.2.2 Contagem de esporos

A contagem dos esporos foi realizada em câmara de Neubauer com microscópio óptico. Para facilitar a visualização dos esporos, as amostras foram diluídas de 10 até  $10^6$  vezes em água destilada.

Na diluição adequada, todos os esporos presentes nos 16 quadrículos de leitura da câmara foram contados. O número de esporos contados lido e o fator de

diluição foram inseridos na equação abaixo para determinar o número de esporos por mililitro da solução original.

$$\frac{\text{número de esporos}}{\text{ml}} = \frac{\text{número de esporos contados}}{10^{-4}\text{ml}} * \text{fator de diluição} \quad (28)$$

### 3.2.3 Produção de esporos sobre arroz

A produção de inóculo em maior quantidade foi realizada com o cultivo do fungo sobre grãos de arroz. Estas sementes foram selecionadas como fonte de nutrientes devido ao baixo custo, quando comparado com os meios de cultivo comerciais, e por existirem relatos da produção de esporos de *A. oryzae* (LOTONG, 1983) e de *Rhizopus oryzae* (BARGA, 2007) com estes grãos.

#### 3.2.3.1 Quantidade de água para produção de esporos

Com este experimento buscou-se determinar a quantidade de água a ser adicionada sobre grãos de arroz antes do cultivo para a maior produção de esporos.

Em frascos de erlenmeyer de 500 ml foram adicionados 50 g de arroz tipo 1 parbolizado (Urbano) e um volume de água destilada conforme apresentado na TABELA 1. Os recipientes foram tampados e ficaram em repouso por 12 horas para então serem esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos. Após o resfriamento dos frascos, o arroz foi inoculado com 5,0 ml da solução de esporos na concentração de  $10^6$  esporos.ml<sup>-1</sup> e mantidos em estufa de cultivo por cinco dias a 30°C.

Depois do período de incubação, adicionou-se 100 ml de água estéril dentro de cada frasco e estes foram agitados vigorosamente para a extração dos esporos. A concentração resultante de cada experimento, realizado em triplicata, foi contada em câmara de Neubauer.

TABELA 1 – EXPERIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE ÁGUA A SER ADICIONADA SOBRE O ARROZ PARA A MELHOR PRODUÇÃO DE ESPOROS

FRASCO	ARROZ (g)	ÁGUA DESTILADA (ml)	INÓCULO (ml)
10	50	00	05
20	50	05	05
30	50	10	05
40	50	15	05
50	50	20	05
60	50	25	05

### 3.3 SUBSTRATO

O preparo do substrato para cultivo em biorreator foi semelhante ao utilizado para a produção de *koji* para molho de soja (WILLIAMS, 1980). Pesaram-se massas iguais de farelo de trigo (Güth) e de soja orgânica descascada e bipartida (Jasmine). Metade da massa de soja foi tostada durante uma hora em forno convencional a 200°C, enquanto que a outra metade foi imersa em excesso de água destilada por 24 horas. O excesso de água da soja imersa foi desprezado e a soja acondicionada em sacos de plástico duplos para a esterilização, assim como a soja tostada e o farelo de trigo. A esterilização ocorreu em autoclave a 121°C por 40 minutos e, após o resfriamento, as massas de soja e de farelo de trigo foram misturadas.

#### 3.3.1 Densidade do substrato

Em uma proveta de 100 ml foram adicionados 50 ml de água destilada e em seguida 15 g de substrato. A proveta foi movimentada sobre a mesa, fazendo o formato do número oito, durante três minutos para a eliminação do ar e por fim o volume total da água com o substrato foi medido e anotado. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados inseridos na equação abaixo para determinar a densidade substrato.

$$\text{densidade} = \frac{\text{massa do substrato (kg)}}{\text{Volume da água com o substrato (m}^3\text{)} - \text{volume de água sem o substrato (m}^3\text{)}} \quad (29)$$

### 3.3.2 Porosidade do leito

A porosidade é um termo adimensional e representa o volume de espaço vazio por volume do leito. Para a determinação deste parâmetro, adicionou-se numa proveta de 100 ml (proveta A) substrato até o volume de 50 ml e em outra proveta idêntica (proveta B), 100 ml de água destilada. Água da proveta B foi transferida para proveta A até completar o volume graduado da proveta A. O volume de água resultante na proveta B, que representa a o volume ocupado pelo substrato sem os poros, foi medido e inserido na equação (30).

Antes de realizar a leitura do volume da proveta B, a proveta A foi agitada por inversão e depois mantida em repouso por 60 minutos, para verificar se ocorria redução do volume da proveta A por perda de ar. O experimento foi realizado três vezes.

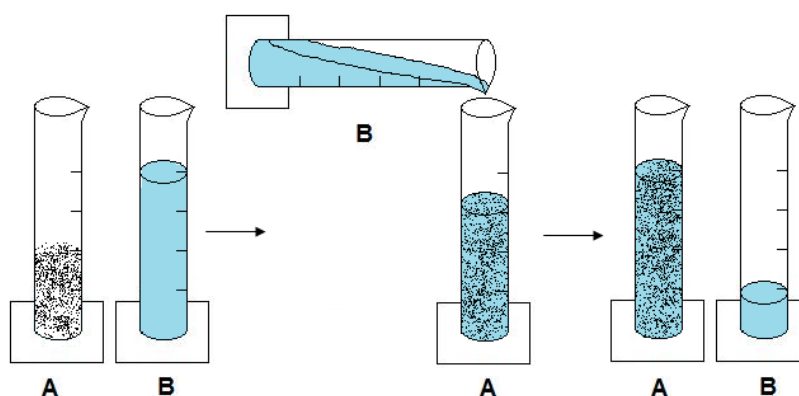


FIGURA 3 – SEQÜÊNCIA DA TRANSFERÊNCIA DE ÁGUA PARA DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE

$$\text{Porosidade} = \frac{\text{volume inicial na proveta A (volume do leito)} - \text{volume restante na proveta B}}{\text{volume inicial na proveta A (volume do leito)}} \quad (30)$$

### 3.3.3 Correção da umidade do leito

No substrato recém preparado buscou-se determinar a quantidade de água a ser adicionada para que a umidade final da mistura ficasse próxima de 30% (kg água/kg sólido seco) em base seca, valor considerado ideal para o cultivo de *A. oryzae* (LOTONG, 1983). Foi preparado o substrato estéril com 50 g de soja e



50 g de farelo de trigo e a umidade de uma amostra foi determinada em balança semi-analítica com infravermelho a 105°C por 60 minutos. Água foi adicionada de modo não padronizado e a umidade novamente determinada. O processo foi repetido até chegar à umidade desejada. O volume de água adicionado na massa inicial de substrato foi extrapolado para determinar a quantidade de água necessária para o cultivo no biorreator.

### 3.3.4 Determinação dos coeficientes de transferência de massa e calor

Os coeficientes foram estimados a partir de dados experimentais de secagem do substrato em camada delgada.

#### 3.3.4.1 *Secagem do leito em camada delgada*

Substrato sem inóculo foi pesado em balança semi-analítica e colocado para secar dentro de estufa aerada, cujo valor é medido e controlado pela estufa. A temperatura superficial do sólido foi medida através de termômetro de infravermelho digital enquanto que as temperaturas de bulbo seco e bulbo úmido do ambiente foram medidas com termômetro de mercúrio.

A cada 10 minutos, a aeração da estufa foi desligada e todas as medidas citadas foram realizadas novamente. Primeiramente a temperatura interna da estufa, seguido da temperatura superficial do substrato e do peso do substrato. Por fim, a aeração da estufa foi ligada novamente e foram anotados os valores da temperatura de bulbo seco e bulbo úmido do ambiente. Este processo foi repetido durante duas horas para os dois experimentos realizados, sendo um a 30 e outro a 40°C.

Ao término, a massa final do substrato foi pesada e transferida para placa de Petri de massa seca conhecida. Esta placa com substrato foi levada para estufa a 105°C por 24 h para posterior pesagem e determinação da umidade do leito em base seca.

Para aproximar o experimento das condições do biorreator, foi desenvolvido no laboratório um equipamento que servia de suporte e favorecia a passagem do ar pelo interior do substrato.

Os materiais usados na elaboração do equipamento foram: dois tubos de PVC branco de quatro polegadas, conexão para o mesmo tubo, tela galvanizada e ventoinha de computador com capacidade de ser ligada diretamente na rede elétrica. A parte superior do sistema era removível e possuía tela fixa na porção inferior onde era acomodado o substrato e na porção superior era encaixada uma tela para evitar que partículas fossem arrastadas junto com o ar. Na parte inferior do equipamento foi fixada a ventoinha que direcionava o ar aquecido do interior da estufa para o substrato (FIGURA 4).

Quando a amostra era colocada na parte superior do equipamento, buscava-se preencher todo o diâmetro do tubo com a menor quantidade possível de substrato.

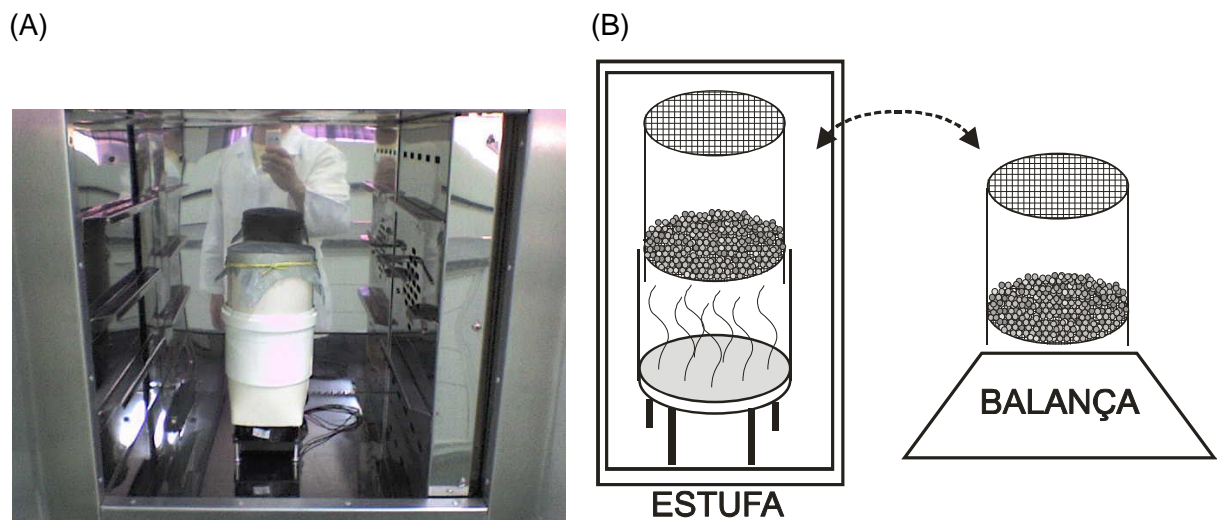


FIGURA 4 – EQUIPAMENTO UTILIZADO NA SECAGEM DO SUBSTRATO EM CAMADA DELGADA. (A) Fotografia do equipamento completo dentro da estufa; (B) Esquema do equipamento completo e da parte superior sendo pesada.

#### 3.3.4.2 Determinação da velocidade mássica e da umidade absoluta da fase gasosa

Com um anemômetro de fio quente, foi medida a velocidade de saída do tubo com a ventoinha. As medidas foram realizadas perto das paredes e no centro do tubo. Os valores médios de cada ponto foram inseridos em um gráfico do perfil da velocidade do ar e uma equação em função do diâmetro foi ajustada utilizando o software Microsoft® Office Excel (Microsoft). A velocidade média do ar no tubo foi calculada pela equação abaixo.

$$\bar{v} = \frac{1}{D} \int_0^D v(x) dx \quad (31)$$

A velocidade mássica foi obtida através da multiplicação da velocidade média (equação (31)) com a densidade do ar.

Na determinação da umidade absoluta da fase gasosa foram utilizados os valores de temperatura de bulbo seco e de bulbo úmido em carta psicrométrica. Foi considerado que a umidade absoluta do ar no interior da estufa permaneceu constante e igual à umidade absoluta do laboratório onde foi realizado o ensaio.

#### 3.3.4.3 Cálculos dos coeficientes

Calçada (1998) apresentaram um sistema de equações diferenciais parciais para a modelagem do processo de secagem em leitos porosos. Pasa et al. (2002) empregaram estas equações no desenvolvimento de um modelo que calculava os perfis de temperatura e umidade de uma secadora de erva-mate. O programa na linguagem computacional FORTRAN de Pasa et al. (2002) foi associado com o método de otimização Simplex (SPENDLEY et al., 1962) para estimar os coeficientes de transferência de massa e calor dos experimentos de secagem em camada delgada. No programa, foram alterados os parâmetros e as condições iniciais para os dados do experimento analisado.

No método Simplex, a equação (32) foi utilizada como função objetivo a ser minimizada. Diversos valores, variando de 10000 até 80000 J.s<sup>-1</sup>.m<sup>-3</sup>.K<sup>-1</sup> para o coeficiente de transferência de calor e de 0,1 até 1,0 kg.s<sup>-1</sup>m<sup>-3</sup> para o coeficiente de transferência de massa, foram utilizados como estimativas iniciais. Desta forma buscou-se favorecer a busca pelo mínimo global.

$$f = \frac{\left[ \sum_1^n \left( \frac{\text{Calc}(T) - \text{exp}(T)}{\text{exp}(T)} \right) \right] * \left[ \sum_1^n \left( \frac{\text{Calc}(y) - \text{exp}(y)}{\text{exp}(y)} \right) \right]}{n^2} - \frac{\sum_1^n \left[ \left( \frac{\text{Calc}(T) - \text{exp}(T)}{\text{exp}(T)} \right) * \left( \frac{\text{Calc}(y) - \text{exp}(y)}{\text{exp}(y)} \right) \right]}{n^2} \quad (32)$$

onde,

n = número de pontos experimentais

calc (T) = o valor calculado pelo modelo da temperatura da fase sólida

exp (T) = o valor da temperatura da fase sólida medido durante os experimentos

calc (y) = o valor calculado pelo modelo da umidade da fase sólida

exp (y) = o valor da umidade da fase sólida medido durante os experimentos

### 3.4 INSTALAÇÃO DO ANALISADOR DE GASES

O consumo de oxigênio e a produção de gás carbônico foram medidos durante o cultivo no biorreator. Para esta finalidade, foi adquirido pelo grupo de pesquisa um analisador (New Brunswick Scientific) com capacidade de leitura para o oxigênio de 0% até 25% através de sensor eletroquímico e para o gás carbônico de 0% até 5% por infravermelho não dispersivo (FIGURA 5).

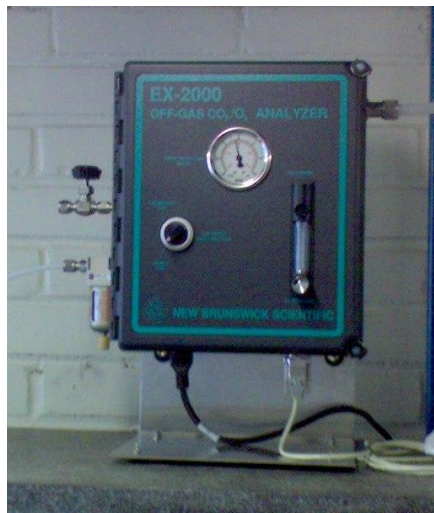


FIGURA 5 – FOTOGRAFIA DO SENSOR DE OXIGÊNIO E GÁS CARBÔNICO

### 3.4.1 Instalação física

Segundo o fabricante, a amostra do ar deve entrar no equipamento com umidade relativa inferior a 95% e não pode sofrer condensação. Além disto, a vazão de alimentação deve estar entre 0,5 e 1,0 litro por minuto.

Para reduzir a umidade da amostra, o ar passou por duas etapas (FIGURA 6). Na primeira, a tubulação de amostragem que sai do biorreator e os frascos de erlenmeyer serviram de aparatos no caminho para provocar a contenção das gotículas de água arrastadas pelo ar. Na segunda, o ar passou no interior de uma coluna de vidro com 35 cm de altura de 06 cm de diâmetro, contendo sílica gel azul 4/8mm P.A. (Synth) e cloreto de cálcio em escamas (Farmanil Quima), para reduzir a umidade. A sílica foi colocada na entrada e saída da coluna para indicar o momento de substituição de acordo com mudança da cor azul para a rosa, enquanto que o cloreto de cálcio atuou na redução da umidade por ser altamente higroscópico.

A vazão foi regulada através de válvulas e monitorada por rotâmetro do analisador. A associação do ar soprado pelo biorreator e da bomba de sucção no interior do analisador foi suficiente para garantir a amostragem, apesar da perda de carga na coluna e tubulação.

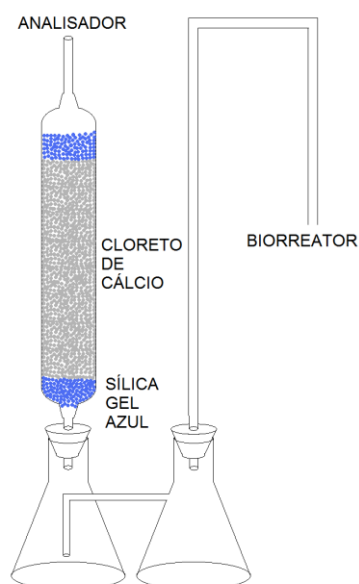


FIGURA 6 – ESQUEMA E FOTOGRAFIA DO SISTEMA DE SECAGEM DO AR PARA ANALISADOR DE GASES

### 3.4.2 Leitura dos resultados

As concentrações resultantes do ar analisado são fornecidas em saída analógica de 04-20 mA DC. O sinal de saída do equipamento foi conectado ao módulo 7017C (ICP-DAS) nos canais 05 (oxigênio) e 06 (gás carbônico) para que a passagem de dados para o microcomputador ocorresse em conjunto com os dados dos termopares através do módulo 7520 (ICP-DAS).

Os dados entraram no computador pela porta COM1 e foram lidos pelo software DCON Utility (ICP-DAS), capaz de detectar o endereço e canais de cada módulo. Através das bibliotecas (uart.dll e I700.dll), fornecidas pelo fabricante dos módulos, foi possível a passagem dos valores medidos para o software Labview 7.1 (National Instruments), o qual realiza a interface com o operador do biorreator e gera o arquivo de armazenamento das medidas dos sensores durante a fermentação.

A instalação dos módulos e softwares, e a programação inicial em Labview (Bio2fase) foram realizadas por Barga (2007). No presente trabalho, foram realizadas alterações que possibilitaram a aquisição dos dados do analisador de gases.

O software Labview utiliza uma linguagem de programação gráfica que utiliza instrumentos virtuais (semelhante a ícones) ao invés de linhas de texto. A interface com o usuário ocorre através de um conjunto de objetos que são instalados no painel frontal, no qual podem ser visualizados elementos de ações pré-definidas no diagrama de blocos. Alguns exemplos destes elementos são gráficos, displays e botões de liga e desliga. O diagrama de blocos é o local onde é inserida a rotina com o fluxo de dados passando por instrumentos virtuais de modo semelhante a um fluxograma.

No diagrama de blocos do programa Bio2fase, foram inseridos instrumentos virtuais com as equações (33) e (34), fornecidas pelo fabricante do analisador, que resultam nas concentrações dos gases a partir dos valores de corrente elétrica em miliampère (mA). Alterações foram realizadas também no painel frontal para a visualização numérica e gráfica dos resultados do analisador durante a fermentação.

$$\%CO_2 = (X \text{ mA} - 4) * 0,3125 \quad (33)$$

$$\%O_2 = (X \text{ mA} - 4) * 1,5625 \quad (34)$$

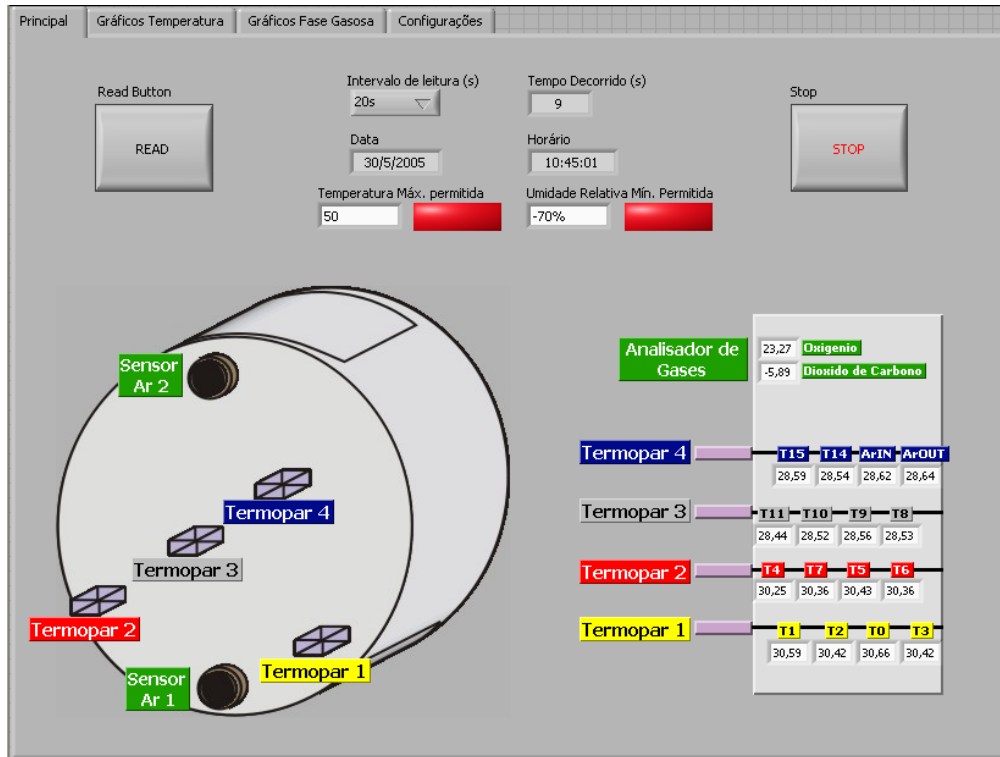


FIGURA 7 – PAINEL FRONTAL DO PROGRAMA BIO2FASE MODIFICADO PARA VISUALIZAÇÃO NUMÉRICA DOS RESULTADOS DA CONCENTRAÇÃO DOS GASES

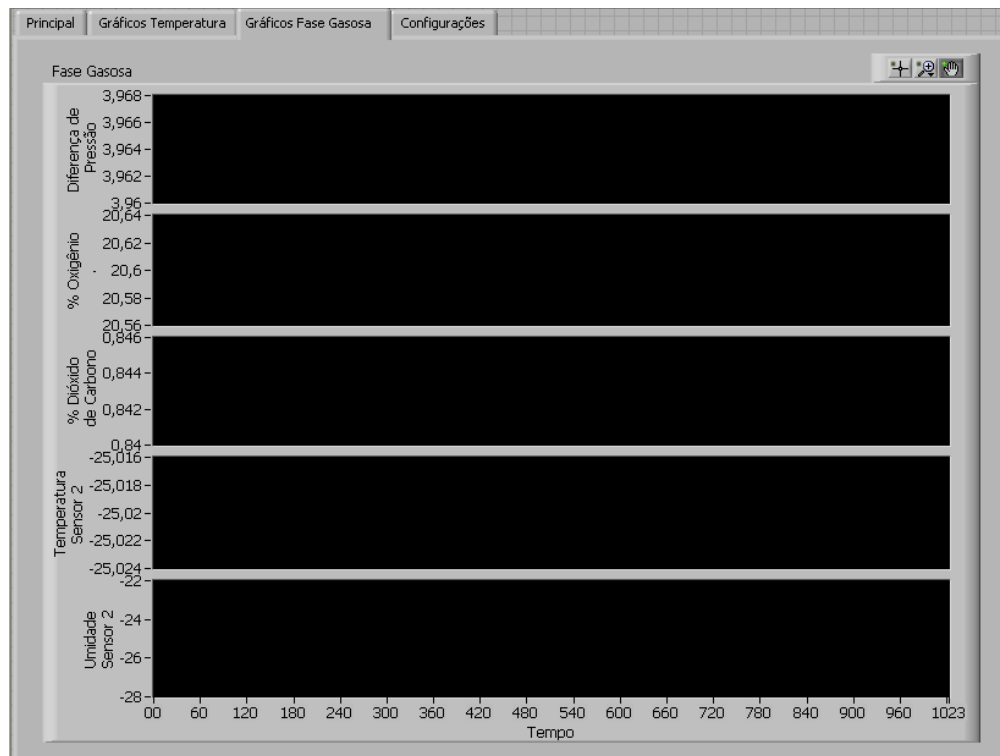


FIGURA 8 – PAINEL FRONTAL DO PROGRAMA BIO2FASE MODIFICADO PARA VISUALIZAÇÃO GRÁFICA DA VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS GASES EM FUNÇÃO DO TEMPO.

### 3.5 CULTIVO NO BIORREATOR

Foram realizados três experimentos no biorreator piloto, de cultivo do *A. oryzae* com a mistura de soja e farelo de trigo no biorreator piloto. Dados de temperatura, umidade e concentração de gases foram coletados durante os cultivos para serem utilizados no modelo de inferência da umidade da fase sólida.

#### 3.5.1 Descrição do biorreator e do sistema de aeração e umidificação

O biorreator utilizado para as fermentações é um cilindro de aço inox AISI 306, com 100 cm de diâmetro e 60 cm de altura. Nas laterais do cilindro existem vãos de modo que o espaço para o cultivo tenha formato de um retângulo, cuja base (70 × 60 cm) é perfurada para permitir a passagem forçada do ar do fundo para o topo do leito, conforme FIGURA 9. A altura do retângulo é de 50 cm.

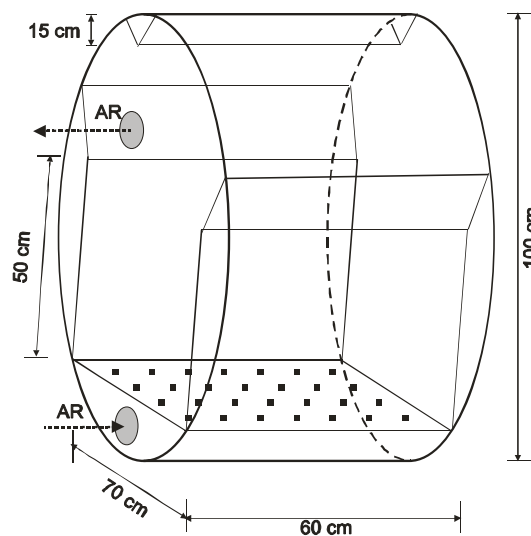


FIGURA 9 – REPRESENTAÇÃO DO BIORREATOR PILOTO

O leito pode permanecer estático ou pode ser agitado através da rotação do biorreator ao redor do seu próprio eixo, com auxílio de um motor de velocidade controlável.

A aeração é realizada através de um soprador que capta o ar do lado externo do laboratório e injeta para a tubulação usada pelo biorreator. O ar, com vazão controlada através de medidor de vazão e válvula (FIGURA 10), é filtrado por



um sistema de lã de vidro seguido de microfiltro pregueado com poros de 0,2  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

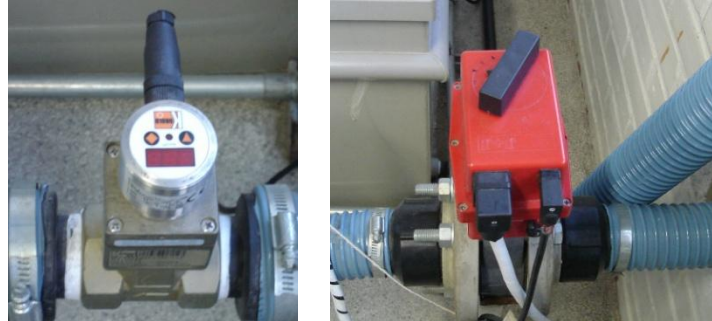


FIGURA 10 – FOTOGRAFIAS DO MEDIDOR DE VAZÃO E DA VÁLVULA PARA REGULAÇÃO DA VAZÃO DO AR DO SOPRADOR

Duas caixas de água de 1200L e uma torre de umidificação são utilizadas para corrigir a temperatura do ar e umidificá-lo. Uma das caixas é mantida na temperatura ótima de cultivo com aquecimento da água através de duas resistências de 1500 W e controlada por termostato, enquanto que a outra é mantida na temperatura ambiente (20-25°C). Conforme a necessidade do processo, a bomba de uma das caixas é acionada para transferir água para o topo da torre de umidificação, na qual o ar passar em contracorrente para as trocas de massa e energia (FIGURA 11).



FIGURA 11 – FOTOGRAFIAS DO SISTEMA DE UMIDIFICAÇÃO DO AR E DA LAVADORA DE GASES

O ar que sai da torre de umidificação, com umidade relativa aproximada de 99% e temperatura semelhante a da água da caixa com variação de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ , é direcionado para o fundo do biorreator. Após atravessar o leito e sair do biorreator, o ar é encaminhado para a lavadora de gases (FIGURA 11) que opera de modo semelhante à torre de umidificação, mas com o objetivo de impedir que o ar arrastasse para o meio ambiente microrganismos ou esporos da fermentação. Neste caso, ao invés de água pura é bombeada uma solução de água e hipoclorito de sódio 10% (v/v).

### 3.5.1.1 Esterilização do biorreator e limpeza do sistema de umidificação

Antes de adicionar o substrato da fermentação, o biorreator foi esterilizado por vapor fluente durante uma hora. O vapor foi gerado em autoclave e inserido no biorreator através de mangueira e conexão específica ao lado da abertura da saída de ar. Durante este procedimento, o biorreator foi invertido, mantendo a base perfurada de sustentação do substrato para cima e a válvula de remoção da água do fundo do biorreator, que estava para cima, permaneceu aberta para a saída do vapor (FIGURA 12).

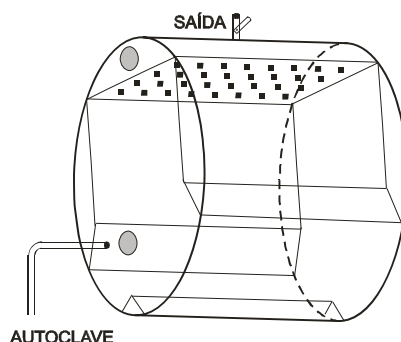


FIGURA 12 – LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE ENTRADA E SAÍDA DO VAPOR PARA ESTERILIZAÇÃO DO BIORREATOR PILOTO

O sistema de umidificação foi higienizado cinco dias antes do início do experimento. As caixas de água foram limpas com detergente neutro e, após o enxágüe, foram adicionados 5 litros de hipoclorito de sódio em 1000 litros de água. As bombas das caixas foram acionadas para a homogeneização da solução por 5 minutos e em seguida foram abertas as válvulas da torre de umidificação por uma hora para a circulação da solução.

### 3.5.1.2 Condições operacionais das fermentações

Em todos os cultivos o biorreator permaneceu estático com aeração forçada e agitação intermitente. O momento das agitações foi determinado para o restabelecimento da porosidade após 24h de cultivo consecutivo ou para redução da temperatura quando qualquer termopar indicava 40°C ou mais. Durante os períodos de agitação, água foi adicionada para restabelecer a umidade do leite.

As resistências da caixa de água 1 foram ligadas com dois dias de antecedência do início das fermentações para elevar e manter a temperatura da água a 30°C.

### 3.5.2 Produção do inóculo

A produção de esporos iniciou 10 dias antes da data prevista para o cultivo no biorreator. O microrganismo foi cultivado em três placas de Petri, conforme descrito no item 3.2.1

Em 25 frascos erlenmeyer de 500 ml foram adicionados 50g de arroz, 10 ml de água destilada e 5 ml de inóculo com concentração de  $10^6$  esporos.ml<sup>-1</sup>. Os frascos foram cultivados a 30°C por cinco dias.

Para a coleta de esporos, que ocorreu no mesmo dia do início da fermentação, foram adicionados 100 ml de água destilada para cada frasco, seguido de vigorosa agitação. As soluções resultantes foram misturadas em dois frascos de erlenmeyer de 2 litros e de cada frasco foi retirada uma amostra para contagem dos esporos.

### 3.5.3 Calibração dos instrumentos

Antes de cada fermentação foi realizada a calibração dos sensores de temperatura e do analisador de gases.

### 3.5.3.1 Calibração dos termopares

O biorreator possui na região do leito 16 termopares do tipo T e mais um termopar na entrada e outro na saída de ar. Os sensores de temperatura foram dispostos de modo a medir os gradientes no sentido axial e radial (FIGURA 13).

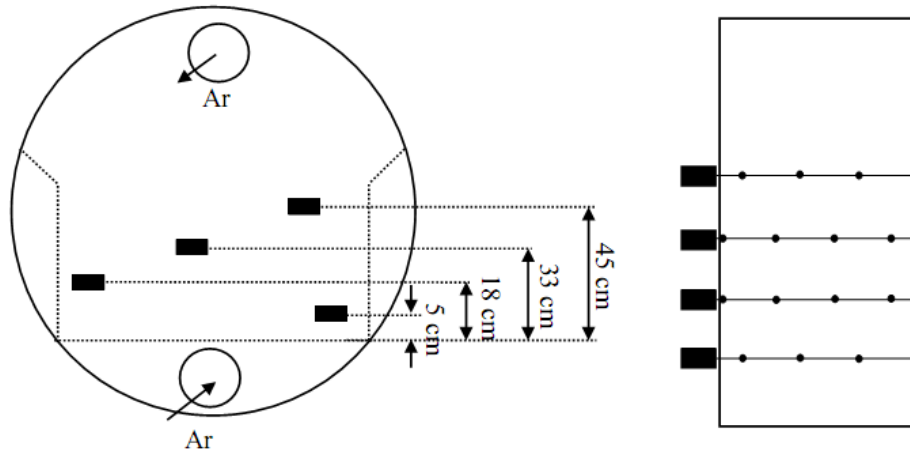


FIGURA 13 – DISPOSIÇÃO DOS TERMOPARES DENTRO DO BIORREATOR NO SENTIDO AXIAL E RADIAL  
 FONTE: BARGA, 2007

No procedimento de calibração, os módulos de transmissão dos dados foram ligados com 30 minutos de antecedência para o equilíbrio dos componentes. Em seguida, o biorreator foi preenchido com água e a temperatura verificada com termômetro de mercúrio. O valor lido foi comparado com o apresentado pelo programa Bio2fase e quando os valores eram distintos foi alterado o campo do desvio até que a temperatura ficasse igual à lida pelo termômetro (FIGURA 14). O procedimento foi repetido duas vezes para água em diferentes temperaturas.

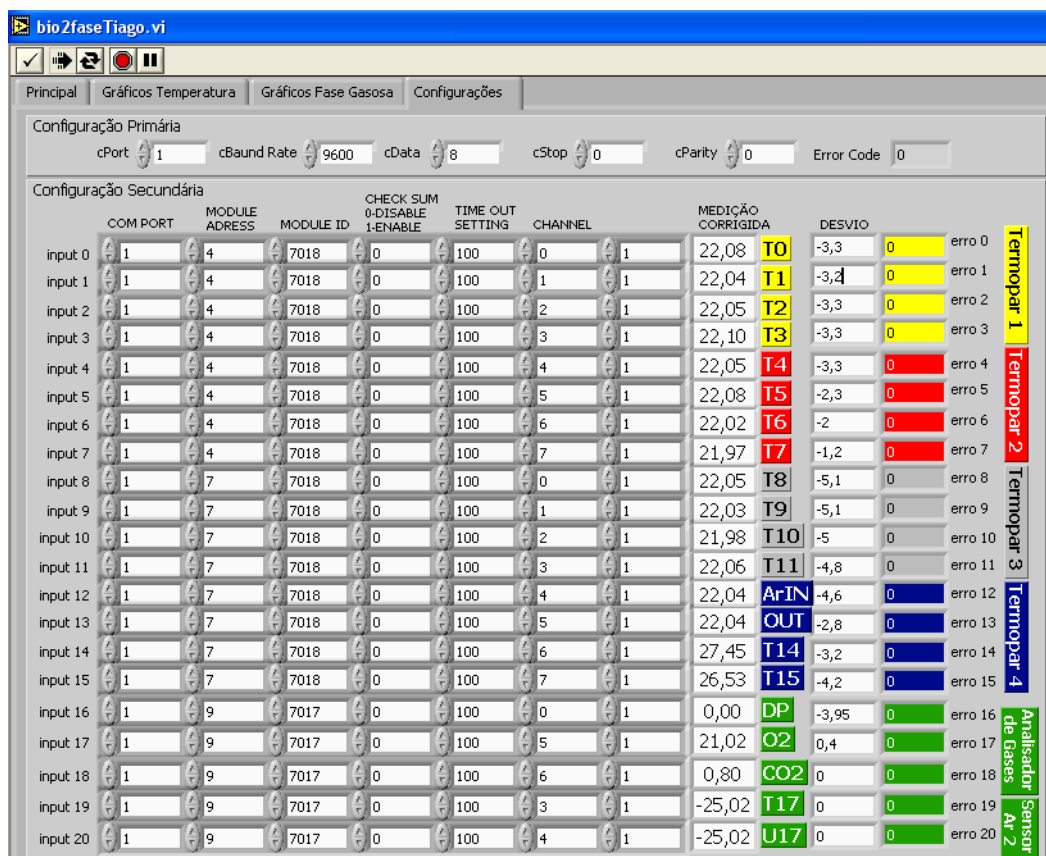


FIGURA 14 – TELA DE CONFIGURAÇÃO DE ENDEREÇOS E DE CALIBRAÇÃO DOS SENSORES DO PROGRAMA BIO2FASE.

### 3.5.3.2 Calibração do analisador de gases

Segundo o manual do fabricante, a calibração do oxigênio pode ocorrer com ar atmosférico (20,9%), enquanto que para a calibração do gás carbônico deve ser utilizado cilindro com concentração entre 3 e 4% e balanço com nitrogênio.

O equipamento foi ligado 30 minutos antes da calibração com vazão entre 0,5 e 1,0 litros por minuto para o equilíbrio dos componentes do analisador e dos módulos de transmissão dos dados. Após este período, foi verificado se a medida apresentada no programa Bio2fase era igual ao valor do gás analisado. Caso fosse diferente, a porta frontal do analisador era aberta, o potenciômetro do gás analisado era destravado e ajustado para a concentração correta. Ao término o potenciômetro era novamente travado e a porta do equipamento fechada.

Para a primeira fermentação, os dois gases foram calibrados com ar atmosférico considerando 1% de concentração para o gás carbônico e 20,9% para o oxigênio. Na segunda, cilindro com gás carbônico a 3% foi utilizado e o oxigênio foi

novamente calibrado com ar atmosférico. Para a última fermentação não foi realizada nova calibração, pois o fabricante recomenda a repetição do procedimento a cada quatro meses.

#### 3.5.4 Preparo do substrato e inoculação

Diferentes quantidades de substrato foram utilizadas nos experimentos.

TABELA 2 – MASSA ADICIONADA DE CADA INGREDIENTE NOS DIFERENTES EXPERIMENTOS PARA O PREPARO DO SUBSTRATO

Experimento	Soja tostada (kg)	Soja úmida (kg)	Farelo de Trigo (kg)	Inóculo + água (L)
1	25	25	50	10
2	15	15	30	06
3	15	15	30	06

A massa de cada componente na TABELA 2 refere-se à quantidade antes de tostar ou umidificar a soja conforme apresentado na seção 3.3. A soja foi tostada dois dias antes do início do experimento enquanto que a outra porção de soja foi imersa em água destilada um dia antes. As massas de soja e farelo de trigo foram colocadas separadamente em sacos de plástico duplos e esterilizadas em autoclave a 121°C por 40min, no mesmo dia da fermentação.

Após o resfriamento, até aproximadamente 30°C, cada ingrediente do substrato foi dividido visualmente em três partes. Uma parte de cada ingrediente foi transferida para o biorreator e sobre eles foi adicionado um terço do inóculo diluído em água destilada suficiente para que a umidade final do leito ficasse próxima de 30% em base seca. O biorreator foi rotado 20 vezes para a homogeneização e aberto novamente para adicionar mais uma camada de substrato e inóculo diluído. Este procedimento foi repetido até que todo o substrato estivesse inoculado dentro do biorreator.

Na inoculação, a solução de esporos foi transferida diretamente do erlenmeyer para o substrato, tomando cuidado para espalhar sobre toda a superfície do substrato. Não foi utilizado pulverizador para evitar a formação de aerossóis e reduzir a disseminação de esporos pelo laboratório.

Na primeira fermentação, o soprador foi mantido desligado durante as primeiras 12 horas para favorecer a adaptação do microrganismo ao sistema (WILLIAMS, 1980) e em seguida ligado com vazão entre 100 e 105  $\text{m}^3.\text{h}^{-1}$ . Nas demais fermentações, o soprador foi ligado desde o término da homogeneização, com vazão entre 80 e 85  $\text{m}^3.\text{h}^{-1}$ .

### 3.5.5 Amostragens e determinação da umidade do leito

A cada seis horas de fermentação foram coletadas nove amostras em pontos distintos do leito. Para esta finalidade foi utilizado um equipamento composto por um tubo de PVC e uma peça metálica com a extremidade semelhante a um parafuso, que possibilitava a amostragem em diferentes alturas.

Foram selecionados três locais de amostragem superficial que seguiram o padrão de repetição apresentado na FIGURA 15 e para cada ponto foram retiradas amostras em profundidades coincidentes com as alturas dos três termopares no interior do leito (05, 18 e 33 cm) de acordo com marcas feitas no tubo externo do equipamento de coleta (FIGURA 16).

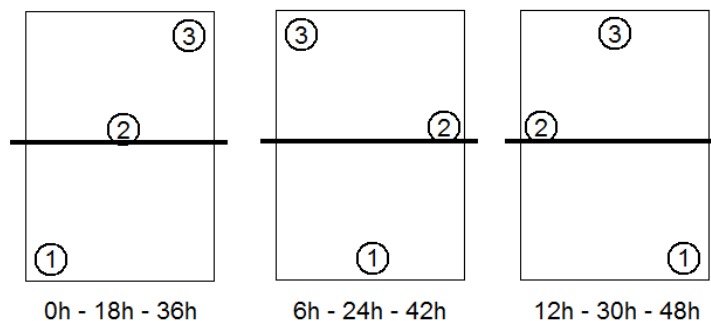


FIGURA 15 – DESENHO DA VISÃO SUPERFICIAL DO LEITO NO INTERIOR DO BIORREATOR INDICANDO OS TRÊS LOCAIS DE COLETA A CADA 6 HORAS.

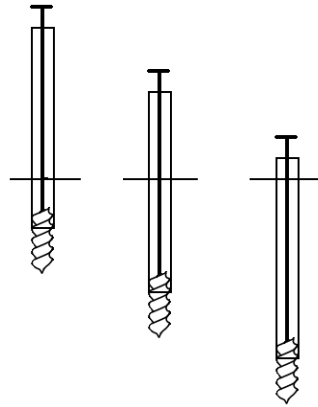


FIGURA 16 – EQUIPAMENTO UTILIZADO PARA A AMOSTRAGEM DO LEITO EM DIFERENTES ALTURAS DURANTE A FERMENTAÇÃO

As amostras foram transferidas para placas de Petri limpas, numeradas e previamente pesadas. As placas com as amostras foram pesadas em balança semi-analítica e colocadas para secagem em estufa aerada a 60°C por 12h e, em seguida, foram transferidas para dissecador por mais 6h. Após o período de secagem, a amostra foi novamente pesada para a determinação da umidade em base seca.



#### 4 DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE INFERÊNCIA

Desenvolveu-se um modelo para inferir as variações da umidade da fase sólida a partir das variações da temperatura da fase gasosa em biorreatores de aeração forçada e agitação intermitente. Neste modelo, foi considerada a heterogeneidade do leito no sentido axial e as transferências de massa e calor entre a fase gasosa e sólida.

A montagem do programa do modelo de inferência iniciou a partir de um programa preditivo de secagem desenvolvido por Pasa et al. (2002). Este programa foi inicialmente modificado para resolver as equações diferenciais conforme a necessidade do modelo de inferência. Na seqüência, as equações de secagem foram substituídas pelas equações de um modelo preditivo de fermentação no estado sólido (VON MEIEN; MITCHELL, 2002). Os resultados fornecidos por este último programa foram utilizados na elaboração e na verificação dos cálculos do modelo de inferência. Por fim, o modelo de inferência foi testado com os dados coletados durante as fermentações no biorreator piloto.

No modelo de Pasa et al. (2002) foi utilizado um sistema de equações apresentado por Calçada (1998) para modelagem do processo de secagem em leitos porosos. No modelo de Von Meien e Mitchell (2002) este mesmo sistema de equações foi utilizado, mas foram adicionados termos e equações relativos ao crescimento de microrganismos. Devido à similaridade das equações, somente no modelo de Von Meien e Mitchell (2002) os termos das equações serão apresentados em detalhes, enquanto que no modelo de Pasa et al. (2002) serão apresentadas apenas as equações diferenciais, para facilitar a explicação da mudança de cálculo realizada.

Para não interromper a seqüência dos passos realizados e do fluxo dos cálculos, os significados dos símbolos das equações e as respectivas unidades estão apresentados no QUADRO 3.

Símbolo	Descrição	Unidade
$z$	Altura do leito	m
$t$	Tempo	s
$\varphi_g$	Umidade da fase gasosa	kg-água.kg-ar-seco <sup>-1</sup>
$\varphi_s$	Umidade da fase sólida em base seca	kg-água.kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>
$T_g$	Temperatura da fase gasosa	°C
$T_s$	Temperatura da fase sólida	°C
$S$	Concentração volumétrica dos sólidos secos totais	kg-sólidos-secos.m <sup>-3</sup>
$b$	Concentração de biomassa	kg-biomassa. kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>
$a_{ws}$	Atividade da água na fase sólida	adimensional
$a_{wg}$	Atividade da água na fase gasosa	adimensional
$\varphi_s^*$	Umidade que a fase sólida teria se estivesse em equilíbrio térmico e de umidade com a fase gasosa	kg-água.kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>
$\mu$	Velocidade de crescimento específica	s <sup>-1</sup>
$\mu_w$	Fração da velocidade de crescimento específica em função da umidade relativa da fase sólida	s <sup>-1</sup>
$\mu_T$	Fração da velocidade de crescimento específica em função da temperatura da fase sólida	s <sup>-1</sup>
$\mu_{opt}$	Velocidade de crescimento específica ótima	s <sup>-1</sup>
$G$	Fluxo mássico de ar	Kg-ar-seco.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup>
$H$	Altura do leito	m
$C_{p_{ar}}$	Capacidade calorífica do gás seco	J.kg <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup>
$C_{p_v}$	Capacidade calorífica do vapor da água	J.kg <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup>
$P$	Pressão da fase gasosa	Pa
$P_w^{sat}$	Pressão de saturação do vapor da fase gasosa	Pa
$\rho_g$	Massa específica do ar seco	kg-ar-seco.m <sup>-3</sup>
$C_{p_s}$	Capacidade calorífica do sólido seco	J.kg <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup>
$C_{p_l}$	Capacidade calorífica da água líquida	J.kg <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup>
$\rho_s$	Massa específica do sólido	kg-sólido.m <sup>-3</sup>
$\varepsilon$	Porosidade	adimensional
$\lambda$	Entalpia de evaporação da água	J.kg-água
$E_{A1}$ e $E_{A2}$	Energias de ativação	J.mol <sup>-1</sup>
$b_m$	Concentração máxima possível de biomassa	kg-biomassa. kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>
$Y_{W/B}$	Coeficiente de rendimento de produção de água metabólica em função da biomassa	kg-água.kg-biomassa <sup>-1</sup>
$Y_{Q/B}$	Coeficiente de rendimento de produção de calor metabólico em função da biomassa	J.kg-biomassa <sup>-1</sup>
$Y_{S/B}$	Coeficiente de rendimento dos sólidos secos em função da biomassa	kg-sólidos-secos. kg-biomassa <sup>-1</sup>
$Y_{Q/O_2}$	Coeficiente de rendimento do calor metabólico em função do oxigênio	J.mol-O <sub>2</sub>
$Y_{CO_2/O_2}$	Coeficiente de rendimento do gás carbônico em função do oxigênio	mol-CO <sub>2</sub> .mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>
$Y_{W/O_2}$	Coeficiente de rendimento de água metabólica em função do oxigênio	mol-H <sub>2</sub> O.mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>
$Q_m$	Calor metabólico gerado	J.m <sup>-3</sup>
$GO_2$	Consumo molar de gás oxigênio	mol-O <sub>2</sub> .m <sup>-3</sup>
$GCO_2$	Produção mássica do gás carbônico	kg-CO <sub>2</sub> .m <sup>-3</sup>

continua

conclusão

W	Produção mássica de água metabólica	kg-H <sub>2</sub> O.m <sup>-3</sup>
ha	Coefficiente volumétrico efetivo de transferência de calor	J.s <sup>-1</sup> .m <sup>-3</sup> .°C <sup>-1</sup>
K <sub>s</sub> a	Coefficiente volumétrico efetivo de transferência de massa	kg-sólido.s <sup>-1</sup> .m <sup>-3</sup>
MCO <sub>2</sub>	Massa molar do gás carbônico	kg.mol <sup>-1</sup>
MH <sub>2</sub> O	Massa molar da água	kg.mol-H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>
MO <sub>2</sub>	Massa molar do gás oxigênio	kg.mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>
R	Constante Universal dos gases	J.mol <sup>-1</sup> .°C <sup>-1</sup>

QUADRO 3 - LISTA DOS SIMBOLOS UTILIZADOS NOS MODELOS PREDITIVOS E DE INFERÊNCIA

FONTES: PASA et al., 2002 e VON MEIEN; MITCHELL, 2002

#### 4.1 MODELO PREDITIVO DE SECAGEM

Calçada (1998) apresentaram um sistema de equações para modelagem do processo de secagem de leitos porosos. Este modelo foi utilizado por Pasa et al. (2002) para avaliar o desempenho de secadores de erva-mate a leito fluidizado através de um programa na linguagem computacional FORTRAN.

O modelo consiste em equações diferenciais parciais de balanços de massa da água e de energia na fase gasosa e sólida. Este sistema de equações foi discretizado parcialmente pelo método das linhas, originando o sistema de equações diferenciais abaixo para ser resolvido numericamente.

$$G \cdot \frac{\partial \varphi_g}{\partial z} = K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) \quad (35)$$

$$G(Cp_{ar} + \varphi_g \cdot Cp_v) \frac{\partial T_g}{\partial z} = -ha(T_g - T_s) - \frac{Cp_v}{2} K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) (T_g - T_s) \quad (36)$$

$$(1 - \varepsilon) \rho_s \frac{\partial \varphi_s}{\partial t} = -K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) \quad (37)$$

$$(1 - \varepsilon) \rho_s (Cp_s + Cp_l \cdot \varphi_s) \frac{\partial T_s}{\partial t} = ha(T_g - T_s) - K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) \lambda \quad (38)$$

As equações (35) a (38) representam o balanço de massa da fase gasosa, o balanço de energia da fase gasosa, o balanço de massa da fase sólida e o balanço de energia da fase sólida, respectivamente. Convém reforçar que as equações apresentadas foram obtidas após a manipulação das equações originais para o

emprego do método das linhas. As equações originais serão discutidas com maiores detalhes junto com o modelo preditivo de Von Meien e Mitchell (2002).

O lado direito da equação (36) foi simplificado para a equação (39), pois estudos preliminares demonstraram que a energia cedida pelo gás para aquecer o vapor liberado pelo leito durante a secagem (último termo) é muito inferior ao calor consumido para o aquecimento dos sólidos (penúltimo termo).

$$G(Cp_{ar} + \varphi_g Cp_v) \frac{\partial T_g}{\partial z} = -ha(T_g - T_s) \quad (39)$$

Antes de realizar a solução numérica, uma série de equações de propriedades físico-químicas e de transferência de massa e calor foi associada a este sistema de equações diferenciais. Foram calculadas as capacidades caloríficas do vapor da água ( $cp_v$ ) e do ar seco ( $cp_{ar}$ ), os coeficientes volumétricos efetivos de transferência de calor ( $ha$ ) e de massa ( $K_{sa}$ ), e a umidade de equilíbrio ( $\varphi_s^*$ ).

As condições iniciais de cálculo foram: as temperaturas ( $T_{g0}$  e  $T_{s0}$ ) e as umidades ( $\varphi_{s0}$  e  $\varphi_{g0}$ ) das duas fases e a concentração volumétrica dos sólidos secos totais ( $S_0$ ). As condições de contorno foram: a temperatura e a umidade da fase gasosa ( $T_g$  e  $\varphi_g$ ), que permaneceram constantes na base do leito durante todo o processo de secagem.

O programa original de Pasa et al. (2002) foi programado para integrar primeiro as equações para todo o tempo de secagem em uma determinada altura do leito. Depois de concluir este ciclo, o programa dava um passo na altura do leito e calculava novamente todas as equações até o último segundo da secagem. Este procedimento de cálculo é correto para um modelo preditivo, entretanto o modelo de inferência necessita que primeiro sejam resolvidas as equações no sentido axial, conforme são coletados os dados pelos sensores no decorrer da fermentação. Por isto, o programa original foi modificado para solucionar primeiro as equações do espaço e depois ao longo do tempo.

A Figura 17 apresenta os passos dos cálculos segundo um diagrama com o tempo ( $t$ ) e a posição axial ( $z$ ) discretizados para resolução numérica das equações diferenciais. Inicialmente, as equações das propriedades físico-químicas e de transporte de massa e calor são calculadas com os dados iniciais do ponto  $z=0$  e  $t=0$ . Com estes resultados, as equações da fase gasosa são resolvidas e fornecem

os resultados para o ponto  $z=1$  e  $t=0$ , com um passo no espaço (Figura 17 - C). Na seqüência, os valores conhecidos do ponto  $z=0$  e  $t=0$  são empregados nos cálculos das equações da fase sólida, que fornecem resultados para o ponto  $z=0$  e  $t=1$ , com um passo no tempo (Figura 17 - D).

Ao concluir os cálculos da fase gasosa o programa avança um passo na altura do leito, ou seja, calcula as equações das propriedades físico-químicas e de transporte de massa e calor do ponto  $z=1$  e  $t=0$ . Em seguida, resolve as equações da fase gasosa para  $z=2$  e  $t=0$  (Figura 17 - E) e as equações da fase sólida para  $z=1$  e  $t=1$  (Figura 17 - F). Este ciclo se repete até o final do sentido axial (altura do leito), quando aumenta um passo no tempo da secagem e todo o processo inicia novamente (Figura 17 - G e H).

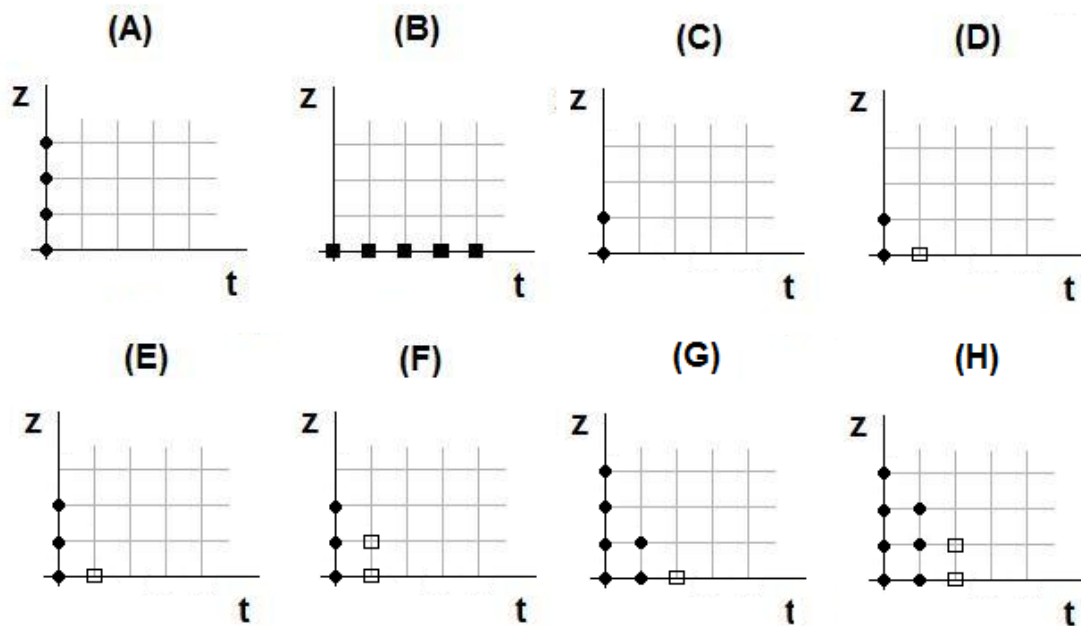


Figura 17 – SEQUENCIA DE CÁLCULOS PARA O MODELO PREDITIVO DE SECAGEM MODIFICADO. (A) Condições iniciais; (B) Condições de contorno; (C) Primeiro passo no sentido axial das variáveis na fase gasosa; (D) Primeiro passo no tempo das variáveis na fase sólida; (E) Segundo passo no sentido axial; (F) Primeiro passo no tempo para o segundo passo no sentido axial; (G) Segundo passo no tempo para o primeiro passo no sentido axial; (H) Segundo passo no tempo para o segundo passo no sentido axial. • todas as variáveis são conhecidas; □ somente  $T_s$  e  $\phi_s$  são conhecidas; ■ somente  $T_g$  e  $\phi_g$  são conhecidas.

Pasa et al. (2002) utilizaram o método de Runge-Kutta de 4ª ordem para solucionar as equações em função do tempo e o método das diferenças finitas para as equações em função da altura do leito. No programa modificado o método de

Runge-Kutta de 4ª ordem foi utilizado para solucionar todas as equações diferenciais.

Devido à disponibilidade de dados, os perfis de umidade e temperatura da secagem do milho, obtidos experimentalmente por Calçada (1998), foram comparados com as simulações da secagem com o programa modificado e com o programa original para validar as alterações realizadas.

## 4.2 MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

O modelo de Von Meien e Mitchell (2002) foi elaborado para o crescimento de *Aspergillus niger* sobre milho em um biorreator de leito fixo e aeração forçada. Neste modelo preditivo da FES, as equações de balanço de massa e energia para secagem de leitos porosos foram modificadas para adequar ao processo fermentativo. Foram adicionadas equações para o consumo de substrato, para a produção de biomassa e velocidades específicas de crescimento. As equações deste modelo substituíram as equações do programa do modelo preditivo de secagem em que a ordem de integração foi modificada, proveniente da seção 4.1.

### 4.2.1 Balanço de massa para a água na fase gasosa

A equação do balanço de massa para a fase gasosa é a seguinte:

$$\varepsilon \cdot \rho_g \frac{\partial \varphi_g}{\partial t} + G \cdot \frac{\partial \varphi_g}{\partial z} = K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) \quad (40)$$

O primeiro termo do lado esquerdo representa a mudança no conteúdo de água em função do tempo  $t$  (s), enquanto que o segundo termo representa o fluxo convectivo de água na corrente de ar. No lado direito da equação está representada a transferência de massa entre as fases gasosa e sólida. A transferência de massa ocorre de acordo com a diferença entre a umidade real da fase sólida ( $\varphi_s$ ) e a umidade que ela teria se estivesse em equilíbrio térmico e de umidade com a fase gasosa ( $\varphi_s^*$ ).

#### 4.2.2 Balanço de energia da fase gasosa

O balanço de energia da fase gasosa é calculado da seguinte forma:

$$\varepsilon \cdot \rho_g (C_{p_{ar}} + \varphi_g \cdot C_{p_v}) \frac{\partial T_g}{\partial t} + G (C_{p_{ar}} + \varphi_g \cdot C_{p_v}) \frac{\partial T_g}{\partial z} = -ha(T_g - T_s) \quad (41)$$

O primeiro termo do lado esquerdo representa a mudança da quantidade de energia da fase gasosa, em termos das mudanças na temperatura, enquanto que o segundo termo representa o fluxo de energia devido à convecção do ar seco e do vapor da água. A capacidade calorífica da fase gasosa úmida é composta pelas capacidades caloríficas do gás seco ( $C_{p_{ar}}$ ) e do vapor da água ( $C_{p_v}$ ), além da umidade da fase gasosa ( $\varphi_g$ ). O termo do lado direito é a transferência de energia por convecção entre a fase gasosa e a fase sólida.

#### 4.2.3 Balanço de massa para a água na fase sólida

A variação na umidade da fase sólida é influenciada pela transferência entre as fases gasosa e sólida e pela produção de água metabólica durante o crescimento do microrganismo. Estes dois componentes estão representados na equação do balanço de massa para a água na fase sólida a seguir.

$$\frac{\partial(S \cdot \varphi_s)}{\partial t} = -K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) + Y_{W/B} \frac{\partial(bS)}{\partial t} \quad (42)$$

A variação na quantidade de água na fase sólida está representada no lado esquerdo da equação. A produção de água pelo microrganismo é calculada pelo coeficiente de rendimento de produção de água metabólica em função do crescimento do microrganismo ( $Y_{W/B}$ ) e pela variação da concentração volumétrica de biomassa. A concentração volumétrica de biomassa é calculada pela multiplicação entre a concentração de biomassa ( $b$ ) e a concentração volumétrica de sólidos secos ( $S$ ).

Na concentração volumétrica de sólidos secos ( $S$ ) são consideradas as massas secas de biomassa e substrato. Como existe produção de biomassa e

consumo de substrato, este termo não permanece constante, diferentemente do que ocorria com o modelo de secagem. Pela mesma razão, a concentração volumétrica de biomassa também varia e necessita ser derivada em função do tempo.

Depois de aplicar a regra do produto nos termos derivativos e rearranjá-los, a equação ficou com a seguinte forma

$$\frac{\partial \varphi_s}{\partial t} = \frac{1}{S} \left[ -K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) + Y_{W/B} \left( S \frac{\partial b}{\partial t} + b \frac{\partial S}{\partial t} \right) - \varphi_s \frac{\partial S}{\partial t} \right] \quad (43)$$

#### 4.2.4 Balanço de energia da fase sólida

Durante o crescimento do microrganismo ocorre produção de calor metabólico, que aquece o substrato. O substrato aquecido transfere energia para a fase gasosa por convecção e para a água líquida que evapora.

$$S(Cp_s + Cp_l \cdot \varphi_s) \frac{\partial T_s}{\partial t} = ha(T_g - T_s) - \lambda \cdot K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) + Y_{Q/B} \left( S \frac{\partial b}{\partial t} + b \frac{\partial S}{\partial t} \right) \quad (44)$$

Os termos do lado direito da igualdade representam a convecção para a fase gasosa, a evaporação da água e a produção de calor metabólico, respectivamente. Do lado esquerdo da equação está representada a variação de energia na fase sólida, considerando que a capacidade calorífica do leito permanece igual ao do substrato seco ao longo da fermentação, apesar do aumento de biomassa.

#### 4.2.5 Produção de Biomassa

Neste modelo, o crescimento da biomassa ocorre de acordo com a equação logística abaixo.

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu \cdot b \left( 1 - \frac{b}{b_m} \right) \quad (45)$$

A velocidade de produção de biomassa é maior quanto menor a razão entre a concentração de biomassa ( $b$ ) e a concentração máxima de biomassa ( $b_m$ ). No cálculo da velocidade específica de crescimento ( $\mu$ ) foram assumidos os efeitos da



temperatura e da umidade como frações do crescimento máximo, quando todas as condições de cultivo são ótimas ( $\mu_{opt}$ ). Desta forma, a fração da velocidade específica de crescimento em função da atividade da água para a fase sólida ( $a_{ws}$ ) é dada por

$$\mu_W = \exp(D_1 \cdot a_{ws}^3 + D_2 \cdot a_{ws}^2 + D_3 \cdot a_{ws} + D_4) \quad (46)$$

sendo que  $D_1, D_2, D_3, D_4$  são constantes do ajuste aos dados experimentais do crescimento de *Aspergillus niger* (GLENN E ROGERS, 1988). A fração da velocidade específica de crescimento em função da temperatura da fase sólida é calculada por

$$\mu_T = \frac{1}{\mu_{opt}} \cdot \frac{A \cdot \exp\left[\frac{-E_{A1}}{R \cdot (T_s + 273)}\right]}{1 + B \cdot \exp\left[\frac{-E_{A2}}{R \cdot (T_s + 273)}\right]} \quad (47)$$

onde, A é o fator de frequência do numerador, B é a constante de ajuste do denominador e  $E_{A1}$  e  $E_{A2}$  as energias de ativação (SAUCEDO-CASTANEDA et al., 1990).

Então, a velocidade específica de crescimento em um determinado instante é calculada por (SARGANTANIS et al., 1993):

$$\mu = \mu_{opt} \sqrt{\mu_W \cdot \mu_T} \quad (48)$$

#### 4.2.6 Balanço de sólidos secos

No cálculo dos sólidos secos estão inclusos a biomassa e o substrato seco conforme equação abaixo.

$$\frac{\partial S}{\partial t} = Y_{S/B} \frac{\partial (bS)}{\partial t} \quad (49)$$

Durante o crescimento de microrganismos a massa seca total é reduzida, pois uma parte do substrato é removida do sistema na forma de gás carbônico. Por

isto, o coeficiente de rendimento dos sólidos secos em função da biomassa ( $Y_{S/B}$ ), que representa a variação de substrato seco mais biomassa seca por quilograma de biomassa produzida, é um número negativo.

#### 4.2.7 Isoterma do milho e Umidade relativa da fase sólida

A equação da isoterma do milho é utilizada para calcular o conteúdo de água que a fase sólida teria se estivesse em equilíbrio térmico e de umidade com a fase gasosa. Por este motivo, na equação (49) é utilizada a temperatura da fase gasosa e não a temperatura da fase sólida.

$$\varphi_s^* = \left[ \frac{\ln(1 - a_{wg}^{C_5})}{-\exp(C_1 + C_2 \cdot T_g)} \right]^{\frac{1}{(C_3 + C_4 \cdot T_g)}} \quad (50)$$

Utilizou-se uma equação empírica da isoterma do milho (CALÇADA, 1998), onde os termos  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$  e  $C_5$  são constantes de ajuste da equação. Foi assumido que, apesar do crescimento de biomassa, a isoterma permanece idêntica a do milho no decorrer do tempo.

Quando a equação foi rearranjada para deixar explícito o termo da umidade relativa, foi calculado o valor da atividade da água na fase sólida.

$$a_{ws} = \left\{ 1 - \exp\left[-\varphi_s^{(C_3 + C_4 \cdot T_s)} \cdot \exp(C_1 + C_2 \cdot T_s)\right] \right\}^{\frac{1}{C_5}} \quad (51)$$

Neste caso, foi utilizada a temperatura atual do sólido ao invés da temperatura da fase gasosa, como ocorreu na isoterma.

#### 4.2.8 Atividade da água na fase gasosa

A atividade da água é dada pela pressão atual de vapor da água dividida pela pressão de vapor da saturação a uma determinada temperatura

$$a_{wg} = \frac{\varphi_g \cdot P}{P_w^{\text{sat}} (\varphi_g + 0,62413)} \quad (52)$$

A pressão parcial de saturação é derivada da equação de Antoine (REID et al. 1977):

$$P_w^{\text{sat}} = 133,322e^{\left(18,3036 - \frac{3816,44}{T_g + 273,15 - 46,13}\right)} \quad (53)$$

#### 4.2.9 Coeficiente de Transferência de massa

O coeficiente para a transferência de massa de água entre as fases sólida e gasosa foi calculado como uma função da temperatura do gás e da quantidade de água na fase sólida, através da equação empírica desenvolvida para a secagem do milho (MANCINI, 1996)

$$K_s a = [a_1 + a_2 \cdot (T_g + 273)] \cdot \varphi_s - [a_3 + a_4 \cdot (T_g + 273)] \quad (54)$$

onde os termos  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$  e  $a_4$  são constantes de ajuste da equação.

#### 4.2.10 Coeficiente de Transferência de calor

O coeficiente para a transferência de calor convectivo entre a fase sólida e gasosa é calculada como uma função da temperatura da fase gasosa e do fluxo mássico de gás, utilizando a equação empírica desenvolvida para a secagem do milho (BOYCE, 1965 e CALADO, 1993)

$$ha = 44209,85 \left[ \frac{G(T_g + 273)}{0,0075 \cdot P} \right]^{0,6011} \quad (55)$$

#### 4.2.11 Resolução do sistema de equações

As condições iniciais de cálculo foram: as temperaturas ( $T_{g0}$  e  $T_{s0}$ ) e as umidades ( $\varphi_{s0}$  e  $\varphi_{g0}$ ) das duas fases, a concentração volumétrica dos sólidos secos totais ( $S_0$ ) e a concentração de biomassa inicial ( $b_0$ ). As condições de contorno foram: a temperatura e a umidade da fase gasosa ( $T_g$  e  $\varphi_g$ ), que permaneceram constantes na base do leito durante todo o processo de secagem.

As equações diferenciais parciais foram discretizadas pelo método das linhas e as equações diferenciais resultantes foram resolvidas numericamente seguindo o mesmo procedimento do programa de secagem modificado, apresentado na seção 4.1. O método de Runge-Kutta de 4ª ordem foi empregado para solucionar as equações tanto no sentido axial como ao longo do tempo. Os resultados obtidos foram comparados com os perfis do programa desenvolvido por Von Meien e Mitchell (2002) que solucionava as equações, discretizadas pela técnica de diferenças finitas, através da rotina DASSL (PETZOLD et al., 1989).

O programa elaborado nesta seção, que aplica o método das linhas e resolve as equações diferenciais de modo explícito, recebeu o nome de MEIENMOD.

### 4.3 DESENVOLVIMENTO DO MODELO DE INFERÊNCIA

No desenvolvimento do programa que busca inferir a umidade da fase sólida a partir da temperatura da fase gasosa foi separado em três partes para que o resultado de cada uma fosse analisado em separado. Inicialmente foi montado um programa para filtrar os dados coletados pelos sensores. Depois, foi elaborado um programa para o ajuste de curva da temperatura da fase gasosa, de acordo com a posição dos termopares dentro do biorreator. Por último, foi montado o programa do modelo de inferência. Após a verificação de cada uma das etapas em separado, foi elaborado um único programa para testá-lo com os resultados da fermentação no biorreator piloto.

#### 4.3.1 Filtro de Dados

Os sensores do processo podem sofrer interferências externas que resultam em erros das medidas do processo. Como consequência, os dados incorretos podem interferir na operação, na análise dos dados para o desenvolvimento de modelos matemáticos e na supervisão do processo.

O processamento dos sinais de sensores auxilia a reduzir os erros relacionados com ruídos de alta e média frequência. Os primeiros estão associados com a limitação do instrumento de não reproduzir a leitura após uma série de medições independentes, mesmo se a variável medida permanecer constante ao longo do tempo, enquanto que os ruídos de média frequência estão relacionados com a heterogeneidade do processo (turbulência e pouca agitação). Os ruídos de baixa frequência, que são causados por perturbações no processo (condições ambientais, calor metabólico produzido, etc), podem ser minimizados pelo controle automático do processo (FERNÁNDEZ; PÉREZ-CORREA, 2006).

O programa elaborado por Barga (2007), que tratava os ruídos provenientes da medição de termopares do tipo T, foi utilizado como base para o desenvolvimento do programa que busca reduzir os ruídos, tanto dos termopares como do analisador de gases. O tratamento dos sinais foi efetuado por uma série de quatro filtros consecutivos.

##### *4.3.1.1 Filtro 1 – Eliminações de medições em um mesmo intervalo de amostragem*

O Labview é o programa utilizado para arquivar as leituras dos sensores durante a fermentação no biorreator piloto. As leituras ocorriam a cada 18 segundos da fermentação e o programa contava o tempo a cada 3,6 segundos (0,001 hora). Deste modo, as diferentes leituras que ocorriam dentro do intervalo de 3,6 segundos eram guardadas no arquivo como sendo no mesmo tempo. A filtro 1 tem por objetivo eliminar as múltiplas leituras em um mesmo intervalo de tempo, mantendo apenas a primeira leitura e desprezando os demais valores.

#### 4.3.1.2 Filtro 2 – Eliminação de Variações inferiores à sensibilidade do instrumento

Este filtro está baseado na precisão e sensibilidade do sensor. O objetivo é manter apenas as leituras que são consistentes com as características do equipamento, eliminando as leituras consecutivas com diferenças inferiores à precisão do instrumento.

Assim, para os termopares do tipo T, foram consideradas somente variações superiores a 0,5°C (BARGA, 2007) enquanto que para o analisador de gases, foram consideradas variações superiores a 1% da escala total para os dois gases, conforme orientação do manual de instruções.

#### 4.3.1.3 Filtro 3 – Filtro Exponencial

O filtro exponencial, também conhecido como filtro de passa baixa, elimina os ruídos de alta frequência. O filtro exponencial é baseado em uma equação diferencial de transferência de primeira ordem (SEBORG, 2004).

$$\tau_F \frac{dTg3(t)}{dt} + Tg3(t) = Tg2(t) \quad (56)$$

Tg2 é a variável resultante do segundo filtro, Tg3 é o valor filtrado e  $\tau_F$  é uma constante de tempo do filtro. Ao aplicar o método das diferenças finitas para frente com passo n na equação (56) e substituindo Tg3(t) por Tg3<sub>t+1</sub> e Tg2(t) por Tg2<sub>t+1</sub>, obtém-se:

$$Tg3_{t+1} = \frac{\Delta t}{\tau_F + \Delta t} Tg2_{t+1} + \frac{\tau_F}{\tau_F + \Delta t} Tg3_t \quad (57)$$

Definindo  $\alpha$ ,

$$\alpha = \frac{1}{\frac{\tau_F}{\Delta t} + 1} \quad (58)$$

resulta em,

$$Tg3_{t+1} = \alpha Tg2_{t+1} + (1-\alpha)Tg3_t \quad (59)$$

onde  $Tg2_{t+1}$  é o valor da variável resultante do segundo filtro e  $Tg3_{t+1}$  é o resultado do terceiro filtro. O valor de  $\tau_F$  utilizado neste filtro foi de 0,5 que gerava valores de ordem de grandeza de  $10^{-3}$  para  $\alpha$ .

#### 4.3.1.4 Filtro 4 – Média móvel

O quarto filtro é o cálculo da média aritmética de um número específico de resultados anteriores dando o mesmo peso para cada leitura dos dados anteriores.

$$\widetilde{Tg4}_t = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N Tg3_t \quad (60)$$

O símbolo N é o número de resultados anteriores que foram utilizados para o cálculo da média e  $Tg3_t$  o valor da variável resultante do terceiro filtro. Quinze leituras foram usadas no cálculo da média, sendo que o filtro não foi empregado para as quatorze primeiras leituras.

#### 4.3.2 Ajuste da curva para Temperatura da fase gasosa

O biorreator possui um número limitado de sensores no seu interior para realizar leituras da temperatura da fase gasosa. Entretanto, são necessários valores intermediários aos amostrados para empregar os métodos numéricos na resolução das equações do modelo de inferência. Para fornecer estes dados, uma curva foi ajustada a cada tempo de leitura.

Gráficos da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito para diferentes tempos de cultivo foram elaborados a partir dos resultados do programa MEIENMOD. Diversas equações, com dois coeficientes de ajuste, foram ajustadas aos resultados do programa através do software Grapher 7.0 (Golden Software). Os resultados das equações ajustadas foram comparados com os valores do programa MEIENMOD através do quadrado do coeficiente de correlação de Pearson ( $R^2$ ) (Eq.(61)) e do quadrado das diferenças entre os valores reais e os calculados

(Eq.(62)). As duas equações que apresentaram os melhores ajustes, de acordo com o maior valor de  $R^2$  e o menor valor da equação (62), foram selecionadas.

$$r^2 = \left[ \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2}\sqrt{\sum(y-\bar{y})^2}} \right]^2 \quad (61)$$

$$dif = \sum(x - y)^2 \quad (62)$$

Nestas equações,  $x$  representa o valor experimental,  $y$  o valor calculado no ajuste e os símbolos com a barra em cima representam a média aritmética dos valores calculados ou experimentais.

Um programa na linguagem computacional FORTRAN foi elaborado de modo a ajustar as duas equações selecionadas através do método de otimização SIMPLEX. Em seguida, o programa selecionava qual das curvas melhor se ajustou para aquele conjunto de dados a partir dos resultados de  $R^2$ . Quando o valor de  $R^2$  ficava inferior a 0,94 para as duas equações, o ajuste era realizado por retas entre os pontos amostrados.

A equação (62) foi utilizada como equação objetivo no método de otimização.

#### 4.3.3 Modelo de Inferência

As equações de Von Meien e Mitchell (2002) dos balanços de massa da água e de energia para as duas fases foram utilizadas no modelo de inferência. Estas equações foram discretizadas pelo método das linhas resultando em equações diferenciais da umidade e da energia da fase gasosa em função do espaço e em equações diferenciais da fase sólida em função do tempo.

A mesma seqüência de resolução usada no programa de secagem modificado (seção 4.1) e no programa MEIENMOD foi usada para resolver as equações diferenciais do modelo de inferência. Primeiro foram resolvidas as equações das propriedades físico-químicas e de transferência de massa e calor. Em seguida, foram resolvidas as equações diferenciais em função do espaço e por último, foram resolvidas as equações diferenciais em função do tempo. Na mesma



seqüência em que as equações foram resolvidas no programa, elas serão apresentadas a seguir.

#### *4.3.3.1 Considerações para o desenvolvimento do modelo*

Durante a elaboração das equações, algumas considerações foram realizadas para simplificar ou direcionar a montagem do modelo de inferência. Elas são:

- a) A geometria do leito permanece constante durante toda a fermentação;
- b) O ar entra próximo da saturação com umidade relativa de 99%;
- c) As transferências de massa e energia ocorrem apenas ao longo do eixo axial por onde o ar flui;
- d) A fase gasosa e a sólida podem não estão em equilíbrio;
- e) A porosidade permanece constante;
- f) Após os períodos de agitação a temperatura da fase gasosa está em equilíbrio com a da fase sólida, que é a média aritmética das temperaturas pré-agitação;
- g) A umidade da fase sólida após a agitação é uma média das umidades ao longo do eixo da altura. Quando foi adicionado água, o volume inserido foi considerado nos cálculos da umidade.

#### *4.3.3.2 Equações de propriedades físico-químicas e de transferência de massa e calor*

A maioria das equações desta etapa varia de acordo com o substrato utilizado. Quando o programa do modelo de inferência foi testado com resultados do programa MEIENMOD, foram utilizadas as mesmas equações do modelo preditivo (QUADRO 4).

EQUAÇÃO	NÚMERO
$ha = 44209,85 \left[ \frac{G(T_g + 273)}{0,0075 \cdot P} \right]^{0,6011}$	(55)
$p_w^{\text{sat}} = 133,322e^{\left(18,3036 - \frac{3816,44}{(T_g + 273,15 - 46,13)}\right)}$	(53)
$a_{wg} = \frac{\varphi_g \cdot P}{p_w^{\text{sat}} (\varphi_g + 0,62413)}$	(52)
$a_{ws} = \left\{ 1 - \exp\left[-\varphi_s^{(C_3 + C_4 \cdot T_s)} \cdot \exp(C_1 + C_2 \cdot T_s)\right] \right\}^{\frac{1}{C_5}}$	(51)
$\varphi_s^* = \left[ \frac{\ln(1 - a_{wg}^{C_5})}{-\exp(C_1 + C_2 \cdot T_g)} \right]^{\frac{1}{(C_3 + C_4 \cdot T_g)}}$	(50)
$K_s a = [a_1 + a_2 \cdot (T_g + 273)] \cdot \varphi_s - [a_3 + a_4 \cdot (T_g + 273)]$	(54)

QUADRO 4 - LISTA DE EQUAÇÕES UTILIZADAS NO MODELO DE INFERÊNCIA QUE FORAM PREVIAMENTE APRESENTADAS NO MODELO PREDITIVO.

Entretanto, quando o programa foi testado com os dados obtidos nas fermentações no biorreator piloto, foram empregados os valores obtidos experimentalmente para o substrato da fermentação. As exceções são as equações (52) e (53) que foram utilizadas em todos os testes, porque são relacionadas com a fase gasosa.

#### 4.3.3.3 Umidade da fase gasosa

Apesar de não fazer uso da temperatura da fase gasosa, que é o dado coletado no sistema experimental, o balanço de massa da água da fase gasosa é o primeiro valor a ser calculado devido à seqüência de cálculos do método das linhas.

O valor da umidade da fase gasosa calculado nesta etapa é a umidade com um passo na altura. O resultado é armazenado em uma matriz e será utilizado apenas no próximo ciclo iterativo.

Para este cálculo foi utilizada a equação (40).

$$\varepsilon \cdot \rho_g \frac{\partial \varphi_g}{\partial t} + G \cdot \frac{\partial \varphi_g}{\partial z} = K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) \quad (40)$$

Entretanto, após ser discretizada para empregar o método das linhas, esta equação ficou da seguinte forma:

$$\frac{\partial \varphi_g}{\partial z} = \frac{K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*)}{G} \quad (63)$$

Para a resolução numérica desta equação foi aplicado o método de Runge-Kutta de 4ª ordem.

#### 4.3.3.4 Temperatura da fase sólida

A temperatura da fase sólida foi calculada a partir do balanço de energia da fase gasosa, equação (41). Este foi o primeiro termo derivativo a empregar os dados experimentais da temperatura da fase gasosa.

$$\varepsilon \cdot \rho_g (C_{p_{ar}} + \varphi_g \cdot C_{p_v}) \frac{\partial T_g}{\partial t} + G (C_{p_{ar}} + \varphi_g \cdot C_{p_v}) \frac{\partial T_g}{\partial z} = -ha(T_g - T_s) \quad (41)$$

O valor da umidade da fase gasosa usado nesta equação foi o valor correspondente à posição no sentido axial em que está sendo realizado o ciclo iterativo. Após discretizar a equação e rearranjá-la para isolar o termo da temperatura da fase sólida, a equação ficou da seguinte forma:

$$T_s = \frac{G(C_{p_{ar}} + \varphi_g \cdot C_{p_v}) \frac{\partial T_g}{\partial z} + ha T_g}{ha} \quad (64)$$

O termo derivativo do numerador foi resolvido numericamente por diferenças finitas a partir de dois dados consecutivos da temperatura da fase gasosa em relação à altura do leito.

$$\frac{\partial T_g}{\partial z} = \frac{T_g(t, z+1) - T_g(t, z)}{\Delta z} \quad (65)$$

Os símbolos entre parênteses representam o tempo e a posição no sentido axial (t,z), ou seja,  $T_g(t, i+1)$  é a temperatura da fase gasosa em um tempo t na

posição no sentido axial  $z+1$ . O símbolo  $\Delta z$  é o passo de cálculo em relação à altura do leito.

#### 4.3.3.5 Calor metabólico

A equação (44) foi utilizada para determinar o calor metabólico produzido. A diferença apresentada na equação (66) é que o termo de produção do calor metabólico ( $Q_m$ ) não foi desdobrado.

$$S(Cp_s + Cp_l \cdot \varphi_s) \frac{\partial T_s}{\partial t} = ha(T_g - T_s) - \lambda \cdot K_s a(\varphi_s - \varphi_s^*) + \frac{\partial Q_m}{\partial t} \quad (66)$$

Ao isolar o último termo e aplicar diferenças finitas para o termo derivativo, a equação fica da seguinte forma:

$$\frac{\partial Q_m}{\partial t} = S(Cp_s + Cp_l \cdot \varphi_s) \frac{T_s(t,z) - T_s(t-1,z)}{\Delta t} - ha(T_g - T_s) + \lambda \cdot K_s a(\varphi_s - \varphi_s^*) \quad (67)$$

Este valor estimado da produção de calor metabólico é utilizado no cálculo do consumo de oxigênio, que por sua vez é empregado nos cálculos da produção de gás carbônico, produção de água metabólica e no consumo de substrato. Portanto, o calor metabólico é o ponto de partida para o cálculo de diversas variáveis importantes no modelo de inferência.

#### 4.3.3.6 Consumo de oxigênio

Durante o crescimento, os microrganismos degradam o substrato para utilizá-lo como fonte de energia conforme a seguinte equação de reação.



A oxidação do substrato é responsável pela geração de calor. Por isto, a velocidade de consumo de oxigênio pode ser associada ao calor liberado durante o processo. Desta forma é possível escrever a seguinte equação,

$$\frac{\partial GO_2}{\partial t} = \frac{1}{Y_{Q/O_2}} \cdot \frac{\partial Q_m}{\partial t} \quad (69)$$

O termo do lado esquerdo representa a velocidade de consumo molar de oxigênio, sendo que a variável de interesse ( $GO_2$ ) tem unidades de  $\text{mol-O}_2 \cdot \text{m}^{-3}$ .

A quantidade de energia liberada para o meio a partir da transferência de elétrons corresponde de 108,836 a 129,766  $\text{kJ} \cdot \text{mol} \cdot \text{elétron}^{-1}$ . Como o oxigênio aceita quatro elétrons nos processos respiratórios a quantidade total de energia liberada pode ser de 519  $\text{kJ} \cdot \text{mol-O}_2^{-1}$  (BAILEY E OLLIS, 1986). Portanto, este valor foi empregado como uma estimativa do coeficiente de rendimento do oxigênio em função do calor metabólico ( $Y_{Q/O_2}$ ).

#### 4.3.3.7 Produção de gás carbônico e de água metabólica

Considerando que as relações estequiométricas da equação da reação permanecem constantes durante todo o processo fermentativo, é possível estabelecer relações entre a produção de gás carbônico e a produção de água metabólica com o consumo molar de oxigênio.

Deste modo, a produção de gás carbônico em relação ao consumo molar de oxigênio pode ser expressa pela equação abaixo

$$\frac{\partial GCO_2}{\partial t} = -Y_{CO_2/O_2} \cdot \frac{\partial GO_2}{\partial t} \cdot MCO_2 \quad (70)$$

O termo do lado esquerdo representa a velocidade de consumo mássico de gás carbônico. O termo do lado direito contém o coeficiente de rendimento do gás carbônico em função do oxigênio ( $Y_{CO_2/O_2}$ ), a velocidade do consumo molar de oxigênio e a massa molar do gás carbônico ( $MCO_2$ ).

De modo semelhante, a produção de água metabólica pode ser expressa em relação ao consumo molar de oxigênio.

$$\frac{\partial W}{\partial t} = -Y_{W/O_2} \cdot \frac{\partial GO_2}{\partial t} \cdot MH_2O \quad (71)$$

O termo do lado esquerdo representa a velocidade de produção mássica de água metabólica. O termo do lado direito contém o coeficiente de rendimento da água metabólica em função do oxigênio ( $Y_{W/O_2}$ ), a velocidade do consumo molar de oxigênio e a massa molar da água ( $MH_2O$ ).

#### 4.3.3.8 Balanço dos sólidos secos

Nos sólidos secos é considerada a soma entre substrato seco e biomassa seca. De acordo com a equação da reação, a equação do balanço dos sólidos secos fica da seguinte forma:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = (-Y_{W/O_2} \cdot MH_2O - Y_{CO_2/O_2} \cdot MCO_2 + MO_2) \frac{\partial GO_2}{\partial t} \quad (72)$$

O termo do lado esquerdo representa a velocidade de produção mássica de sólidos secos. O primeiro termo do lado direito representa a conversão de massa seca em água metabólica durante o metabolismo, o segundo termo a perda de massa na forma de gás carbônico e o terceiro o ganho de massa devido à incorporação de gás oxigênio.

#### 4.3.3.9 Umidade da fase sólida

Os últimos cálculos forneceram a produção mássica de água metabólica ( $\partial W/\partial t$ ) e o consumo mássico de sólidos secos ( $\partial S/\partial t$ ). Estes dados, associados com a estimativa da água que evapora e da umidade no tempo anterior, possibilitam estimar variação da umidade da fase sólida.

$$\frac{\partial(S \cdot \varphi_s)}{\partial t} = -K_s a(\varphi_s - \varphi_s^*) + \frac{\partial W}{\partial t} \quad (73)$$

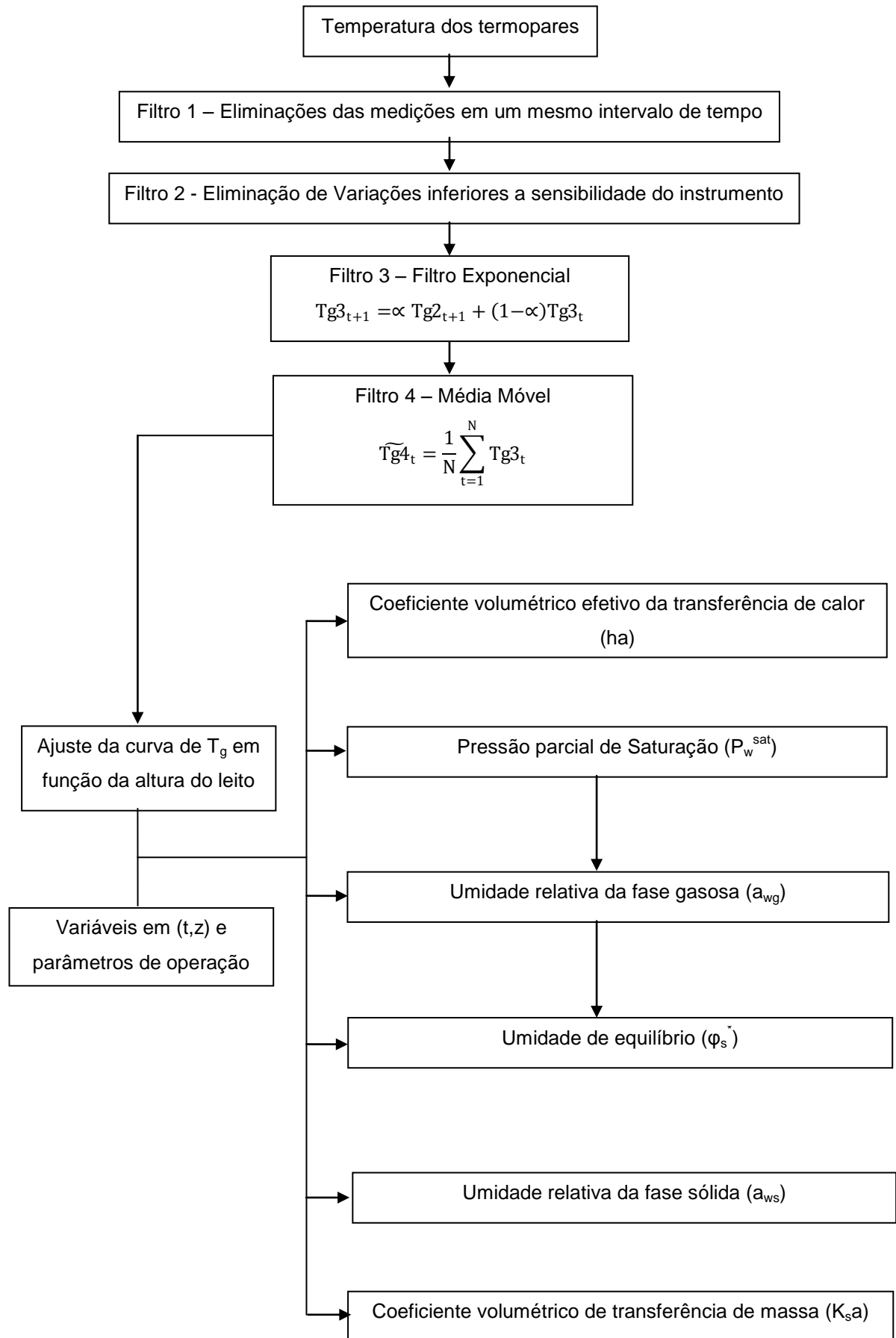
A equação (73) é semelhante à equação (42) do balanço de massa da água para a fase sólida. A diferença está no termo de produção de água metabólica ( $\partial W/\partial t$ ) que não foi desdobrado na equação (73).

Ao aplicar a regra do produto no termo do lado esquerdo da equação e isolar o termo da velocidade de variação da umidade da fase sólida encontra-se a seguinte equação:

$$\frac{\partial \varphi_s}{\partial t} = \frac{1}{S} \left[ -K_s a (\varphi_s - \varphi_s^*) + \frac{\partial W}{\partial t} - \varphi_s \frac{\partial S}{\partial t} \right] \quad (74)$$

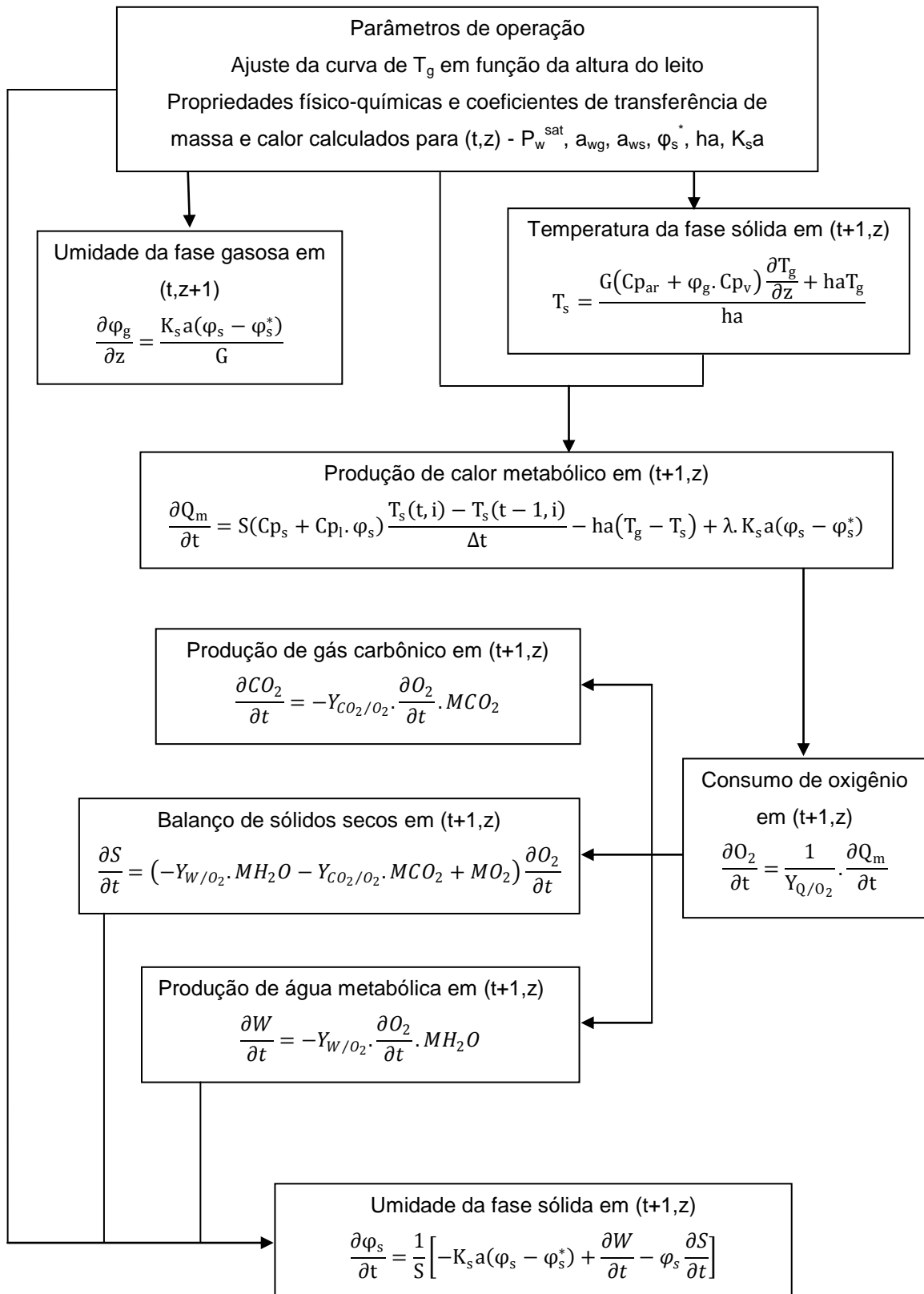
#### 4.3.3.10 Seqüência dos cálculos

A seqüência final dos cálculos no modelo de inferência desde os filtros de dados até a determinação da umidade da fase sólida pode ser observada no FLUXOGRAMA 5.



continua





FLUXOGRAMA 5 – SEQÜÊNCIA DOS CÁLCULOS DO MODELO DE INFERÊNCIA

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PRODUÇÃO DE ESPOROS PARA O CULTIVO EM BIORREATOR

#### 5.1.1 Produção em Placa de Petri

Após a reativação da cepa de *Aspergillus oryzae* o fungo foi cultivado em placas de petri para a produção de inóculo. De cada placa obteve-se, em média, uma solução de 4 ml com concentração de  $4,6 \times 10^7$  esporos.ml<sup>-1</sup>. Deste modo, foi possível diluir a solução da cada placa com água estéril e obter uma nova solução de 100 ml com concentração aproximada de  $10^6$  esporos.ml<sup>-1</sup>.

A solução poderia ser diluída com maior volume de água estéril para obter uma concentração de  $10^6$  esporos.ml<sup>-1</sup>, porém optou-se por 100 ml para garantir que a concentração fosse igual ou superior a desejada, mesmo com possíveis variações da produção de esporos durante o cultivo em placa.

#### 5.1.2 Produção de esporos sobre grãos de arroz

Diferentes volumes de água foram adicionados em frascos contendo grãos de arroz. Sobre estes grãos, o microrganismo foi cultivado até produzir esporos. Os esporos foram coletados em água e a concentração de esporos da solução foi contada em microscópio.

TABELA 3 - DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE ÁGUA ADICIONADA SOBRE OS GRÃOS DE ARROZ PARA MAIOR PRODUÇÃO DE ESPOROS APÓS CULTIVO A 30°C POR 5 DIAS.

FRASCO	CONTEÚDO DOS FRASCOS	CONCENTRAÇÃO MÉDIA (esporos.ml <sup>-1</sup> )	DESVIO PADRÃO DA MÉDIA (esporos.ml <sup>-1</sup> )
10	50g arroz + 5 ml água	Sem crescimento	----
20	50g arroz + 10 ml água	$1,6 \times 10^8$	$4,9 \times 10^7$
30	50g arroz + 15 ml água	$2,1 \times 10^8$	$7,4 \times 10^7$
40	50g arroz + 20 ml água	$7,3 \times 10^7$	$5,7 \times 10^6$
50	50g arroz + 25 ml água	$3,4 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
60	50g arroz + 30 ml água	$8,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$

O desvio padrão da média da amostra foi calculado pela equação (75), onde o termo com a barra é a média aritmética da amostra e  $n$  é o tamanho da amostra. Neste caso  $n$  é igual a três.

$$\text{desvio padrão da média da amostra} = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(n)}} \quad (75)$$

No frasco 10, que apresentava coloração marrom após a esterilização na autoclave, ocorreu a esporulação do fungo, mas em quantidade insuficiente para a contagem. No frasco 60, o arroz ficou esbranquiçado, semelhante ao arroz cozido, após retirar da autoclave. Neste frasco, o fungo esporulou, mas muitas partículas do arroz saíram junto com a solução dos esporos dificultando a contagem na câmara de Neubauer. Nos demais frascos, o arroz estava levemente marrom e a solução de esporos apresentava coloração esverdeada.

O frasco 30 foi o que apresentou a maior produção de esporos. Se a massa de arroz for considerada como massa seca, pode-se dizer que a umidade do leito era de 30% em base seca, valor correspondente ao descrito por Lotong (1983) para a produção de esporos de *A. oryzae* para *koji* em grãos de arroz.

Nestes experimentos de produção de esporos, desejava-se apenas descobrir um meio de produzir o volume necessário de inóculo, na concentração desejada, para o cultivo no biorreator. Por este motivo, não foram realizados experimentos para determinar a umidade do arroz e nem se buscou o ponto ótimo de produção de esporos.

## 5.2 SUBSTRATO

### 5.2.1 Densidade do Substrato

O substrato utilizado nos cultivos em biorreator era uma mistura de farelo de trigo e soja. Antes de realizar a mistura dos ingredientes, metade da massa de soja era torrada e a outra metade era hidratada. Deste substrato pronto para o cultivo, foi determinada a densidade de acordo com procedimento descrito na seção 3.3.1. Os resultados estão apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – DENSIDADE DO SUBSTRATO

EXPERIMENTO	DENSIDADE (kg.m <sup>-3</sup> )	MÉDIA (kg.m <sup>-3</sup> )	DESVIO PADRÃO DA MÉDIA (kg.m <sup>-3</sup> )
1	1154		
2	1153	1153	0,8
3	1152		

O leito de soja possui densidade entre 1159,2 e 1199,2 kg.m<sup>-3</sup> (VIEIRA et al., 1997) e o de farelo de trigo 1060 kg.m<sup>-3</sup> (BARGA, 2007). Como o substrato utilizado é uma mistura de destes dois compostos, o valor obtido experimentalmente está entre os dois valores da literatura e, portanto foi empregado nos cálculos do modelo de inferência.

### 5.2.2 Porosidade do Leito

A porosidade ( $\epsilon$ ) e a densidade do sólido ( $\rho_s$ ) são termos necessários para o cálculo da concentração volumétrica de sólidos secos (S) no modelo de inferência. Por isto, a porosidade também foi determinada para o substrato utilizado no cultivo do biorreator piloto. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados estão na TABELA 5.

TABELA 5 – DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE DO SUBSTRATO

EXPERIMENTO	RESULTADO (adimensional)	MÉDIA (adimensional)	DESVIO PADRÃO DA MÉDIA (adimensional)
1	0,3		
2	0,3	0,3	0,05
3	0,4		

Barga (2007) relatou porosidade de 0,4 para a soja hidratada e de 0,2 para o farelo de trigo. Novamente, a porosidade da mistura ficou entre os valores dos dois ingredientes em separado.

Na mistura de soja (partículas grandes) com farelo de trigo (partículas pequenas) seria esperado que as partículas pequenas preenchessem o espaço entre as partículas grandes. Com isto, a porosidade da mistura ficaria mais próxima

da porosidade do farelo de trigo. Entretanto, o valor encontrado ficou exatamente na média, em virtude da precisão dos instrumentos disponíveis para o experimento.

### 5.2.3 Correção da umidade do leito

Nos experimentos em escala piloto, a soja e o farelo de trigo foram esterilizados separadamente em sacos plásticos. Depois de misturar os dois compostos dentro do biorreator a umidade do substrato deveria ser corrigida de modo que após a inoculação a umidade final do leito fosse de 30% (base seca). Entretanto, medições da umidade pelo método da secagem e correções da umidade são procedimentos demorados que poderiam facilitar o crescimento de contaminantes sobre o substrato. Por este motivo, buscou-se elaborar um procedimento que possibilitasse a mistura do leito, a inoculação e a correção da umidade simultaneamente. O experimento citado na seção 3.3.3, que adicionava água em uma pequena quantidade do substrato recém-preparado e determinava a umidade, foi utilizado para esta finalidade.

As umidades medidas durante a secagem do leito estão na TABELA 6.

TABELA 6 – QUANTIDADE DE ÁGUA ADICIONADA PARA CORREÇÃO DA UMIDADE DO LEITO

EXPERIMENTO	SUBSTRATO INICIAL (g)	ÁGUA TOTAL ADICIONADA (ml)	UMIDADE (B.S.)
1	100	10	34
2	100	10	37
3	100	10	32

NOTA: O substrato inicial refere-se à massa de soja mais a do farelo de trigo antes dos procedimentos de tostagem, hidratação e esterilização em autoclave.

Observou-se que para cada 100 g de substrato eram necessários 10 ml de água para a correção aproximada do leito. Nos experimentos no biorreator foram preparados 60 kg de substrato por fermentação, portanto seriam necessários 6 litros água para a correção aproximada da umidade. Como o inóculo é preparado em solução aquosa, foram preparados 6 litros de inóculo para o mesmo volume de substrato.

## 5.2.4 Determinação dos coeficientes de transferência de massa e calor

### 5.2.4.1 Velocidade mássica do ar

A velocidade mássica do ar é utilizada nos cálculos do programa que determina os coeficientes de transferência de massa e calor. Por isto, esta velocidade teve que ser medida no equipamento utilizado nos experimentos de secagem do leito em camada delgada.

Medidas da velocidade do ar em função do diâmetro do tubo foram realizadas com um anemômetro de fio quente (FIGURA 18). Devido ao formato da curva foi ajustado um polinômio do segundo grau (equação (76)), cuja variável dependente é a velocidade do ar ( $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) e a variável independente o comprimento (m) que vai de zero até o diâmetro do tubo (4 polegadas  $\approx 0,1$  m).

$$V = 185,47x^2 - 18,414x + 0,457 \quad (76)$$

A equação (31) foi utilizada para determinar a velocidade média na saída do tubo, cujo resultado foi  $0,155 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Este valor foi multiplicado pela densidade do ar seco, cujo valor é  $1,14 \text{ kg}\cdot\text{ar}\cdot\text{seco}\cdot\text{m}^{-3}$  (HIMMELBLAU, 1996), para obter a velocidade mássica de  $0,177 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

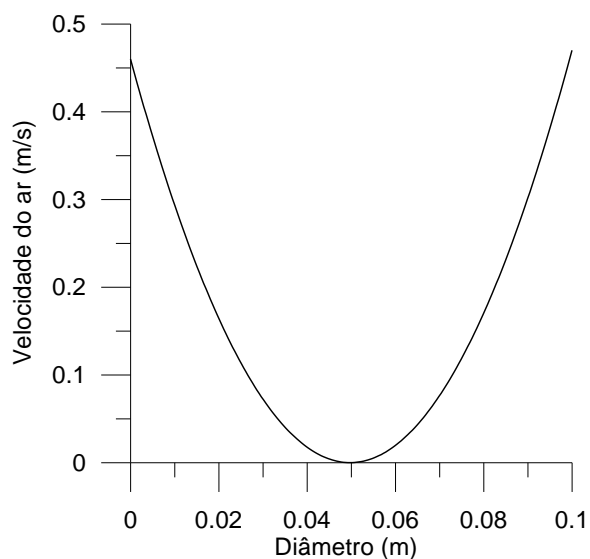


FIGURA 18 – PERFIL DA VELOCIDADE DO AR NO TUBO UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE TRANSFERENCIA DE MASSA E CALOR.

A velocidade do ar é maior na região próxima das paredes e zero na região central por causa do formato da ventoinha instalada na base do tubo (FIGURA 19). As hélices são curtas e próximas da parede, enquanto que no centro existe um grande espaço ocupado pelas peças responsáveis pela rotação das hélices.



FIGURA 19 – FOTOGRAFIA DA PARTE INFERIOR DO INSTRUMENTO MONTADO PARA A SECAGEM EM CAMADA DELGADA.

#### 5.2.4.2 Cálculo dos coeficientes

As variações na temperatura e na umidade da fase sólida, durante os experimentos de secagem em camada delgada, foram inseridas no programa de otimização que utilizava o modelo de secagem (Pasa et al., 2002) para determinar os coeficientes de transferência de massa e calor.

Para cada experimento, o programa de otimização convergia para o mesmo resultado independente dos valores testados entre as estimativas iniciais de 10000 até 80000  $J.s^{-1}.m^{-3}.K^{-1}$  para o coeficiente de transferência de calor e de 0,1 até 1,0  $kg.s^{-1}.m^{-3}$  para o coeficiente de transferência de massa. Quando valores muito superiores ou inferiores aos apresentados como estimativas iniciais eram empregados, o programa não convergia após um máximo de 80 iterações ou apresentava erro de cálculo.

Os valores resultantes para os coeficientes de transferência de massa e calor, junto com os respectivos desvios médios entre os valores experimentais e os calculados estão apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 – RESULTADOS DOS CÁLCULOS DOS COEFICIENTES DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA E CALOR PARA O SUBSTRATO DA FERMENTAÇÃO NO BIORREATOR PILOTO.

Temperatura do ar de secagem (°C)	Coefficiente de transferência de calor ( $J.s^{-1}.m^{-3}.°C^{-1}$ )	Desvios médios (%)	Coefficiente de transferência de massa ( $kg.s^{-1}.m^{-3}$ )	Desvios médios (%)
40	58969,8	0,8192	0,481	2,824
30	58228,4	0,9282	0,503	3,778

Os perfis dos valores experimentais comparado com os calculados pelo modelo estão apresentados nas FIGURAS 20 a 23.

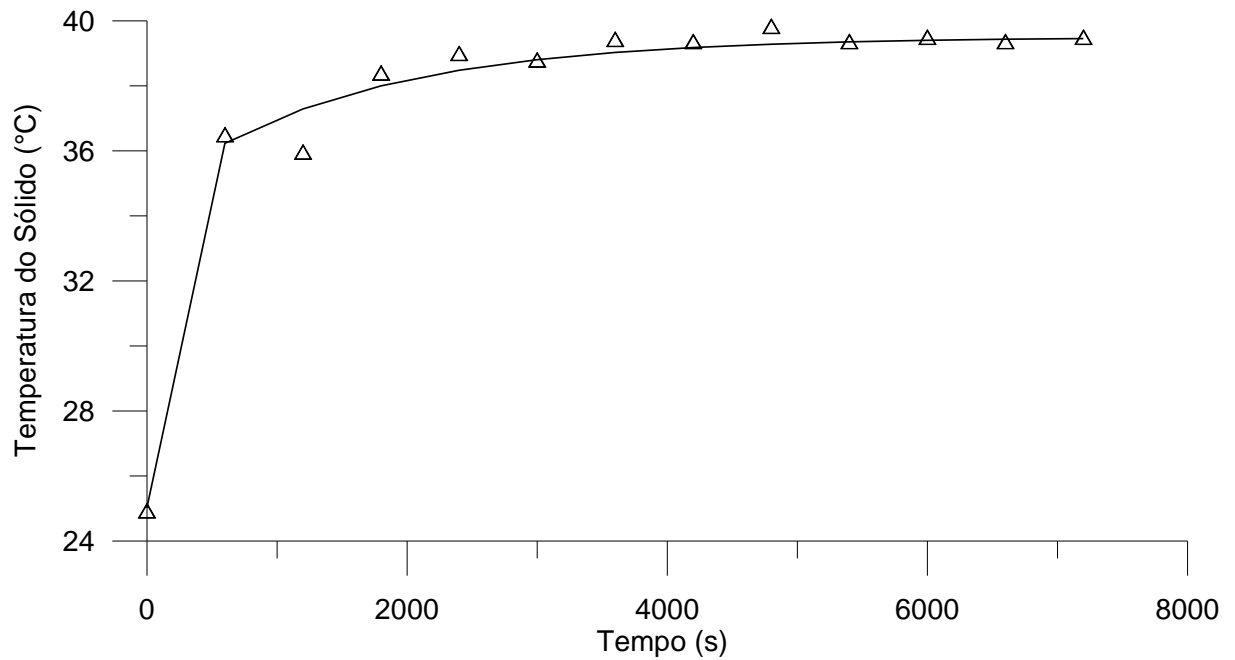


FIGURA 20 – PERFIS DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA DA FASE SÓLIDA DURANTE A SECAGEM DO SUBSTRATO A 40°C. (Δ) Temperatura medida experimentalmente; (—) Temperatura calculada a partir dos coeficientes otimizados.



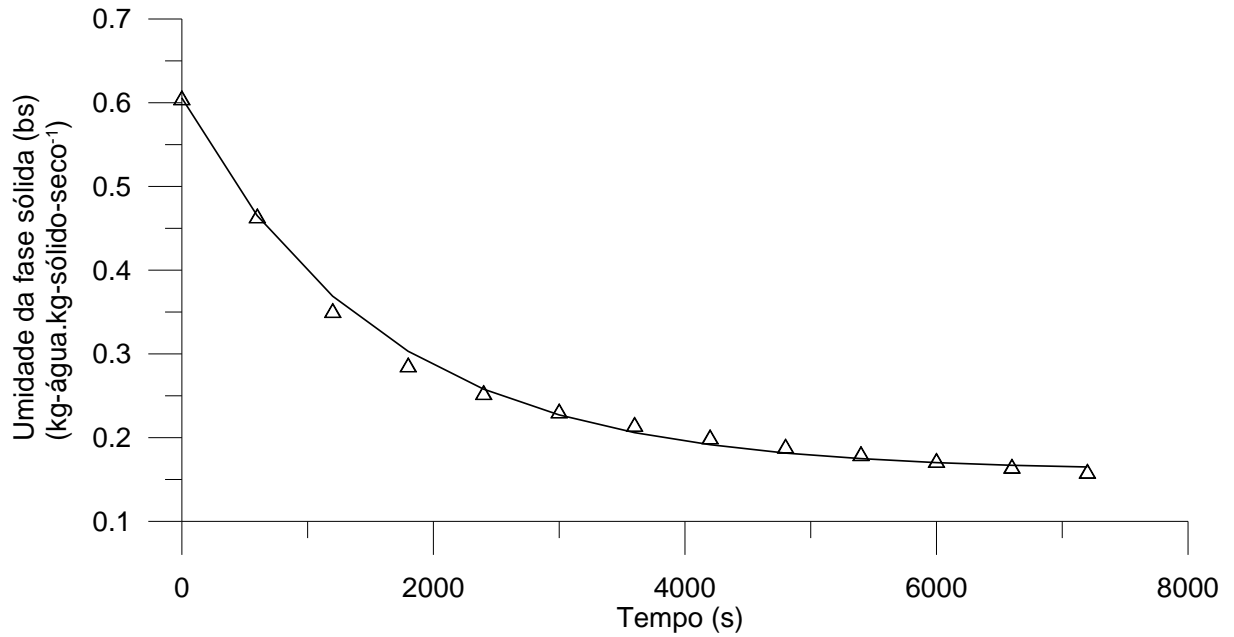


FIGURA 21 – PERFIS DA VARIAÇÃO DA UMIDADE DA FASE SÓLIDA EM BASE SECA DURANTE A SECAGEM DO SUBSTRATO A  $40^\circ\text{C}$ . ( $\Delta$ ) Umidade medida experimentalmente; (—) Umidade calculada a partir dos coeficientes otimizados

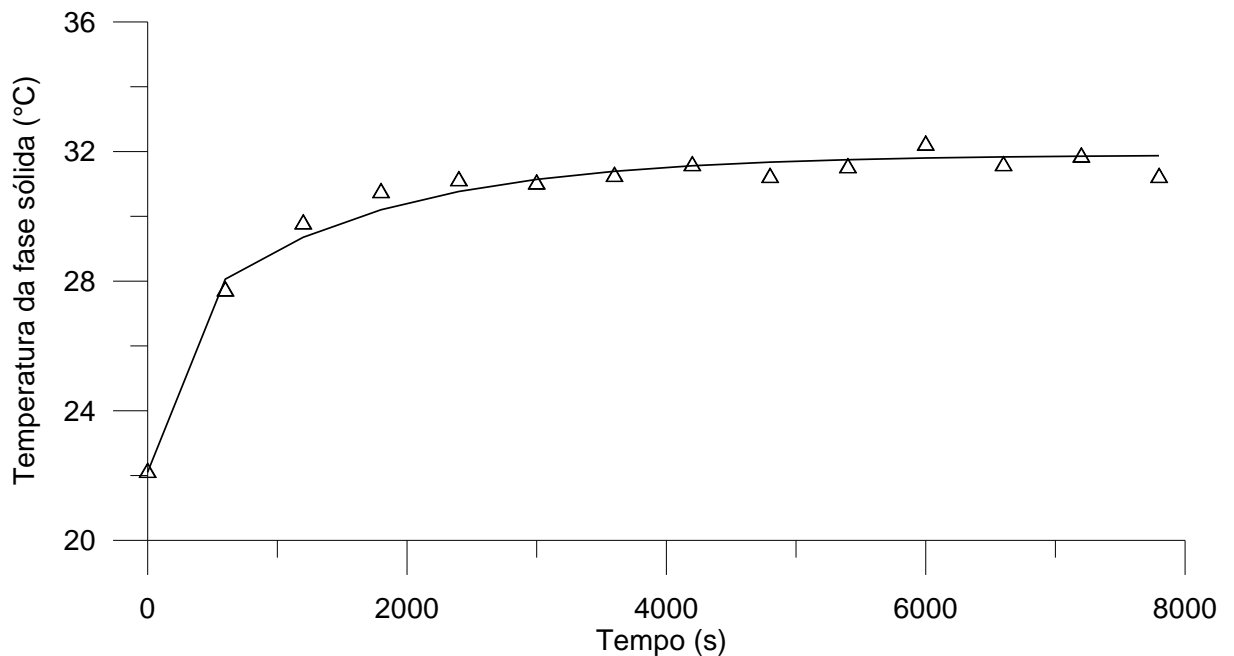


FIGURA 22 – PERFIS DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA DA FASE SÓLIDA DURANTE A SECAGEM DO SUBSTRATO A  $30^\circ\text{C}$ . ( $\Delta$ ) Temperatura medida experimentalmente; (—) Temperatura calculada a partir dos coeficientes otimizados

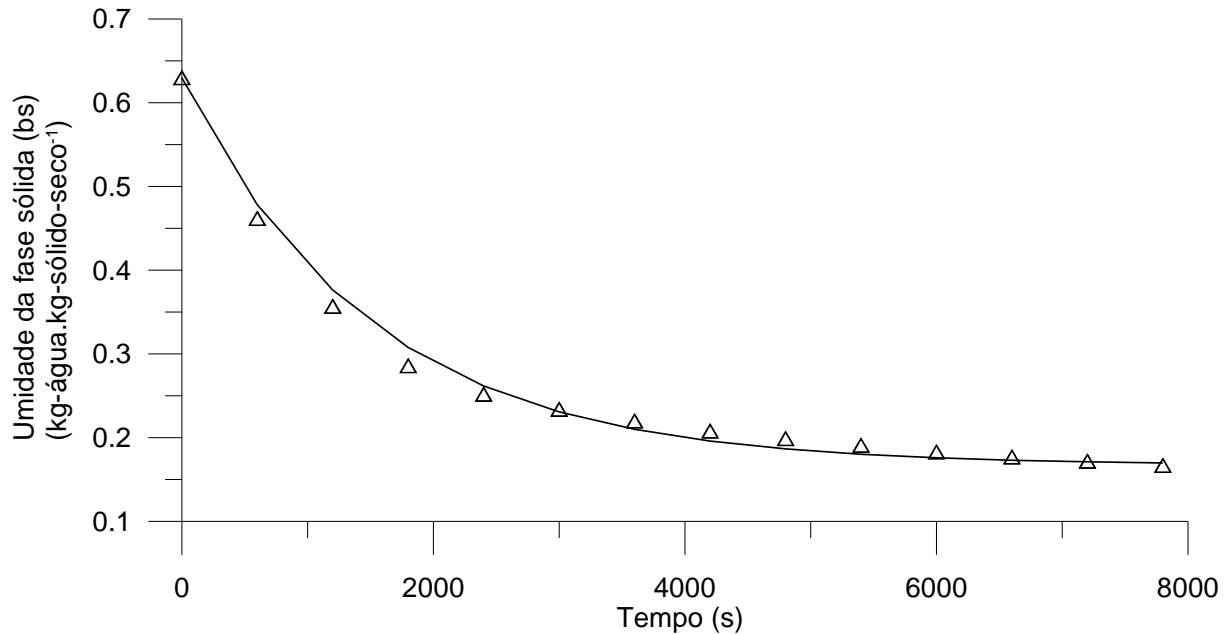


FIGURA 23 – PERFIS DA VARIAÇÃO DA UMIDADE DA FASE SÓLIDA EM BASE SECA DURANTE A SECAGEM DO SUBSTRATO A 30°C. (Δ) Umidade medida experimentalmente; (—) Umidade calculada a partir dos coeficientes otimizados

Os desvios médios calculados e os gráficos demonstram que, com os coeficientes calculados, ocorreu um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Estimar corretamente estes coeficientes é de grande importância no modelo de inferência para quantificar a água e a energia que é transferida entre as fases. Valores incorretos poderiam estimar que a evaporação da água do leite, em um determinado momento da fermentação, é maior ou menor do que a realidade.

Na literatura, normalmente estes coeficientes são apresentados como equações em função da temperatura da fase gasosa. No programa MEIENMOD, por exemplo, os coeficientes foram estimados por equações e sofreram variações de 4763,30 a 4817,45  $\text{J.s}^{-1}.\text{m}^{-3}.\text{K}^{-1}$  para o coeficiente efetivo de transferência de calor e de 0,01218 a 0,31102  $\text{kg.s}^{-1}.\text{m}^{-3}$  para o coeficiente efetivo de transferência de massa.

Para ajustar equações que determinam os coeficientes em função da temperatura seriam necessários vários experimentos com diferentes temperaturas da fase gasosa. Entretanto, o sistema experimental apresentava limitações e seria interessante construir um sistema melhor antes de continuar a caracterização dos coeficientes.

O equipamento desenvolvido para o experimento sustentava o substrato sobre uma tela metálica, porém, durante a redução da umidade, o farelo de trigo

caía facilmente pelos orifícios da tela durante os movimentos de retirada da estufa para a pesagem do leito. Com isto, os resultados apresentavam redução da umidade enquanto que, na realidade, estava ocorrendo perda de massa seca. Além disto, a temperatura da estufa sofria variações de até 5°C em decorrência das constantes aberturas da porta para pesagem do substrato.

Ao término de cada experimento, toda a massa de farelo de trigo perdida pelo leito foi coletada e pesada. As reduções foram em média de 2% da massa inicial, mas apenas para os dois experimentos em que a massa coletada foi inferior a 1% da massa inicial que os coeficientes foram calculados e os resultados apresentados nesta seção. Estes valores foram utilizados nos cálculos do modelo de inferência para os ensaios no biorreator piloto.

### 5.3 MODELO DE INFERÊNCIA

#### 5.3.1 Modelo de Secagem

O programa do modelo de secagem de Pasa et al. (2002) solucionava primeiro as equações diferenciais para todo o período da secagem na altura do leito mais próxima da entrada de ar. Após estes cálculos, o programa avançava um passo na altura do leito, afastando da entrada de ar, e novamente calculava as variáveis para todo o tempo de secagem. Este ciclo se repetia até a altura total, quando o programa encerrava.

O procedimento de cálculo descrito é correto em um programa preditivo, como o de Pasa et al. (2002), entretanto em um programa de modelo de inferência a seqüência de cálculo deve ser invertida, pois as medidas coletadas no decorrer da fermentação são utilizadas para calcular as variáveis em função da altura do leito. Por este motivo, o programa foi modificado para calcular primeiro todas variáveis em função da altura do leito e depois avançar no tempo. Os resultados do programa preditivo original e do modificado foram comparados com os valores obtidos experimentalmente por Calçada (1998) para a secagem do milho.

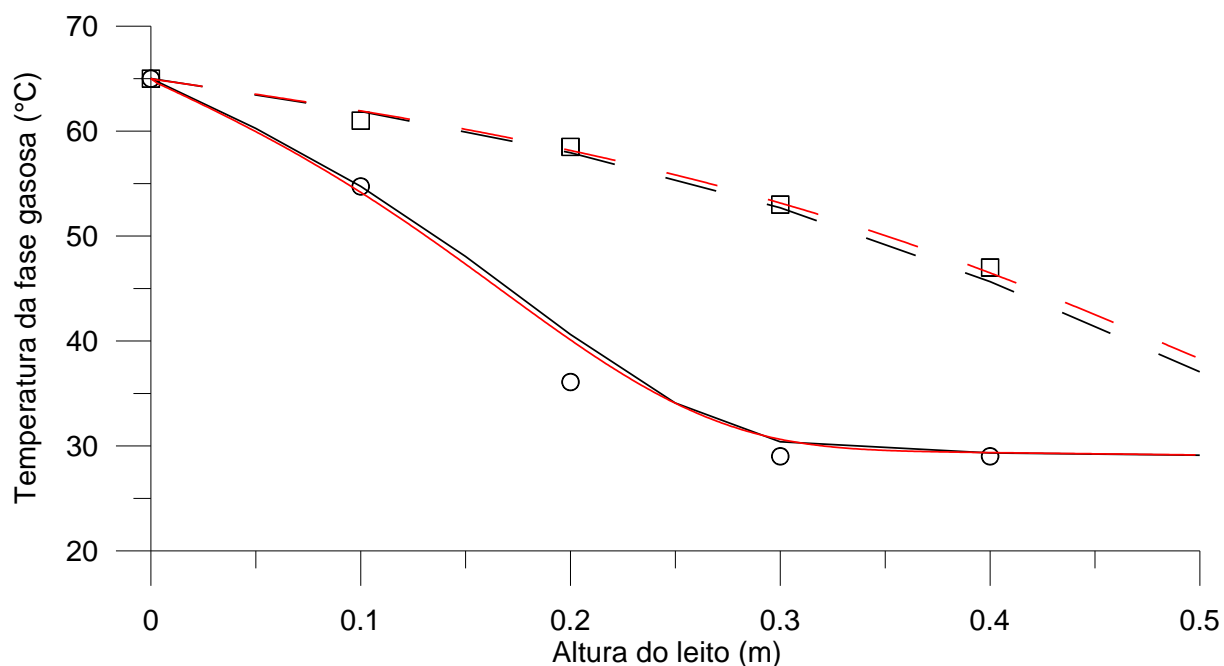


FIGURA 24 – PERFIS DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA APÓS 15 MIN E 60 MIN DE SECAGEM DO MILHO. (o) Resultado experimental - 15 min; (—) Modelo preditivo original - 15 min; (—) Modelo preditivo com ordem de cálculo modificado - 15 min; (□) Resultado experimental - 60 min; (- -) Modelo preditivo original - 60 min; (- -) Modelo preditivo com ordem de cálculo modificado - 60 min.

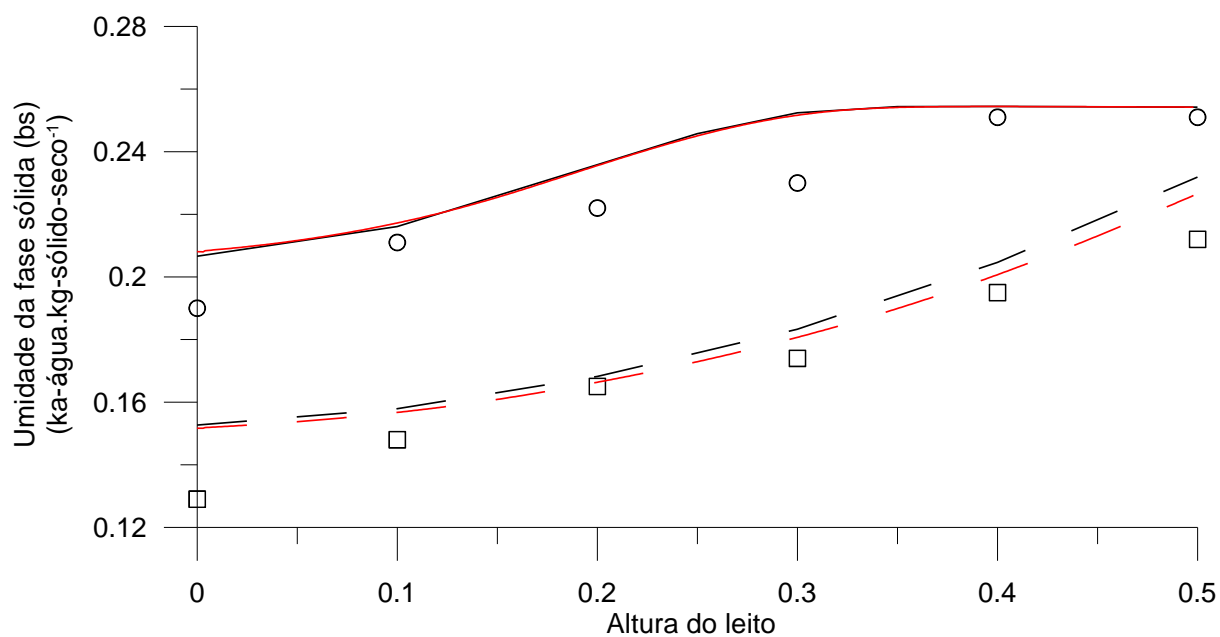


FIGURA 25 – PERFIS DA UMIDADE DA FASE SÓLIDA APÓS 15 MIN E 60 MIN DE SECAGEM DO MILHO. (o) Resultado experimental - 15 min; (—) Modelo preditivo original - 15 min; (—) Modelo preditivo com ordem de cálculo modificado - 15 min; (□) Resultado experimental - 60 min; (- -) Modelo preditivo original - 60 min; (- -) Modelo preditivo com ordem de cálculo modificado - 60 min.

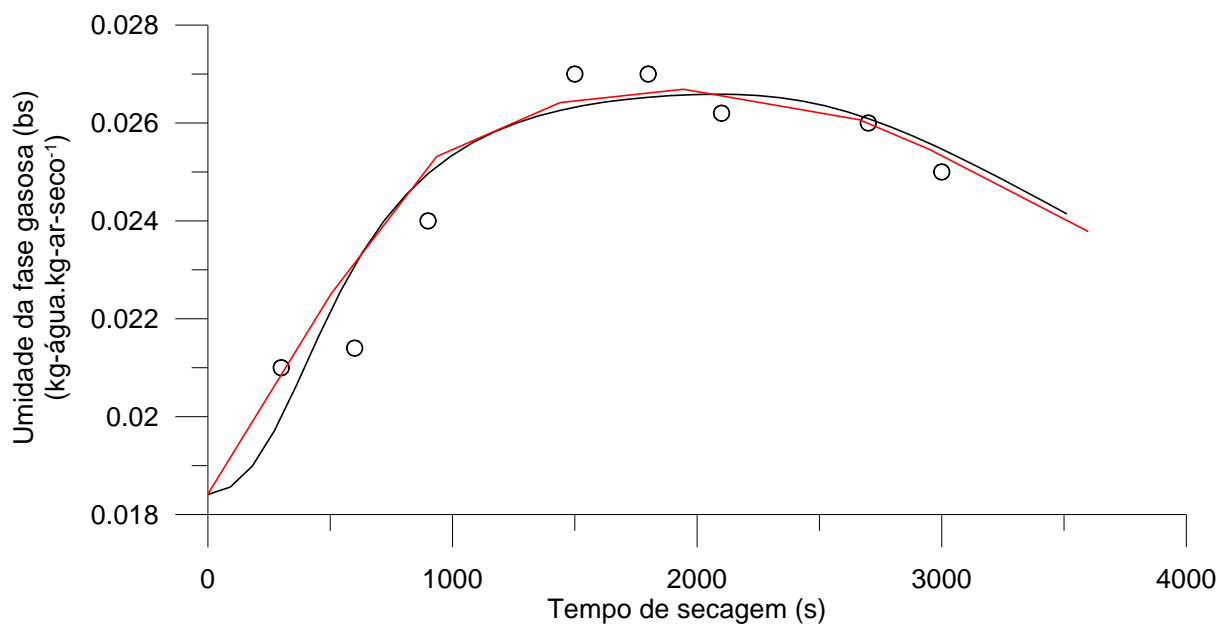


FIGURA 26 – UMIDADE DA FASE GASOSA NA SUPERFÍCIE DO LEITO DURANTE A SECAGEM DO MILHO. (o) Resultado experimental; (—) Modelo preditivo original; (—) Modelo preditivo com ordem de cálculo modificado.

Os gráficos demonstram o bom ajuste entre os dados experimentais e os previstos pelo modelo. Além disto, demonstram que as modificações na seqüência de cálculo no programa não provocaram mudanças significativas nas estimativas das variáveis. Este novo programa, que soluciona primeiro as equações no espaço e depois no tempo, foi chamado de PASAMOD.

### 5.3.2 Modelo Preditivo de Fermentação no Estado Sólido

As equações do programa PASAMOD foram substituídas pelas equações do modelo preditivo da fermentação no estado sólido descrito por Von Meien e Mitchell, 2002. A elaboração deste programa, chamado de MEIENMOD, foi necessária para verificar se a metodologia de cálculo resolvia adequadamente as equações diferenciais relacionadas à fermentação no estado sólido. Além disto, o programa foi empregado para fornecer as variações da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito e para a verificação dos cálculos do modelo de inferência. O método das linhas foi usado para discretizar as equações diferenciais parciais e o método de Runge-Kutta de 4ª ordem foram empregados na resolução numérica das equações diferenciais.

Os perfis das variáveis calculadas foram comparados graficamente com os obtidos pelo programa elaborado por Von Meien e Mitchell (2002), que solucionava as equações através da rotina DASSL (PETZOLD et al., 1989). Nos dois casos, foi considerada a fermentação contínua sem eventos de agitação e adição de água.

As curvas de produção de biomassa (FIGURA 27) e de consumo de substrato (FIGURA 28) são médias aritméticas dos valores calculados para diferentes alturas do leito em um mesmo tempo de cultivo.

TABELA 8 – PARÂMETROS E VARIÁVEIS UTILIZADOS COMO BASE PARA A SIMULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO.

PARAMETRO VARIÁVEL	DESCRIÇÃO	VALOR	FONTE
t	Tempo de fermentação	60 h	Escolhido
H	Altura do leito	0,5 m	Escolhido
b <sub>0</sub>	Concentração de biomassa inicial	0,002 kg-biomassa. Kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>	Utilizado por Saucedo-Castaneda et al.(1990)
T <sub>go</sub>	Temperatura inicial da fase gasosa	38°C	Temperatura para crescimento ótimo
T <sub>so</sub>	Temperatura inicial da fase sólida	38°C	Temperatura para crescimento ótimo
φ <sub>go</sub>	Umidade inicial da fase gasosa	kg-água.kg-ar-seco <sup>-1</sup>	Calculado pela equação (52)
φ <sub>so</sub>	Umidade inicial da fase sólida	Kg-água. Kg-sólido-seco <sup>-1</sup>	Calculado pela equação (50)
a <sub>wgo</sub>	Atividade da água inicial da fase gasosa	0,99	Escolhido
a <sub>wso</sub>	Atividade da água inicial da fase sólida	0,99	Escolhido
G	Velocidade mássica do ar	0,06 kg-ar-seco.s <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	Escolhido
C <sub>par</sub>	Capacidade calorífica do gás seco	1005 J.kg-ar-seco <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
C <sub>p<sub>v</sub></sub>	Capacidade calorífica do vapor da água	1791 J.kg-vapor-água <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
P	Pressão atmosférica	101325 Pa	Himmelblau (1996)
ρ <sub>g</sub>	Massa específica do ar seco	1,14 kg-ar-seco.m <sup>-3</sup>	Himmelblau (1996)
ρ <sub>s</sub>	Massa específica do sólido	300 kg-substrato-seco. m <sup>-3</sup> -substrato-úmido	Escolhido para resultar na densidade de de 260 kg-substrato-úmido.m <sup>-3</sup>
C <sub>ps</sub>	Capacidade calorífica do sólido seco	2500 J.kg-sólido-seco <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup>	Sweat (1986)
C <sub>pl</sub>	Capacidade calorífica da água líquida	4184 J.kg-água <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
ε	Porosidade	0,35	Terzic e Todorovic (1992)
b <sub>m</sub>	Concentração máxima de biomassa	0,25 kg-biomassa. Kg-sólidos-secos <sup>-1</sup>	Gumbira-As'id et al. (1993)
Y <sub>S/B</sub>	Coeficiente de rendimento dos sólidos secos em função da biomassa	-2 kg-sólidos-secos. Kg-biomassa <sup>-1</sup>	Escolhido com base do coeficiente de rendimento de 0,33 kg-biomassa.kg-substrato-seco <sup>-1</sup>

continua

PARAMETRO VARIÁVEL	DESCRIÇÃO	VALOR	conclusão FONTE
$Y_{Q/B}$	Coefficiente de rendimento do calor metabólico em função da biomassa.	$8,366 \times 10^6 \text{ J.kg-biomassa}^{-1}$	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
$Y_{W/B}$	Coefficiente de rendimento da água metabólica em função da biomassa.	$0,3 \text{ kg-água.kg-biomassa}^{-1}$	Sargentis et al. (1990)
$\mu_{opt}$	Velocidade de crescimento específica ótima	$9,00535 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
$D_1, D_2, D_3, D_4$	Constantes da equação (12)	$D_1=618,9218; D_2=-1863,527; D_3=1865,097; D_4=-620,6684$	Ajuste empírico aos dados de Glenn e Rogers (1988) para <i>Aspergillus niger</i>
A	Fator de frequência para o numerador da equação (13)	$7,483 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
B	Constante de ajuste para a equação (13)	$1,300 \times 10^{47}$	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
$E_{A1}$ e $E_{A2}$	Energias de ativação para a equação (13)	$E_{A1}=70225 \text{ J.mol}^{-1}$ e $E_{A2}=283356 \text{ J.mol}^{-1}$	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
R	Constante universal dos gases	$8,314 \text{ J.mol}^{-1}\text{°C}^{-1}$	Himmelblau (1996)
$a_1, a_2, a_3, a_4$	Constantes de ajuste da equação (20)	$a_1=7,304; a_2=-1,77 \times 10^{-2}; a_3=2,202; a_4=-6,18 \times 10^{-3}$	Mancini (1996)
$C_1, C_2, C_3, C_4$ e $C_5$	Constantes de ajuste para as equações (16) e (17)	$C_1=2,9; C_2=0,004; C_3=1,275; C_4=-0,0029$ e $C_5=0,32$	Calçada (1998)
$\lambda$	Entalpia de evaporação da água	$2414300 \text{ J.kg-água}^{-1}$	Himmelblau (1996)

FONTE: VON MEIEN E MITCHELL (2002)

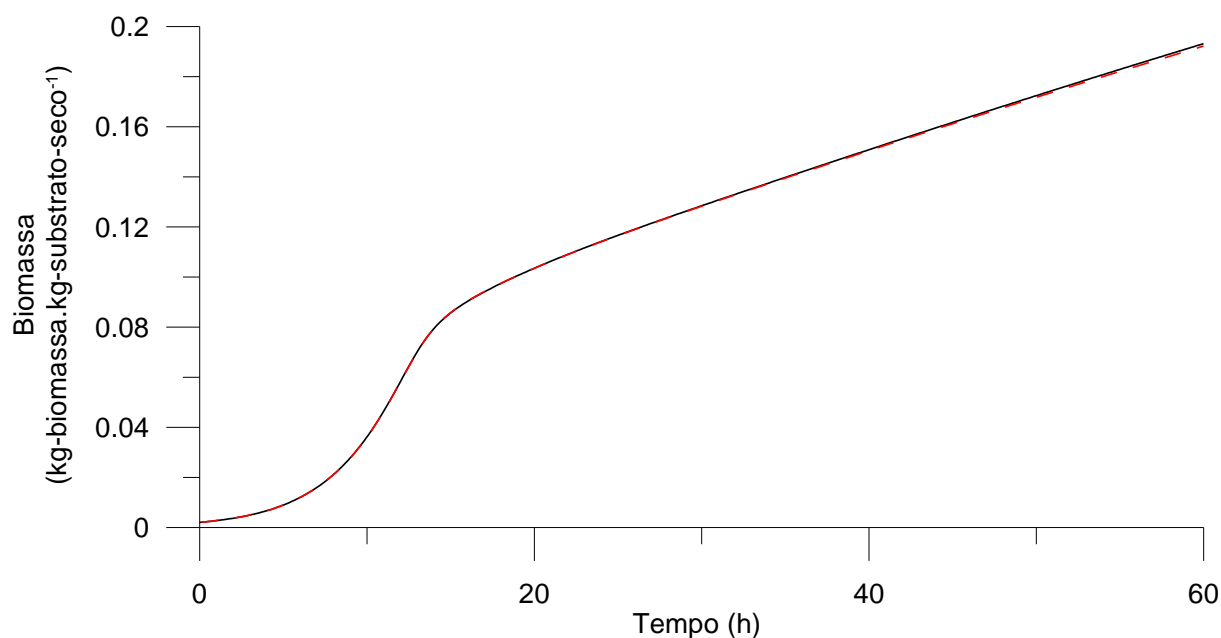


FIGURA 27 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE BIOMASSA NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002); (- - -) Programa MEINEMOD.

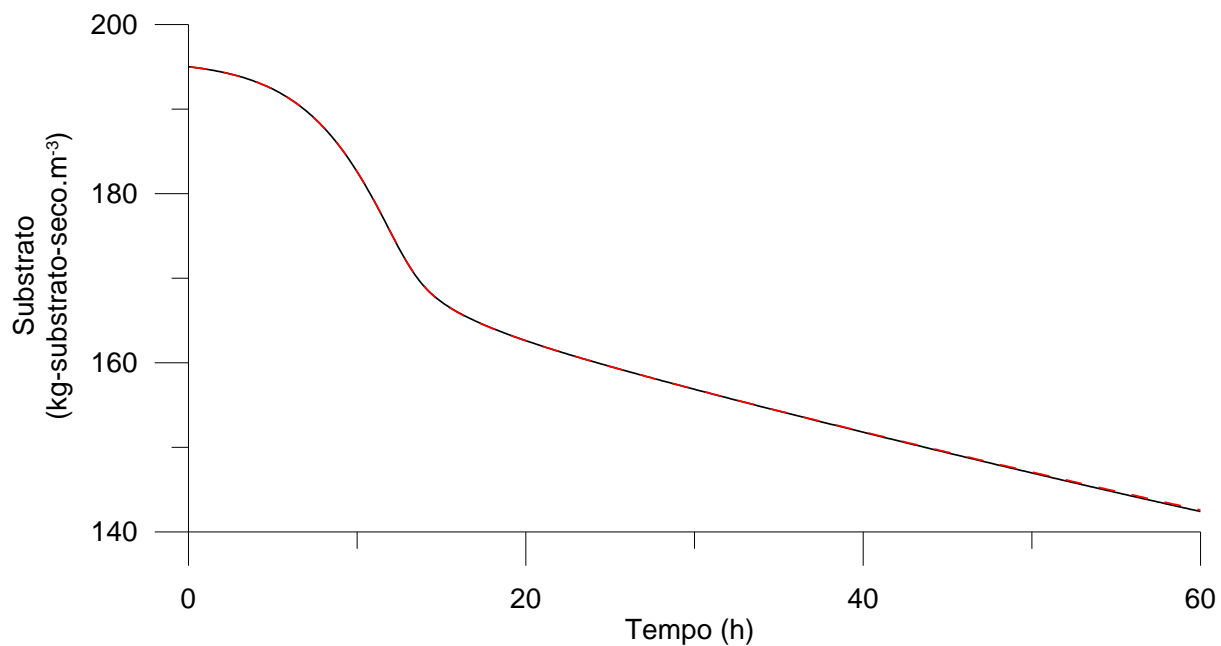


FIGURA 28 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE SUBSTRATO NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002); (- - -) Programa MEIENMOD.

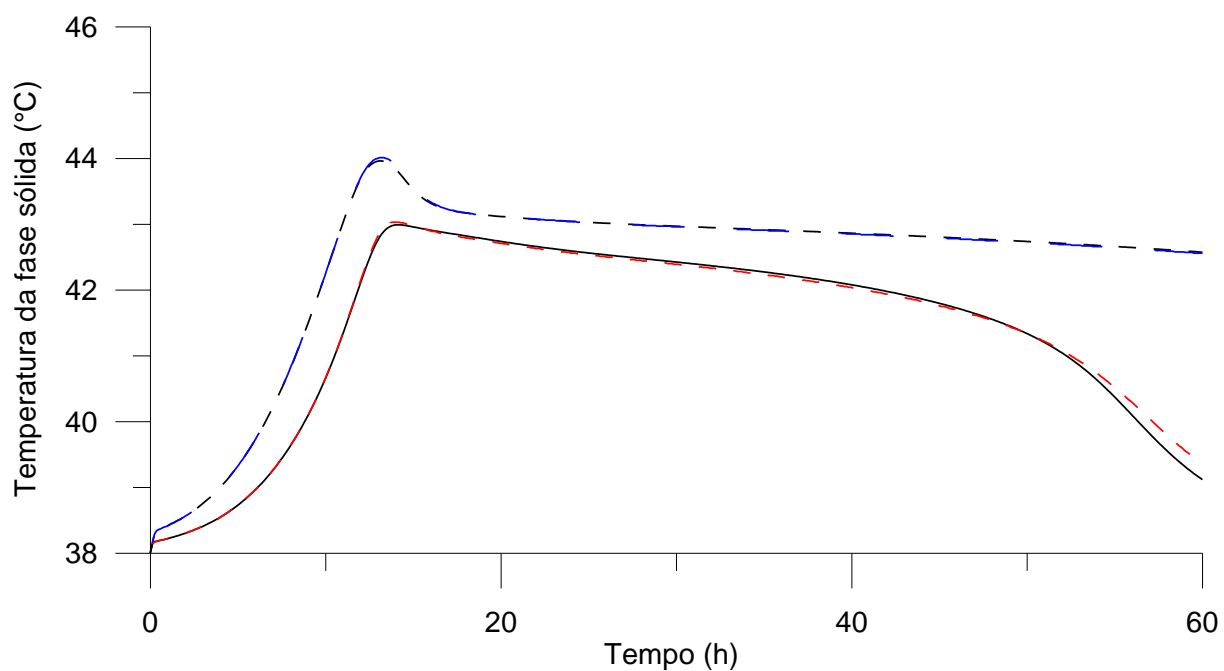


FIGURA 29 – TEMPERATURA DA FASE SÓLIDA NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,5$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,5$  m.



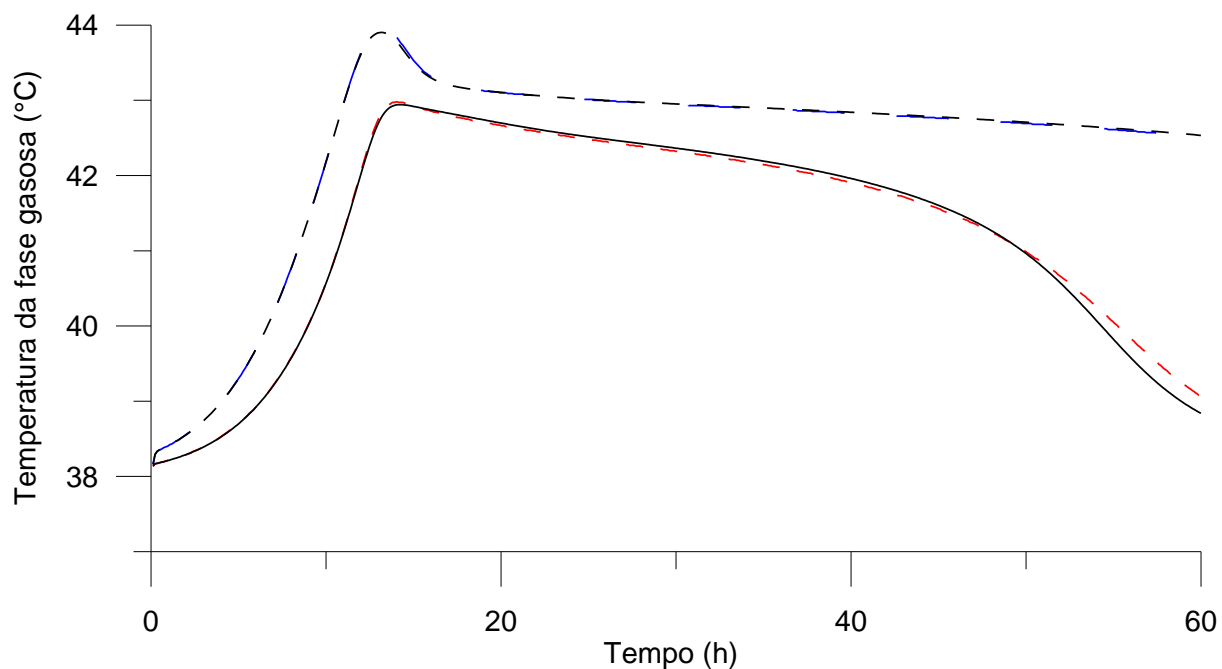


FIGURA 30 –TEMPERATURA DA FASE GASOSA NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,5$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,5$  m.

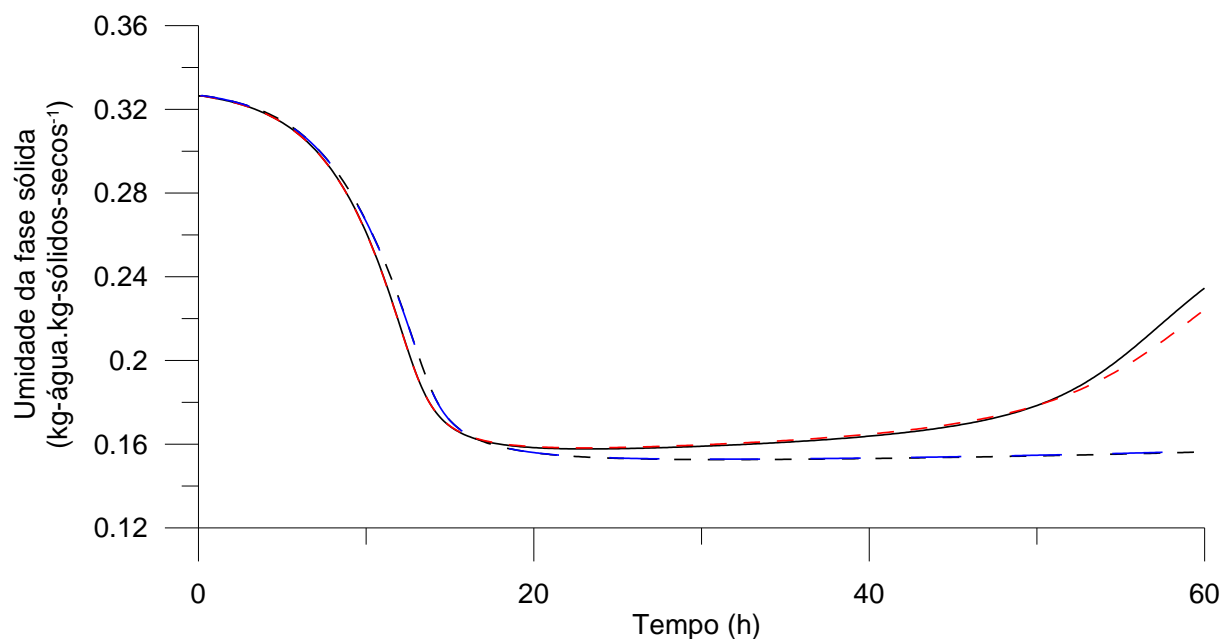


FIGURA 31 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,5$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,5$  m.

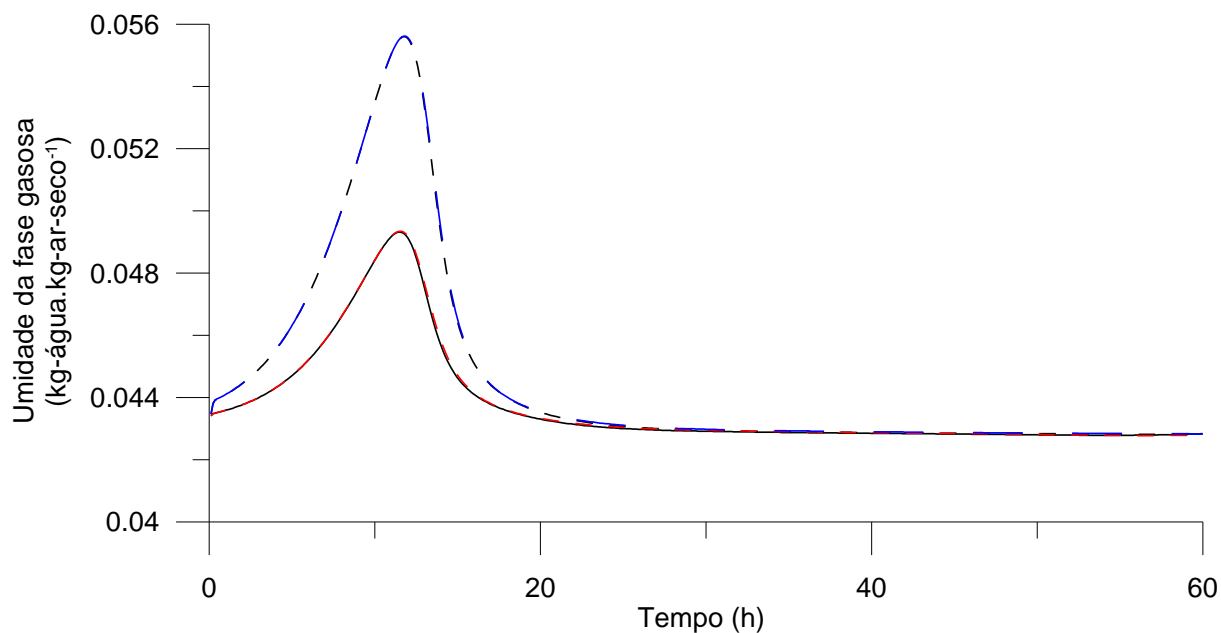


FIGURA 32 – UMIDADE DA FASE GASOSA NO MODELO PREDITIVO DE FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO. (—) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,25$  m; (- - -) Programa de Von Meien e Mitchell (2002) para  $z=0,5$  m; (- - -) Programa MEIENMOD para  $z=0,5$  m.

Os gráficos demonstram que o método de cálculo com discretização pelo método das linhas e resolução das equações diferenciais pelo método Runge-Kutta de 4ª ordem apresenta resultados similares ao método empregado por Von Meien e Mitchell, 2002. Por isto, o método de cálculo foi empregado na programação do modelo de inferência e o programa MEIENMOD foi utilizado para gerar arquivos de variação da temperatura da fase gasosa em função da altura para a etapa de ajuste da curva no modelo de inferência

### 5.3.3 Ajuste da curva para a temperatura da fase gasosa

Gráficos dos perfis da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito (FIGURAS 33 e 34), em diferentes tempos, foram elaborados para selecionar uma equação de ajuste às temperaturas coletadas durante os experimentos no biorreator. Este ajuste é necessário para fornecer, ao programa do modelo de inferência, valores de temperaturas em todas as alturas do leito e não apenas nas alturas dos termopares, conforme necessidade do passo de integração para a solução das equações diferenciais.

Os valores para a elaboração dos gráficos foram retirados do programa MEINEMOD.

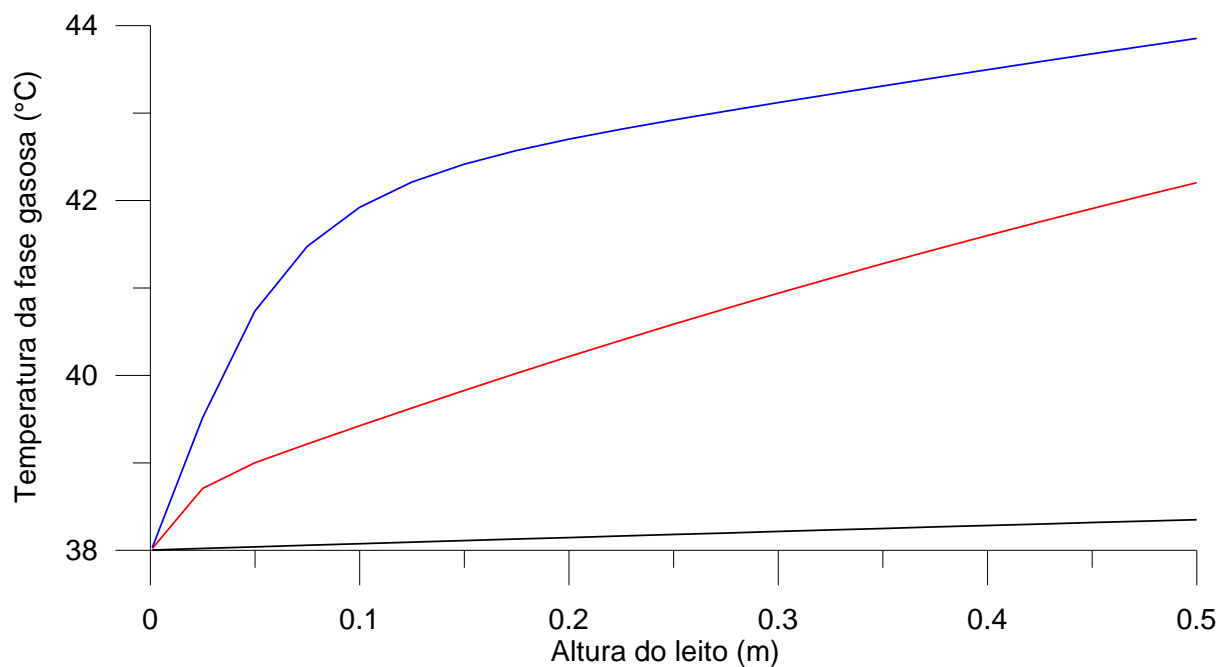


FIGURA 33 – PERFIS DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA EM FUNÇÃO DA ALTURA DO LEITO PARA DIFERENTES TEMPOS DE CULTIVO. (—) 0,5 h de cultivo; (—) 10 h de cultivo; (—) 15 h de cultivo

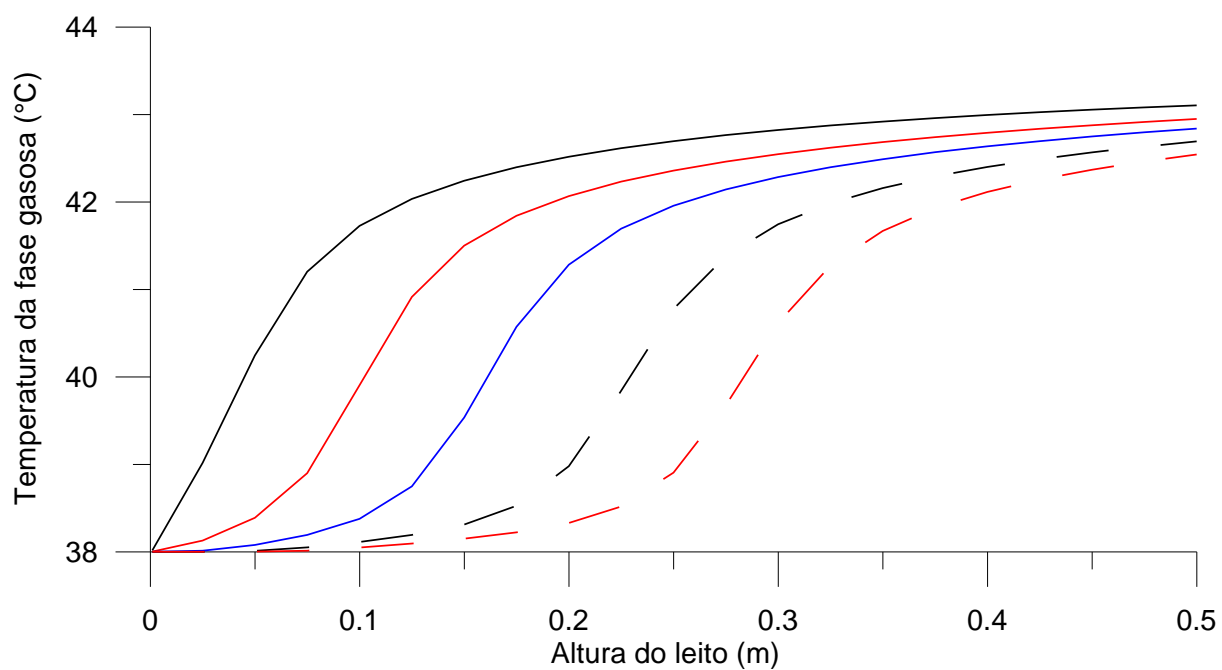


FIGURA 34 – PERFIS DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA EM FUNÇÃO DA ALTURA DO LEITO PARA DIFERENTES TEMPOS DE CULTIVO. (—) 20 h de cultivo; (—) 30 h de cultivo; (—) 40 h de cultivo; (- - -) 50 h de cultivo; (- - -) 60 h de cultivo.

A partir dos gráficos obtidos foram selecionadas equações com no máximo dois coeficientes para testar o ajuste às curvas. As equações escolhidas foram as seguintes:

$$T_g = T_{go} \cdot e^{r_1 z} \quad (77)$$

$$T_g = r_1 \ln(z) + r_2 \quad (78)$$

$$T_g = r_1 z^2 + r_2 z + T_{go} \quad (79)$$

$$T_g = T_{go} + \left[ \frac{r_1 z}{(r_2 + z)} \right] \quad (80)$$

onde,

$r_1$  e  $r_2$  = Coeficientes de ajuste

$z$  = Altura do leito (sentido axial)

$T_g$  = Temperatura da fase gasosa

$T_{go}$  = Temperatura da fase gasosa na entrada do leito

O máximo de dois coeficientes de ajuste deve-se ao número de termopares instalados no biorreator piloto. Quando a fermentação ocorre com substrato até a metade do volume total do biorreator, são coletadas leituras da temperatura na entrada e saída do biorreator e em três alturas distintas no interior do leito. O ajuste de três ou mais coeficientes a partir de cinco pontos experimentais pode resultar no ajuste de uma curva que não se assemelhe à curva experimental.

Os cálculos das equações ajustadas foram realizados através do software Grapher (Golden Software) e os resultados do quadrado do coeficiente de correlação de Pearson ( $R^2$ ) e da soma dos quadrados dos resíduos das equações ajustadas foram comparados. As equações (79) e (80) apresentaram os melhores ajustes ao longo do cultivo e os resultados estão apresentados na TABELA 9.

TABELA 9 – RESULTADOS DO AJUSTE DAS CURVAS

Tempo (h)	Equação 79		Equação 80	
	R <sup>2</sup>	$\Sigma(\text{resíduos})^2$	R <sup>2</sup>	$\Sigma(\text{resíduos})^2$
0,5	0,999	1,365x10 <sup>-5</sup>	0,999	1,258x10 <sup>-5</sup>
10	0,982	0,514	0,989	0,315
15	0,797	8,799	0,995	0,223
20	0,841	6,212	0,985	0,602
30	0,959	2,470	0,934	3,977
40	0,913	6,475	0,905	7,130
50	0,894	8,293	0,879	9,465
60	0,919	5,825	0,811	13,58

Embora o objetivo desta etapa não fosse investigar o comportamento do processo descrito pelo modelo de Von Meien e Mitchell, 2002, e sim determinar a melhor curva de ajuste, convém explorar um pouco as previsões do modelo para a compreensão das curvas observadas na FIGURA 34.

O programa MEIENMOD simulou o crescimento do microrganismo sem ações de controle, como agitação e adição de água. Por este motivo, o microrganismo cresce rapidamente nas primeiras horas de cultivo. Na região mais próxima da entrada de ar, o leito permanece com maior umidade e com menor temperatura. Em virtude disto, o microrganismo cresce mais rapidamente nesta região do que nas regiões mais afastadas da entrada de ar. Isto ocorre até aproximadamente 15h de cultivo, quando a concentração de biomassa alcança o valor máximo na região mais baixa do leito. A partir deste momento, não acontece mais a produção de calor metabólico naquela região e o leito começa a resfriar. Todavia, nas regiões mais altas do leito, onde o microrganismo cresce mais lentamente, devido às temperaturas mais elevadas, a produção de calor metabólico persiste durante todo o cultivo mantendo a temperatura elevada. Por este motivo, após 15 h de cultivo, o perfil temperatura da fase gasosa em função da altura do leito começa a se modificar e a assumir um formato semelhante a um sigmóide (FIGURA 34). Nesta fase do cultivo, nenhuma das equações testadas apresentou bom ajuste.

Nas primeiras horas, quando as condições de cultivo permaneceram próximas das ideais, a equação (80) apresenta os melhores ajustes com valores elevados de R<sup>2</sup> e pequenos do somatório do quadrado dos resíduos. Em 30 h de cultivo a equação (79) ajusta-se um pouco melhor do que a equação (80) e nas últimas horas nenhuma das equações apresenta um bom ajuste. As curvas

ajustadas aos dados do modelo de inferência para 10, 20, 30 e 40 horas de cultivo podem ser observadas na FIGURA 35.

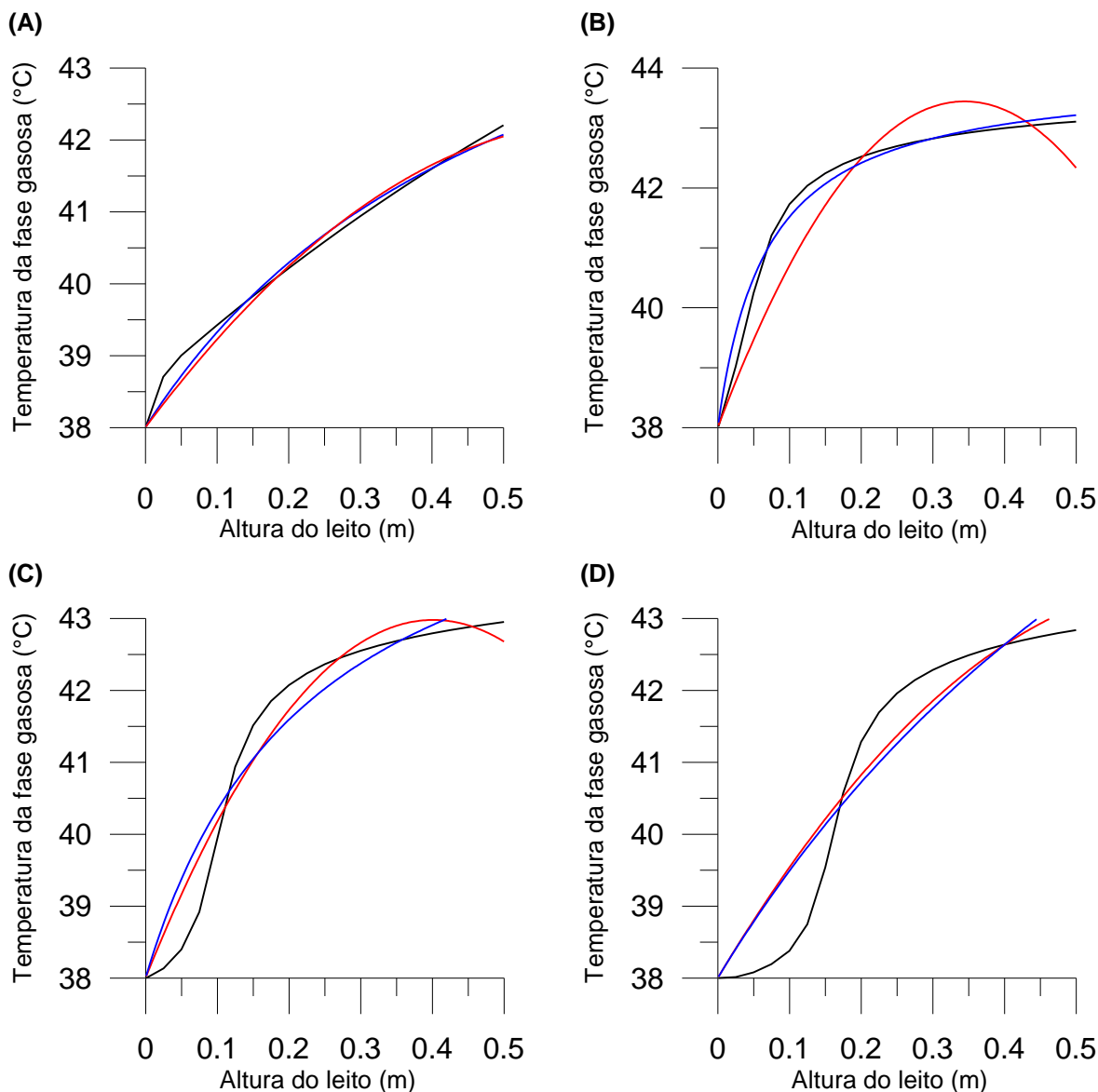


FIGURA 35 – PERFIS DAS CURVAS DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA EM COMPARAÇÃO COM AS CURVAS AJUSTADAS PELAS EQUAÇÕES 04 E 05. (A) 10 h de cultivo, (B) 20 h de cultivo. (C) 30 h de cultivo, (D) 40 h de cultivo, (—) Curva do programa MEIENMOD; (—) ajuste da equação (79); (—) ajuste da equação (80).

Ao comparar os gráficos das curvas ajustadas com as curvas calculadas pelo modelo, decidiu-se elaborar um programa que calcularia os coeficientes de ajuste das equações (79) e (80) e selecionaria, entre as duas, aquela que tivesse o valor de  $R^2$  mais próximo da unidade. Em caso de igualdade, o programa

selecionaria aquela que tivesse o menor valor do somatório do quadrado dos resíduos.

Nas curvas em que o valor do  $R^2$  fosse inferior a 0,96 para as duas equações, o ajuste seria feito por segmentos de retas ligando os pontos amostrados. O valor de 0,96 para  $R^2$  corresponde ao ajuste da equação (79) para 30 horas de cultivo, considerado como limite para o ajuste das equações.

#### 5.3.4 Avaliação do Programa do Modelo de Inferência

A verificação dos cálculos do modelo de inferência foi realizada por comparação entre os resultados da umidade da fase sólida obtida pelo modelo preditivo e pelo modelo de inferência. Nesta etapa, o programa MEIENMOD foi usado como um “biorreator virtual”. As estimativas que este programa calculou da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito foram fornecidas ao programa do modelo preditivo. O programa do modelo preditivo calculou as demais variáveis e os perfis da umidade da fase sólida dos dois programas foram comparados graficamente. Esta variável foi selecionada para a comparação por ser o objetivo final do modelo de inferência.

Os programas preditivos geram resultados naturalmente isentos de ruídos, a não ser que estes ruídos sejam inseridos propositalmente, como foi realizado por Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2006. Por isto, estes dados não necessitam ser filtrados, ao contrário do que ocorre com os resultados coletados nos biorreatores. Além disto, os pequenos passos de integração para a solução das equações diferenciais no modelo preditivo fornecem resultados próximos o suficiente para que sejam empregados diretamente no modelo de inferência, sem necessitar do ajuste de curva da temperatura da fase gasosa. Portanto, ao utilizar todos os valores da temperatura da fase gasosa calculados no programa MEIENMOD, o programa do modelo de inferência pode ser testado sem utilizar os dois programas iniciais de filtro de dados e de ajuste de curva, facilitando a localização dos possíveis erros durante a programação.

Os parâmetros e variáveis utilizados nos cálculos do modelo de inferência são idênticos aos do modelo preditivo (TABELA 8), com a exceção dos coeficientes

de rendimento e das massas molares que são utilizados apenas no modelo de inferência (TABELA 10)

TABELA 10 – PARÂMETROS UTILIZADOS NA SIMULAÇÃO DO MODELO DE INFERÊNCIA.

PARAMETRO VARIÁVEL	DESCRIÇÃO	VALOR	FONTE
$Y_{Q/O_2}$	Coeficiente de rendimento do calor metabólico em função do oxigênio	$519000 \text{ J.mol-O}_2^{-1}$	Bailey e Ollis (1986)
$Y_{CO_2/O_2}$	Coeficiente de rendimento do gás carbônico em função do oxigênio	$3,1 \text{ mol-CO}_2.\text{mol-O}_2^{-1}$	Calculado
$Y_{W/O_2}$	Coeficiente de rendimento da água metabólica em função do oxigênio	$1,034 \text{ mol-H}_2\text{O.mol-O}_2^{-1}$	Calculado
$M_{CO_2}$	Massa molar do gás carbônico	$0,044 \text{ kg.mol}^{-1}$	Calculado
$M_{O_2}$	Massa molar do gás oxigênio	$0,032 \text{ kg.mol}^{-1}$	Calculado
$M_{H_2O}$	Massa molar da água	$0,018 \text{ kg.mol}^{-1}$	Calculado

A FIGURA 36 apresenta a variação da umidade da fase sólida em função do tempo calculados tanto pelo modelo de preditivo quanto pelo modelo de inferência.

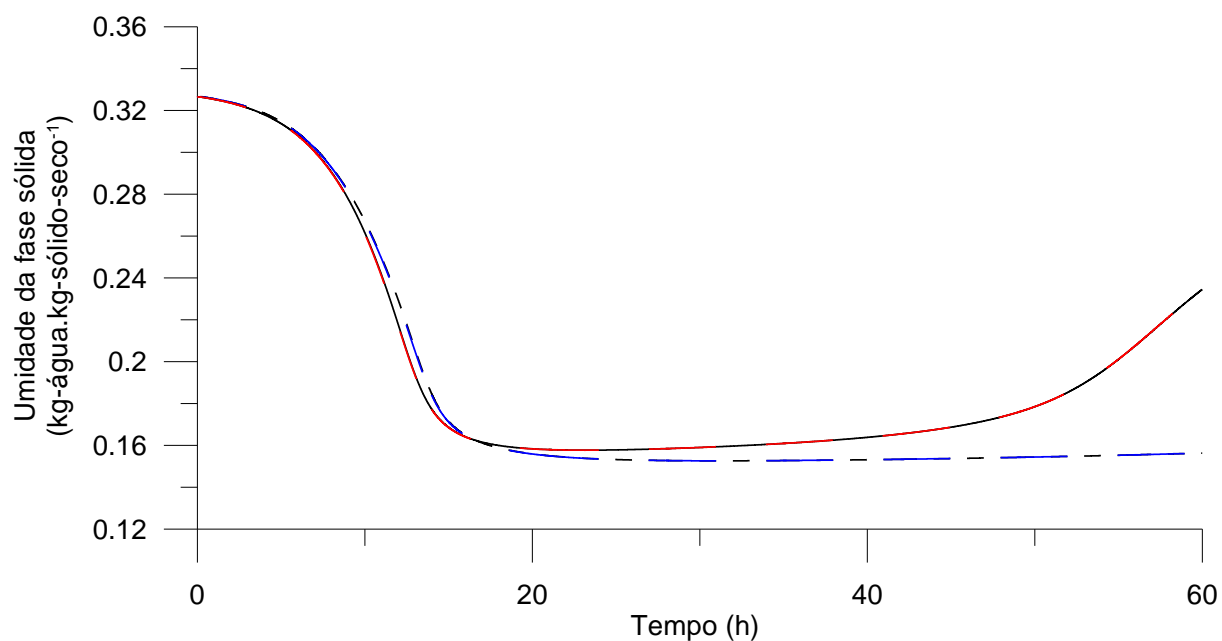


FIGURA 36 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA OS MODELOS PREDITIVO E DE INFERÊNCIA. (—) Modelo preditivo -  $z=0,25 \text{ m}$ ; (- - -) Modelo de inferência -  $z=0,25 \text{ m}$ ; (- - -) Modelo preditivo -  $z=0,5 \text{ m}$ ; (- - -) Modelo de inferência -  $z=0,5 \text{ m}$ .

A FIGURA 37 apresenta as outras variáveis calculadas tanto pelo modelo de preditivo quanto pelo modelo de inferência.



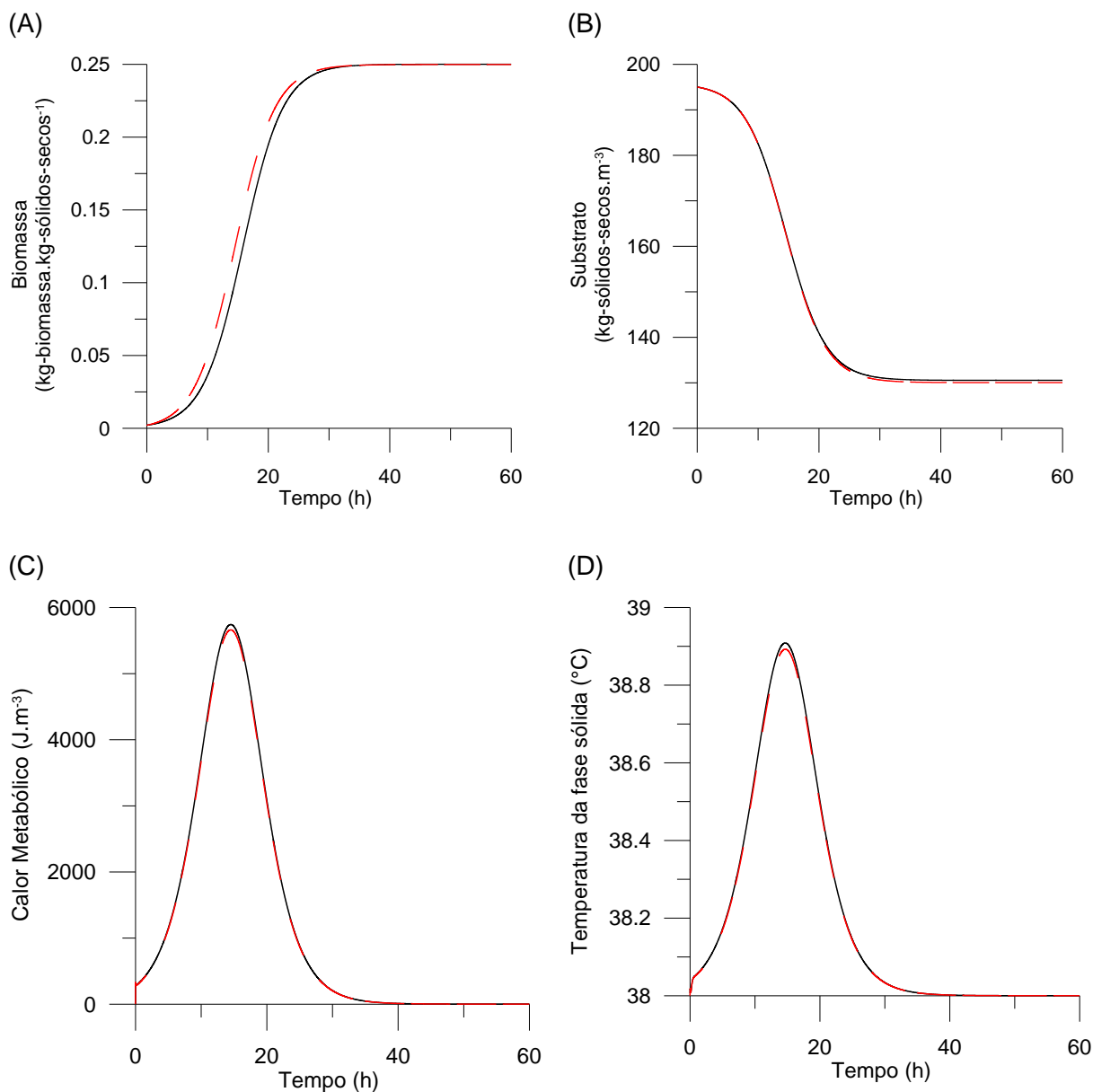


FIGURA 37 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS CALCULADAS PELOS PROGRAMAS PREDITIVO E DE INFERÊNCIA. (A) Produção de Biomassa, (B) Consumo de substrato, (C) Produção de calor metabólico, (D) Temperatura da fase sólida (—) Modelo preditivo -  $z=0,1$  m, (- - -) Modelo de inferência -  $z=0,1$  m.

### 5.3.5 Análise do ajuste da curva da temperatura da fase gasosa no modelo de inferência

Durante a verificação do modelo de inferência foram utilizados todos os valores da temperatura da fase gasosa obtidos no programa do modelo preditivo, que possuía passo de integração no sentido axial de  $5 \times 10^{-4}$  m. Ao comparar este “biorreator virtual” com um biorreator real capaz de operar com um leito de 0,5 m de

altura, seriam necessários mil sensores de temperatura, igualmente distanciados dentro do leito, para que resultados similares fossem obtidos. Adicionar tantos sensores não é uma situação prática devido aos custos, espaço ocupado pelos sensores dentro do leito, capacidade dos sensores de detectar com precisão as pequenas variações de temperatura em distâncias tão reduzidas, entre muitos outros motivos. Por isto, foram avaliados os resultados do modelo de inferência quando eram fornecidos dados da temperatura da fase gasosa em poucas alturas.

Os valores da temperatura da fase gasosa foram novamente retirados do programa MEIENMOD, que continuou com o mesmo passo de integração, mas que forneceu para o modelo de inferência apenas os valores da temperatura nas alturas correspondentes dos termopares do biorreator piloto (Entrada, 5 cm, 18 cm, 33 cm e saída).

Ao tentar executar o programa de inferência com o ajuste de curvas, ocorreram erros de cálculo quando a curva ajustada era modificada. O programa de ajuste selecionava entre a equação (79) e a equação (80), aquela que tivesse o maior valor de  $R^2$ . Quando o valor de  $R^2$  era inferior a 0,96 para as duas equações o ajuste era feito por segmentos de retas que ligavam os pontos de temperatura conhecidos. Entretanto, no momento da modificação da equação ajustada ocorria um salto entre a temperatura do tempo anterior e o atual, o que ocasionava o erro de cálculo. Devido a este problema, o modelo foi testado com apenas um ajuste durante todo o período.

A comparação dos valores inferidos com os valores calculados pelo programa MEIENMOD para a temperatura da fase gasosa e da umidade da fase sólida estão apresentados na figuras a seguir.

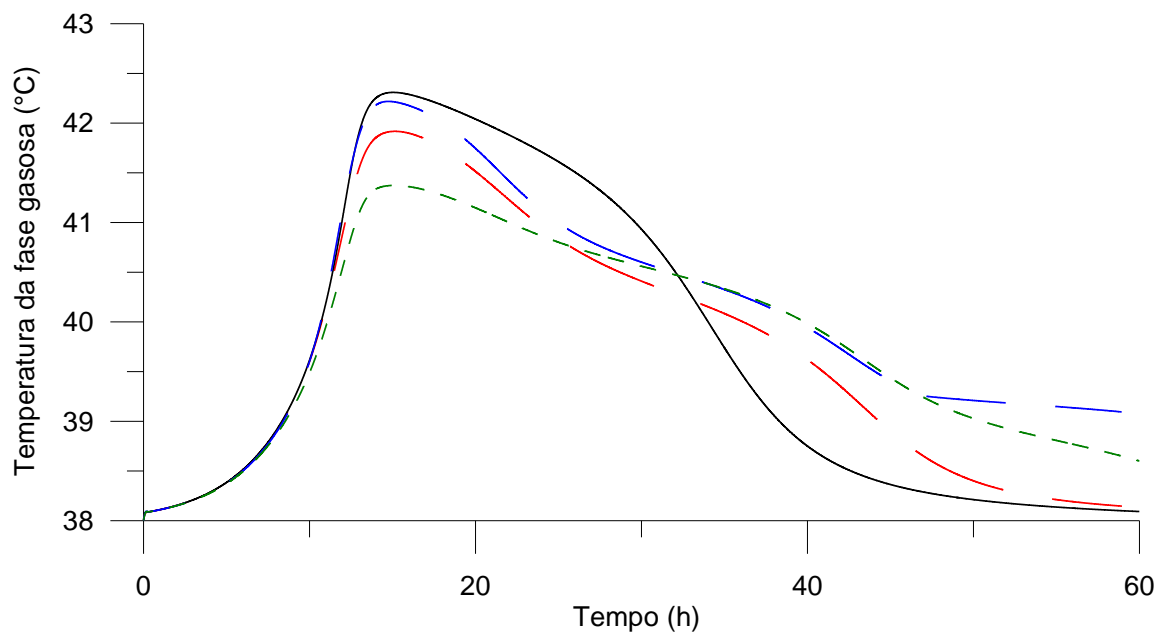


FIGURA 38 – TEMPERATURA DA FASE GASOSA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 25 cm. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Equação (78); (- - -) Equação (79) e (- - -) segmentos de retas.

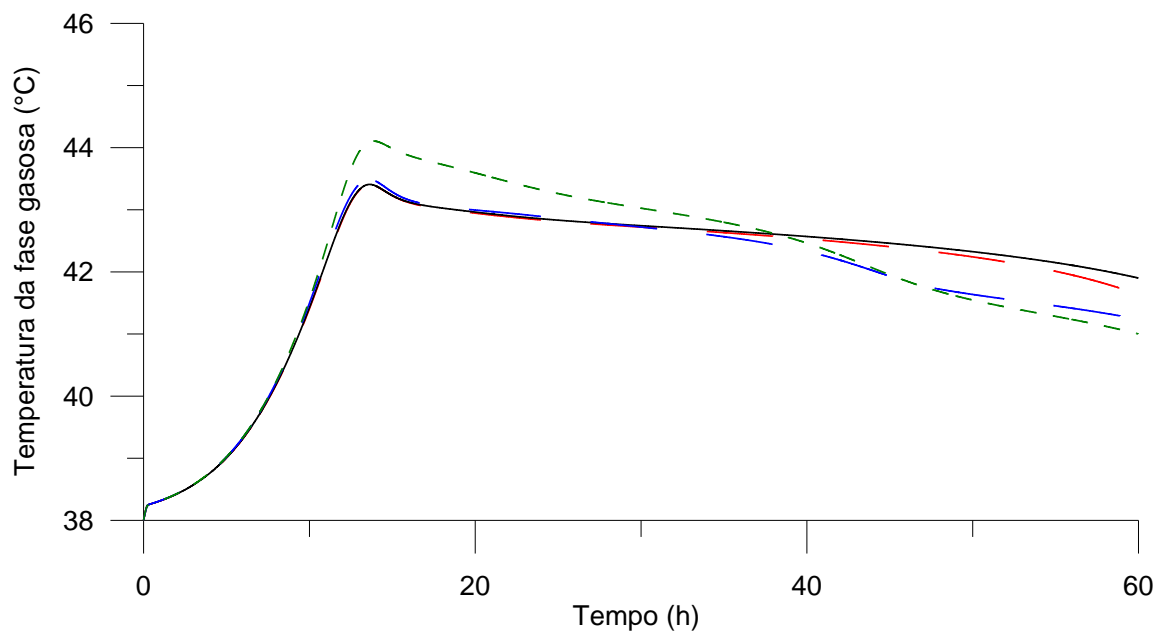


FIGURA 39 – TEMPERATURA DA FASE GASOSA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 37,5 cm. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Equação (78); (- - -) Equação (79) e (- - -) segmentos de retas.

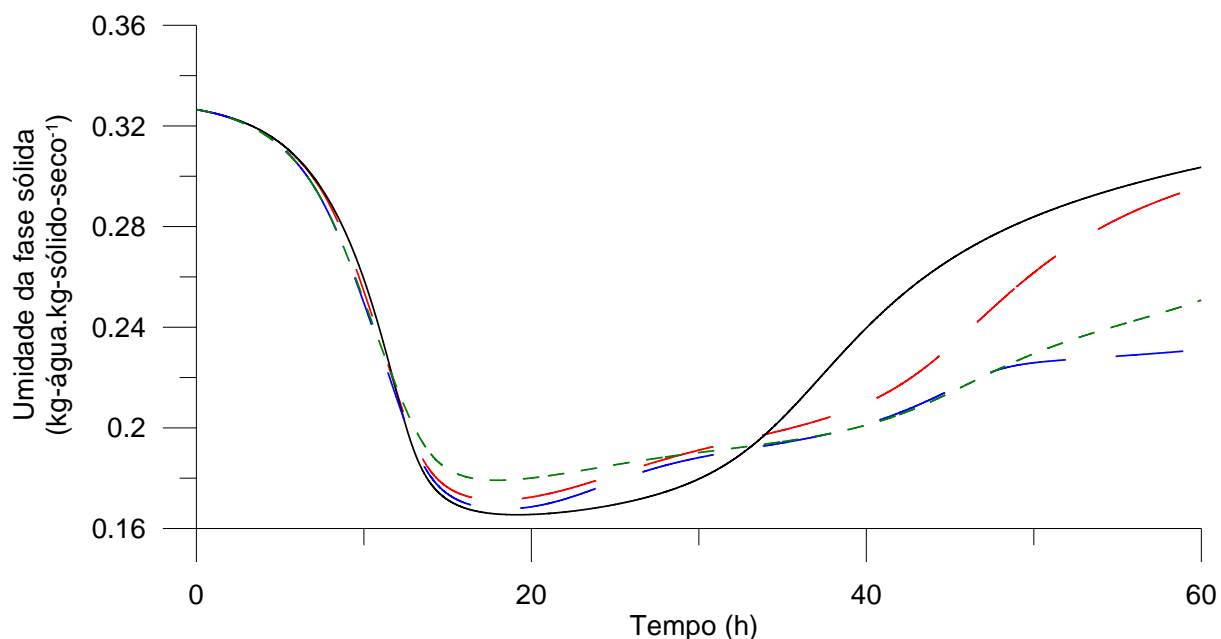


FIGURA 40 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 25 cm. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Equação (78); (- - -) Equação (79) e (- - -) segmentos de retas.

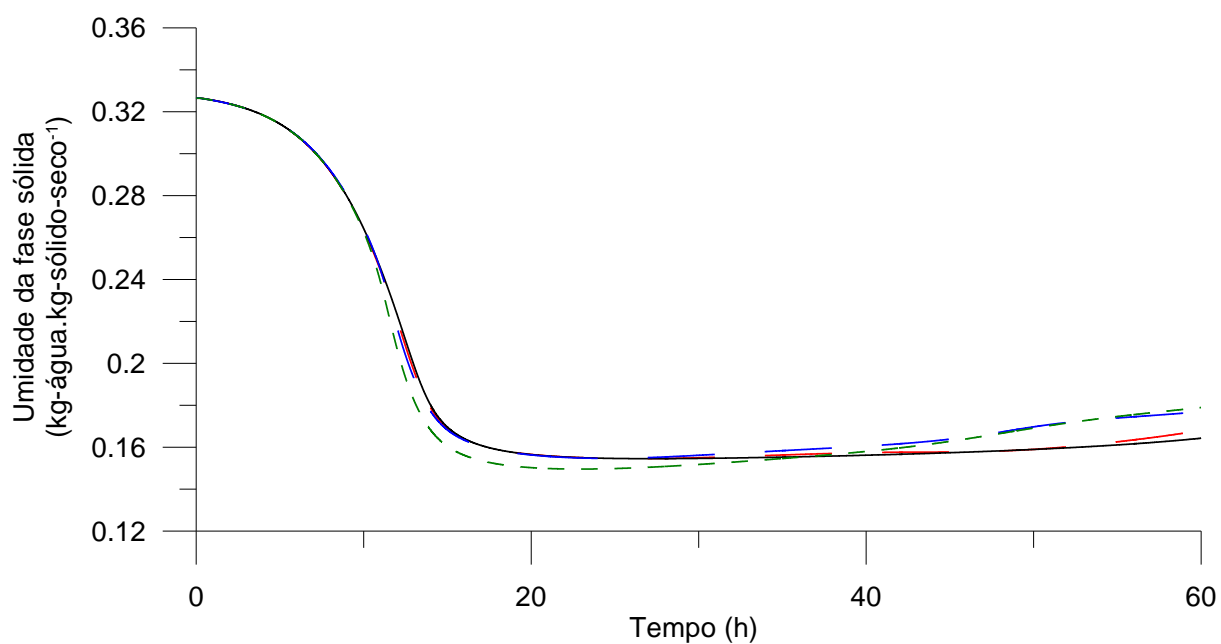


FIGURA 41 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 37,5 cm. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Equação (78); (- - -) Equação (79) e (- - -) segmentos de retas.

Antes de 15 horas de cultivo as diferenças entre as diferentes curvas de ajustes são desprezíveis. Após 15 horas de cultivo, iniciam as diferenças entre os resultados do modelo preditivo e o de inferência, principalmente na região próxima

da base do leito. Estas divergências estão relacionadas com o perfil da temperatura da fase gasosa em função da altura do leito (FIGURA 34).

Novas simulações foram realizadas para o ajuste de cinco dados de temperatura da fase gasosa em diferentes alturas. Em virtude dos resultados anteriores, somente o ajuste por segmentos de retas foi testado, pois foi o que apresentou os menores desvios para a umidade da fase sólida. As temperaturas para estas simulações foram mais uma vez retiradas do programa MEIENMOD e as alturas das temperaturas de cada teste estão apresentadas na TABELA 11.

TABELA 11 – ALTURAS DAS CINCO TEMPERATURAS TESTADAS PARA O AJUSTE DA CURVA DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA NO MODELO DE INFERÊNCIA.

	Teste 01	Teste 02	Teste 03	Teste 04
	Altura (m)	Altura (m)	Altura (m)	Altura (m)
Temperatura 1	0,000	0,000	0,000	0,000
Temperatura 2	0,125	0,075	0,050	0,050
Temperatura 3	0,250	0,220	0,125	0,180
Temperatura 4	0,375	0,300	0,275	0,330
Temperatura 5	0,500	0,500	0,500	0,500

Os resultados da umidade da fase sólida para cada simulação foram comparados graficamente com os resultados do modelo preditivo e foram analisados através quadrado do coeficiente de Pearson –  $R^2$  (TABELA 12). As alturas usadas para a comparação foram sempre as mesmas, independente das alturas que foram fornecidas ao programa do modelo de inferência.

TABELA 12 – VALORES DE  $R^2$  PARA OS RESULTADOS DA UMIDADE DA FASE SÓLIDA ENTRE O MODELO PREDITIVO E MODELO DE INFERÊNCIA COM O AJUSTE DA CURVA DA TEMPERATURA DA FASE GASOSA A PARTIR DE CINCO TEMPERATURAS EM DIFERENTES POSIÇÕES.

Altura	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4
0,005 m	0,437	0,704	0,835	0,835
0,100 m	0,970	0,951	0,988	0,917
0,125 m	0,997	0,909	0,999	0,934
0,250 m	0,998	0,996	0,989	0,986
0,375 m	0,999	0,999	0,998	0,999
0,420 m	0,999	0,999	0,999	0,999
0,500 m	0,999	0,999	0,999	0,999

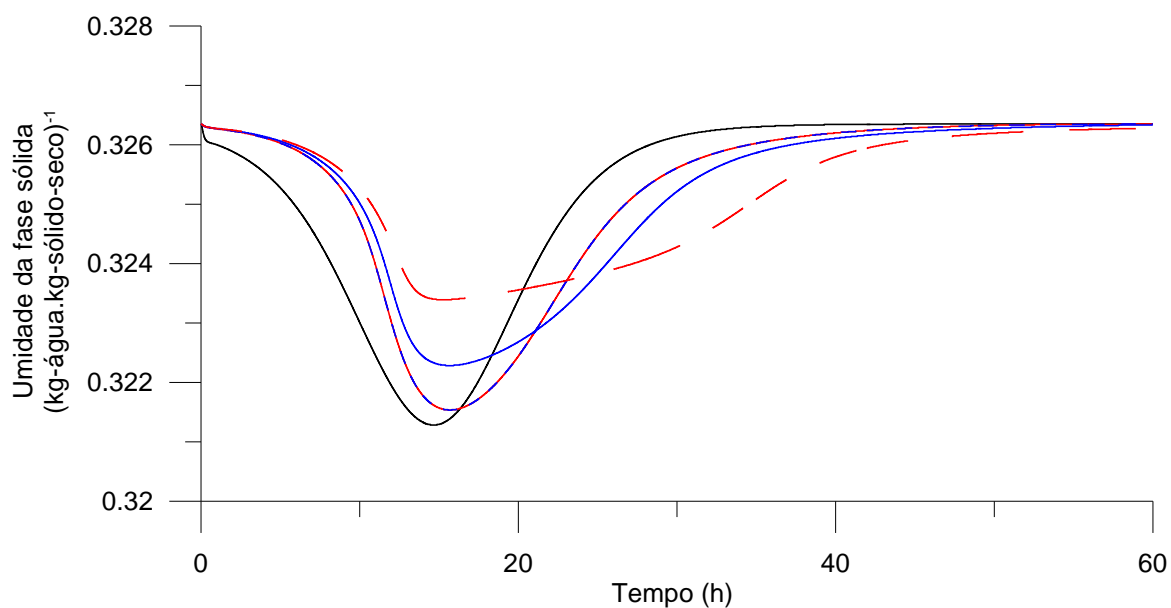


FIGURA 42 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 0,005 m. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Teste 1; (—) Teste 2; (- - -) Teste 3 E (—) Teste 4.

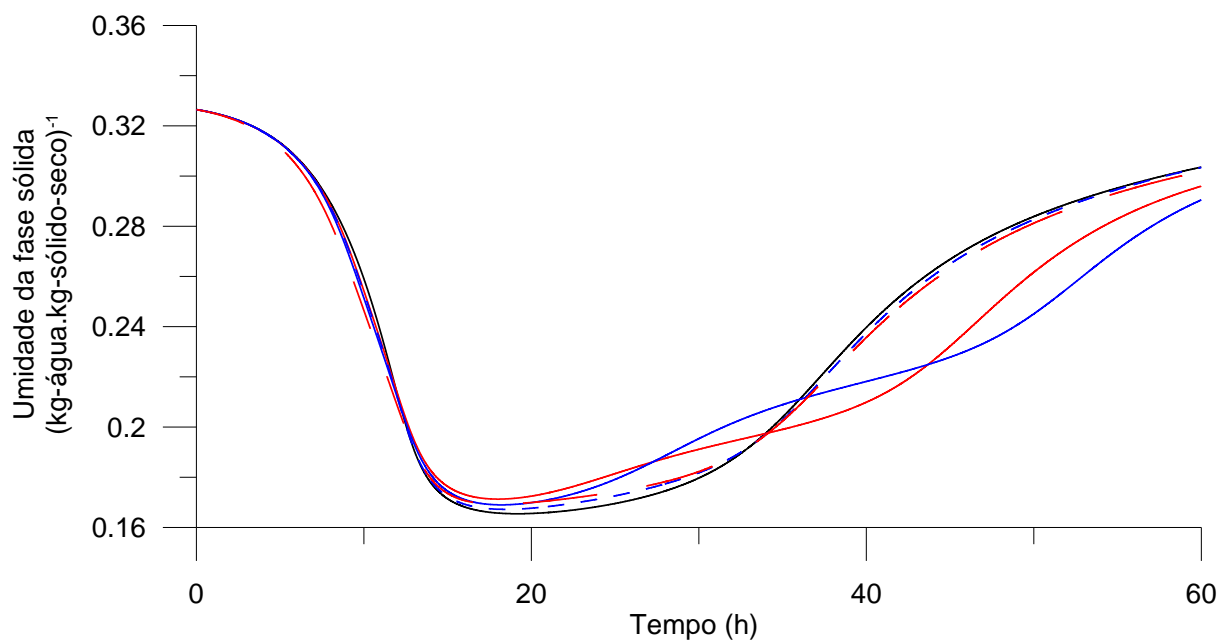


FIGURA 43 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 0,125 m. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Teste 1; (—) Teste 2; (- - -) Teste 3 E (—) Teste 4.

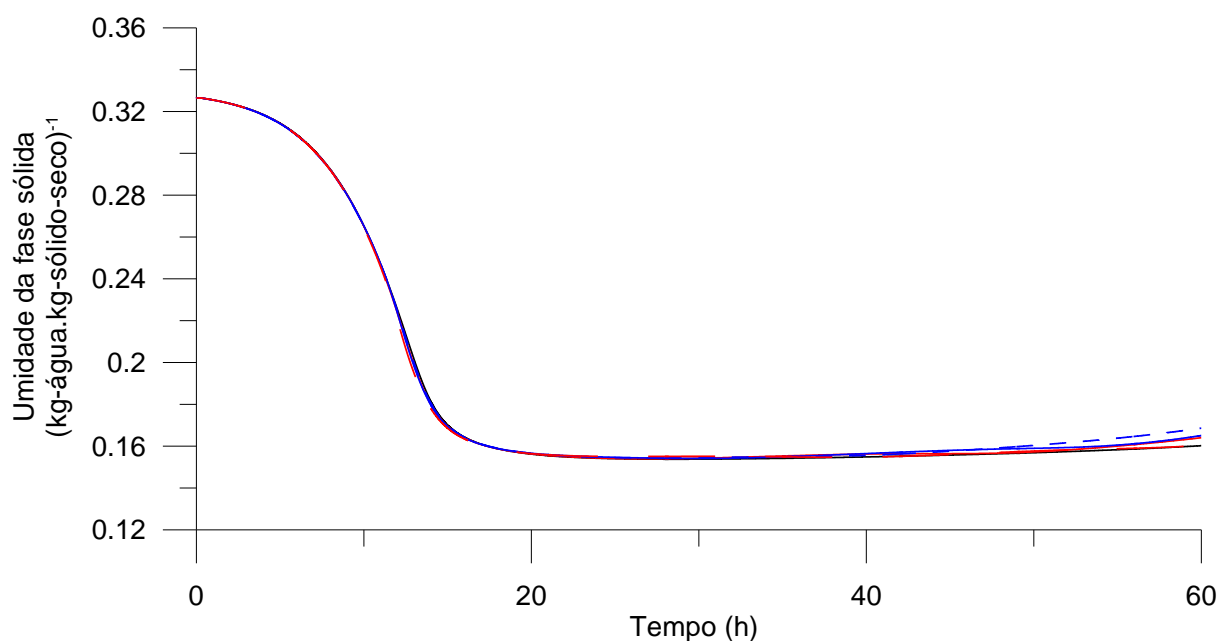


FIGURA 44 – UMIDADE DA FASE SÓLIDA RESULTANTES DO AJUSTE DE CINCO PONTOS DE LEITURAS NA ALTURA DE 0, 420 m. (—) Programa MEIENMOD; (- - -) Teste 1; (—) Teste 2; (- - -) Teste 3 E (—) Teste 4.

De acordo com os resultados gráficos e do coeficiente de correlação, a umidade da fase sólida inferida sofreu os maiores desvios em relação à umidade do modelo preditivo na região mais próxima da entrada de ar. Na FIGURA 42 e na FIGURA 43 o modelo inferiu melhor a umidade da fase sólida nos testes em que a altura da temperatura da fase gasosa fornecida estava mais próxima da altura do leito analisada. Por exemplo, na análise em 0,125 m (FIGURA 43) os testes 1 e 3 apresentaram os melhores resultados da umidade da fase sólida, pois ambos possuem dados da temperatura da fase gasosa em 0,125 m. Por outro lado, na FIGURA 44, independente da distância entre o ponto analisado e a altura de onde foram fornecidas as temperaturas da fase gasosa, o modelo inferiu a umidade de modo semelhante.

O objetivo de inferir a umidade da fase sólida através do modelo de inferência é de utilizar o valor calculado para decidir o momento de iniciar os eventos de agitação com adição de água. Este procedimento aumenta a umidade do leito de modo uniforme e busca evitar que o crescimento do microrganismo seja limitado pela baixa disponibilidade de água. Se o modelo inferir a umidade acima da real o leito poderia ficar ressecado, por outro lado, se for inferida umidade abaixo da real,

poderia ocorrer agitação excessiva do leito, que também limitaria o crescimento de fungos filamentosos.

Conforme os resultados obtidos nesta seção, para que o modelo de inferência obtenha melhores estimativas da umidade do leito e o processo seja melhor controlado, são necessários mais sensores de temperatura na região próxima da entrada de ar. Por outro lado, na região mais afastada da base do leito não são necessários muitos sensores, pois mesmo com dados de temperatura mais afastados entre si, o modelo continua inferindo a umidade sem acentuados desvios.

#### 5.4 FERMENTAÇÕES NO BIORREATOR PILOTO

Três cultivos, de aproximadamente 60 horas, foram realizados no biorreator piloto para testar o modelo de inferência desenvolvido. A mistura de soja com farelo de trigo foi utilizada como substrato.

As temperaturas da fase gasosa, coletadas durante o cultivo, foram inseridas no modelo de inferência após a conclusão da fermentação e os resultados da umidade da fase sólida inferidos pelo modelo foram comparados com os dados experimentais.

##### 5.4.1 Experimento 1

Este foi o primeiro experimento realizado com o leito e o microrganismo no biorreator piloto. Alguns erros operacionais impossibilitaram a utilização dos resultados no modelo de inferência. Entretanto, o experimento propiciou a elaboração de procedimentos para evitar que os erros fossem repetidos.

Os principais problemas observados foram: o excesso de substrato que ultrapassou a capacidade do biorreator, a demora durante as amostragens que geravam grandes variações nas leituras dos termopares e a formação de blocos de substrato quando o leito permaneceu as primeiras 24 horas de cultivo sem agitação.

Os blocos de substrato formados no leito (FIGURA 45) possibilitaram a formação de caminhos preferenciais para o ar que passa por dentro do leito, principalmente nos pontos onde foram realizadas as amostragens para a



determinação da umidade do leito. Com o objetivo de quebrar estes blocos, o leito foi rotado por 10 minutos, mas apenas o tamanho dos blocos foi reduzido. O cultivo continuou por mais algumas horas, porém não ocorreram mais alterações significativas na temperatura da fase gasosa. A formação destes blocos, possivelmente prejudicou o crescimento do fungo devido à limitação de oxigênio. Por isto, decidiu-se agitar o leito quando ocorresse dificuldade de inserir o tubo de amostragem no leito.



FIGURA 45 – BLOCOS DE SUBSTRATO FORMADOS NO INTERIOR DO LEITO DURANTE A PRIMEIRA FERMENTAÇÃO.

#### 5.4.2 Experimento 2

Neste cultivo, a quantidade de substrato foi reduzida e o biorreator foi preenchido até ocupar 35 cm de altura do leito. A altura máxima de leito dentro do biorreator é de 50 cm. As condições operacionais do cultivo que foram utilizados no programa do modelo de inferência estão apresentadas na TABELA 13.

O cálculo da capacidade calorífica do sólido seco foi baseado na propriedade aditiva para misturas. As frações das massas secas da soja e do farelo de trigo na mistura foram multiplicadas pelas capacidades caloríficas dos componentes puros e os resultados foram somados. A equação (81) apresenta o cálculo para a mistura, sendo que a capacidade calorífica utilizada para a soja foi de

2311,78 J.kg-sólido-seco<sup>-1</sup> (SWEAT, 1986) e para o farelo de trigo seco de 1590 J.kg-sólido-seco<sup>-1</sup> (SWEAT, 1986)

$$Cp_s = 0,49 * Cp_{farelo\ de\ trigo} + 0,51 * Cp_{soja} \quad (81)$$

TABELA 13 – CONDIÇÕES OPERACIONAIS UTILIZADAS DURANTE O EXPERIMENTO 2

PARAMETRO/ VARIÁVEL	VALOR	FONTE
Altura do leito (h)	0,35 m	Medido
Velocidade mássica do ar (G)	0,06 kg-ar-seco.s <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup>	Escolhido
Pressão atmosférica (P)	101325 Pa	Himmelblau (1996)
Porosidade do leito (ε)	0,4	Medido
Atividade da água inicial da fase gasosa (aw <sub>go</sub> )	0,99	Escolhido
Umidade inicial da fase sólida (Y <sub>so</sub> )	0,43 kg-água. kg-sólido-seco <sup>-1</sup>	Medido
Massa específica do ar seco (ρ <sub>g</sub> )	1,14 kg-ar-seco.m <sup>-3</sup>	Himmelblau (1996)
Capacidade calorífica do gás seco (Cp <sub>ar</sub> )	1005 J.kg-ar-seco <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
Capacidade calorífica do vapor da água (Cp <sub>v</sub> )	1791 J.kg-vapor-água <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
Capacidade calorífica da água líquida (Cp <sub>l</sub> )	4184 J.kg-água <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
Capacidade calorífica do sólido seco (Cp <sub>s</sub> )	1958,11 J.kg-sólido-seco <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup>	Calculado
Entalpia de evaporação da água (λ)	2414300 J.kg-água <sup>-1</sup>	Himmelblau (1996)
Coeficiente de rendimento do calor metabólico em função do oxigênio (Y <sub>Q/O<sub>2</sub></sub> )	519000 J.mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>	Bailey e Ollis (1986)
Coeficiente de rendimento do gás carbônico em função do oxigênio (Y <sub>CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub></sub> )	1,06 mol-CO <sub>2</sub> .mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>	Nagel et al. (2001)
Coeficiente de rendimento da água metabólica em função do oxigênio (Y <sub>W/O<sub>2</sub></sub> )	1,22 mol-H <sub>2</sub> O.mol-O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>	Nagel et al. (2001)
Massa molar do gás carbônico (MCO <sub>2</sub> )	0,044 kg.mol <sup>-1</sup>	Calculado
Massa molar do gás oxigênio (MO <sub>2</sub> )	0,032 kg.mol <sup>-1</sup>	Calculado
Massa molar da água (MH <sub>2</sub> O)	0,018 kg.mol <sup>-1</sup>	Calculado
Massa específica do sólido seco (ρ <sub>s</sub> )	1152,84 kg-substrato-seco. m <sup>-3</sup> -substrato-seco	Medido
Coeficiente de transferência de massa (K <sub>sa</sub> )	0,4919 kg.s <sup>-1</sup> m <sup>-3</sup>	Calculado
Coeficiente volumétrico efetivo de transferência de calor (ha)	58599,1 J.s <sup>-1</sup> .m <sup>-3</sup> .°C <sup>-1</sup>	Calculado
Constantes de ajuste para as equações 50 e 51	C <sub>1</sub> =0,245; C <sub>2</sub> =0,016; C <sub>3</sub> =2,129; C <sub>4</sub> =-0,005 e C <sub>5</sub> =31,163	Barga (2007)

O biorreator operou com três termopares no interior do leito, além dos sensores na entrada e saída do ar. Entretanto, a leitura do termopar de saída não foi utilizada nos cálculos porque os valores encontrados eram inferiores aos obtidos no último termopar dentro do leito. A temperatura de saída foi considerada igual ao do

último termopar dentro do leito que estava a 33 cm de altura, apenas 2 cm abaixo da altura total do leito durante esta fermentação.

A redução na temperatura do ar de saída provavelmente ocorreu por causa da localização do sensor. Após sair do leito, o ar ficava em contato com *headspace* e as paredes metálicas do biorreator. Somente depois de entrar na tubulação de saída que a temperatura do gás era medida. Durante o período entre a saída do leito e o encontro com o termopar, o gás provavelmente transferiu energia para as paredes do biorreator e diminuiu a temperatura.

O modelo prevê apenas variações de temperatura no sentido axial, porém o leito possui termopares na mesma altura distribuídos horizontalmente. Por isto, foram usados nos cálculos os valores médios dos termopares na mesma altura do leito. Estes valores foram filtrados para eliminar os ruídos dos sensores e os resultados estão nas FIGURAS 46 e 47.

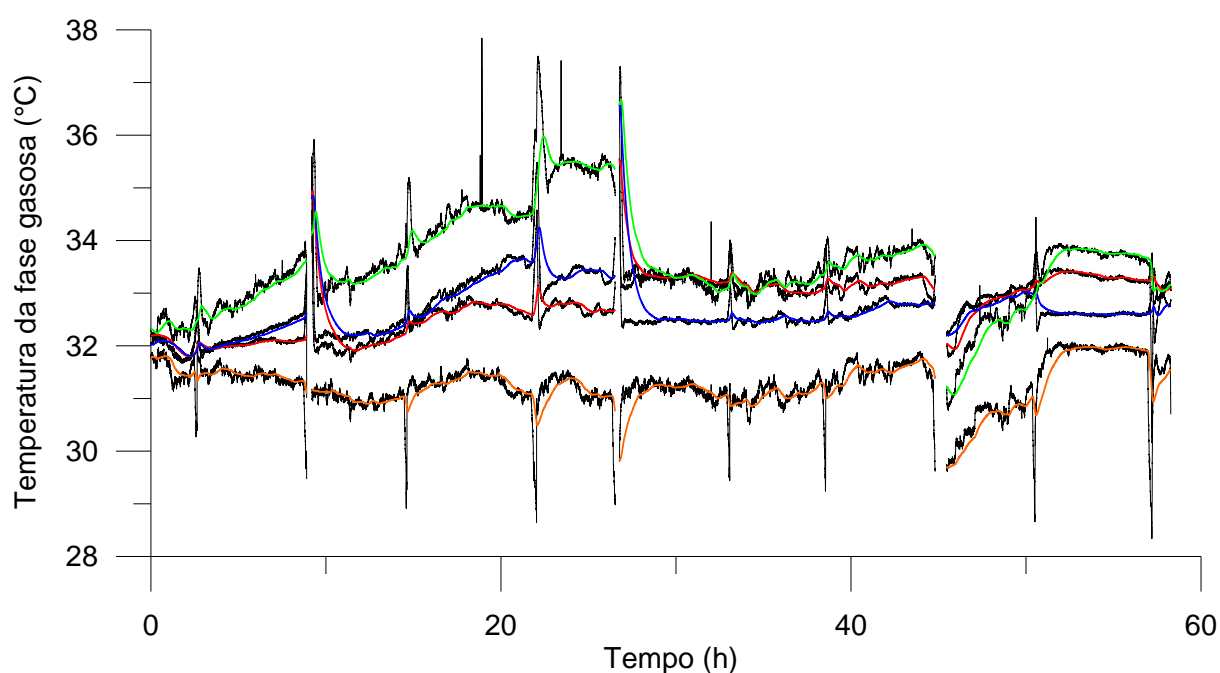


FIGURA 46 – MÉDIAS DAS TEMPERATURAS DA FASE GASOSA, MEDIDAS EM UMA MESMA ALTURA DO LEITO, DURANTE O CULTIVO NO BIORREATOR PILOTO. (—) Temperatura em diferentes alturas sem filtros; (—) Temperatura filtrada na entrada do leito; (—) Temperatura filtrada a 5 cm; (—) Temperatura filtrada a 18 cm; (—) Temperatura filtrada a 33 cm.

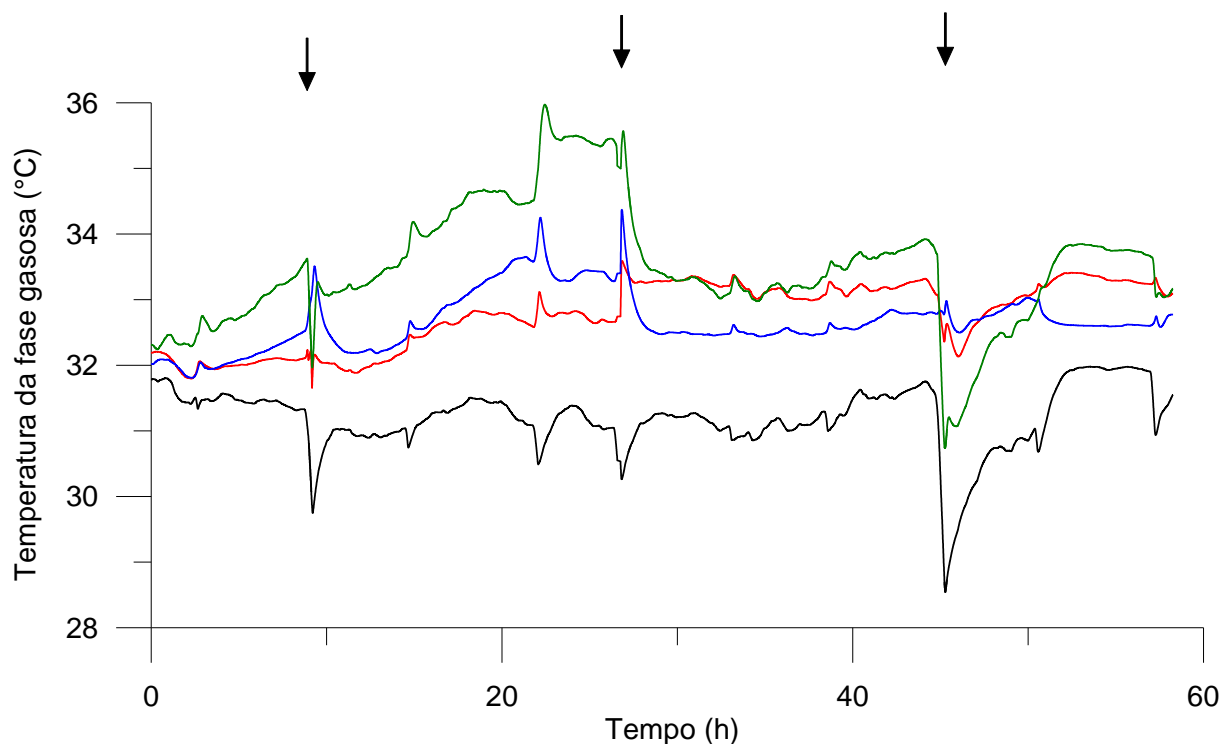


FIGURA 47 – MÉDIAS DAS TEMPERATURAS DA FASE GASOSA, MEDIDAS EM UMA MESMA ALTURA DO LEITO, DURANTE O CULTIVO NO BIORREATOR PILOTO. (—) Temperatura filtrada de entrada; (—) Temperatura filtrada a 5 cm; (—) Temperatura filtrada a 18 cm; (—) Temperatura filtrada a 33 cm; (↓) Agitação do leito.

Os resultados filtrados não ficaram completamente isentos de ruídos, todavia, o aumento do parâmetro  $\tau_F$  no filtro exponencial ou do número de dados no cálculo da média móvel modificava as variações da temperatura. Por este motivo, foram empregadas 15 leituras no cálculo da média móvel e o valor de 0,5 para  $\tau_F$ . Estas foram as condições que reduziram os ruídos sem modificar os perfis das temperaturas.

Nos períodos de agitação, o soprador do biorreator era desligado e os termopares desconectados. Os valores de temperatura armazenados durante a agitação, portanto, não eram relativos ao processo e foram descartados. Ao executar o programa do modelo de inferência, o período sem leituras da temperatura ocasionava erro nos cálculos e o programa interrompia sozinho. Por este motivo, o período total da fermentação foi dividido em quatro partes, conforme os eventos de agitação que estão representados por setas na FIGURA 47.

A cada reinício do programa, a umidade de todo o leito foi considerada a média das umidades anteriores à agitação e a porosidade foi alterada para resultar na concentração volumétrica média de antes da agitação. Caso fosse adicionada

água, a umidade era calculada considerando o volume adicionado. As umidades medidas e inferidas pelo modelo para cada altura do termopar no biorreator estão nas figuras a seguir.

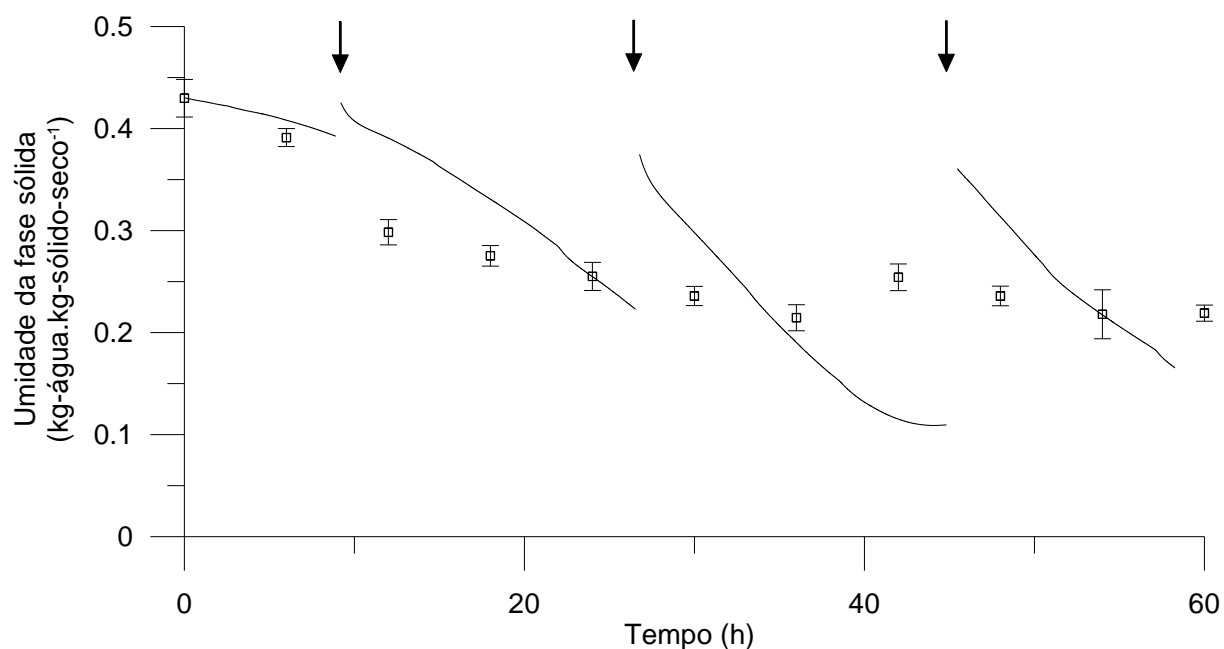


FIGURA 48 – UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO SEGUNDO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 5 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

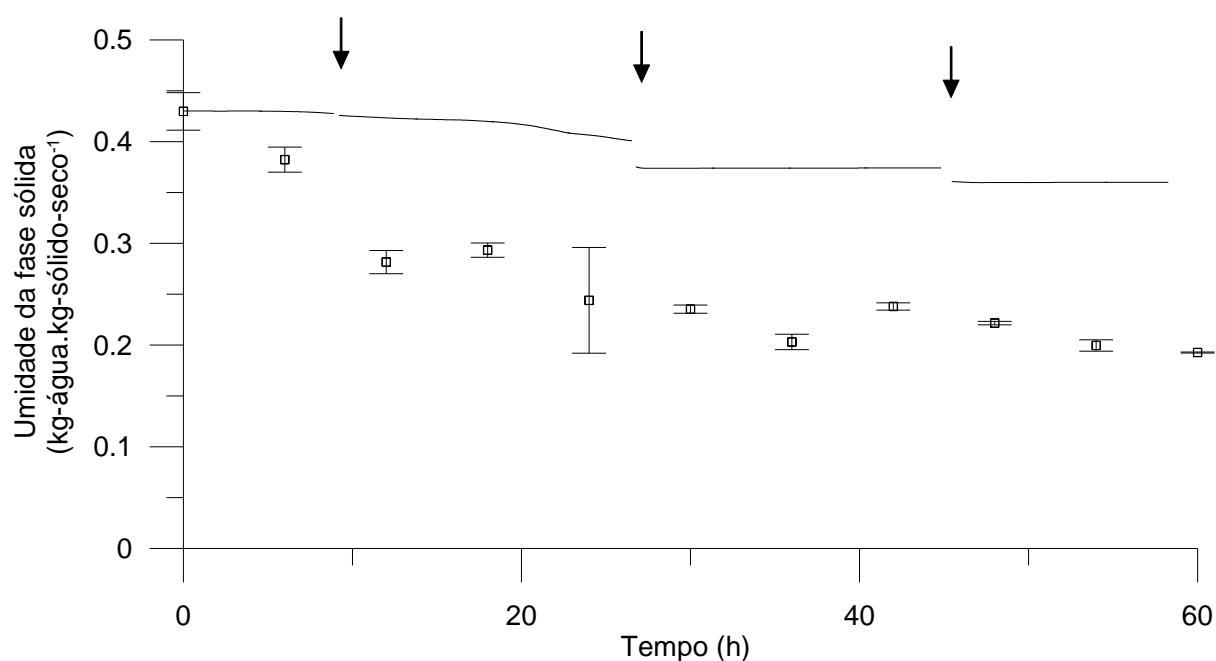


FIGURA 49 – UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO SEGUNDO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 18 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

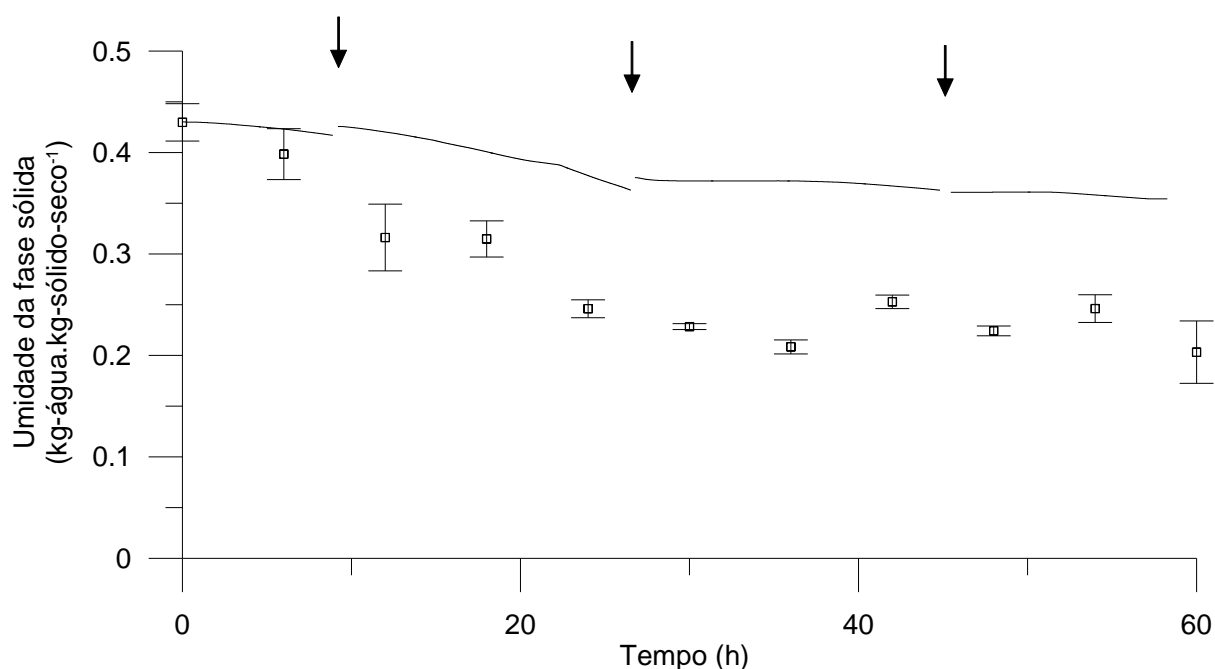


FIGURA 50 – UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO SEGUNDO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 33 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

Na FIGURA 47 pode-se perceber que nas primeiras 24 horas o microrganismo cresceu bem, produziu calor metabólico e elevou a temperatura do ar. Entretanto, depois da segunda agitação, a velocidade de crescimento reduziu e as temperaturas nas diferentes alturas não sofreram grandes variações. Para tentar recuperar o crescimento, foi realizada mais uma agitação e, desta vez, foram adicionados dois litros de água. Após algumas horas de cultivo, o biorreator foi aberto novamente e foram observados esporos, indicando o final da fermentação (FIGURA 51). Nas duas primeiras agitações não foi adicionado água, pois estes eventos foram realizados para evitar a formação dos blocos no leito, observados no experimento 1.

Ao verificar os resultados da umidade do leito após o término da fermentação (FIGURAS 48 a 50), constatou-se que o microrganismo permaneceu entre 24 e 40 horas de cultivo com limitada disponibilidade de água e por isto iniciou o processo de esporulação. A água adicionada junto com a última agitação não foi suficiente para retornar a umidade para as condições ótimas, conseqüentemente o microrganismo não voltou a crescer.

Com relação aos resultados do modelo de inferência, na região mais próxima da entrada de ar (FIGURA 48), o modelo inferiu a redução na umidade de modo mais acentuado do que foi medido experimentalmente. O ressecamento inferido nesta região, também foi mais rápido do que nas porções superiores do leito (FIGURA 49 e FIGURA 50). Por isto, após as duas primeiras agitações a umidade aparece maior do que antes da agitação, mesmo sem ter sido adicionado água.

Os coeficientes de transferência de massa e calor normalmente variam conforme a temperatura do experimento. No programa MEIENMOD, por exemplo, os coeficientes foram calculados e apresentaram valores máximos e mínimos distintos para cada altura do leito (TABELA 14). Entretanto, devido às limitações experimentais, os coeficientes foram considerados constantes nestes cálculos do modelo de inferência.

TABELA 14 – VARIAÇÕES NOS VALORES DOS COEFICIENTES DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA E CALOR NO PROGRAMA MEIENMOD EM DIFERENTES ALTURAS

	Coeficiente de transferência de calor ( $J.s^{-1}.m^{-3}.^{\circ}C^{-1}$ )		Coeficiente de transferência de massa ( $kg.s^{-1}.m^{-3}$ )	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
z=0,01 m	4763,309	4763,599	0,298	0,307
z=0,25 m	4763,309	4808,665	0,020	0,307
z=0,5m	4763,309	4817,450	0,012	0,308

Além disto, a isoterma de sorção utilizada nos cálculos é do trigo moído enquanto que nos experimentos o substrato era uma mistura de soja com farelo de trigo e os coeficientes de rendimento foram retirados do cultivo do fungo sobre grãos de trigo. Estas três aproximações realizadas nos cálculos do modelo de inferência, podem ter sido responsáveis pela superestimação da redução da umidade no termopar localizado a 5 cm de altura e da redução inferior da umidade em relação aos dados experimentais nos termopares a 18 e 33 cm de altura.

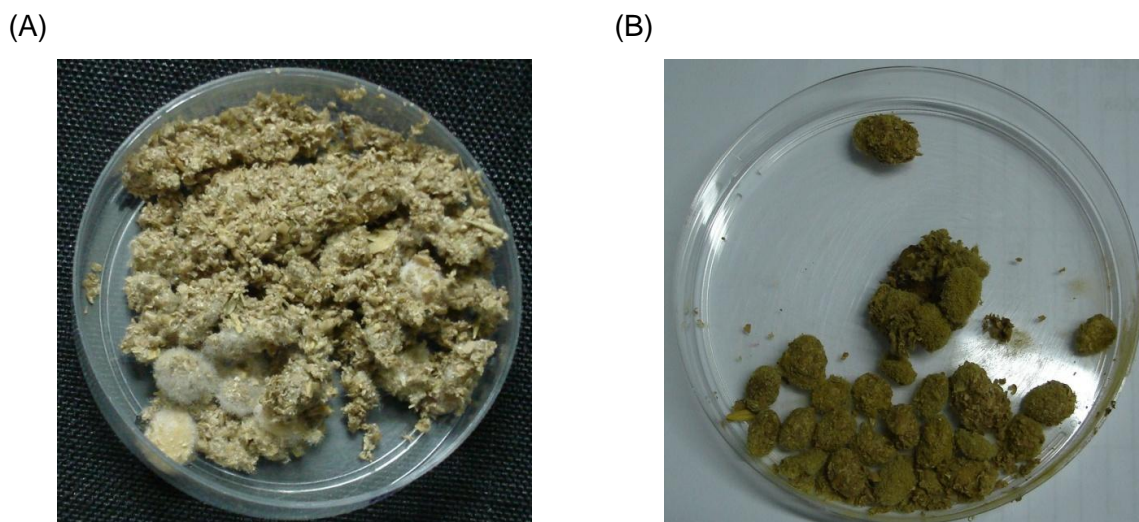


FIGURA 51 – CRESCIMENTO DAS HIFAS SOBRE OS GRÃOS DE SOJA APÓS 24 HORAS DE CULTIVO (A) E O APARECIMENTO DE ESPOROS APÓS 60 HORAS DE CULTIVO (B).

#### 5.4.3 Experimento 3

As condições operacionais para esta fermentação foram idênticas às empregadas no segundo experimento, com exceção da umidade inicial da fase sólida que foi de  $0,4335 \text{ kg-água.kg-sólido-seco}^{-1}$ .

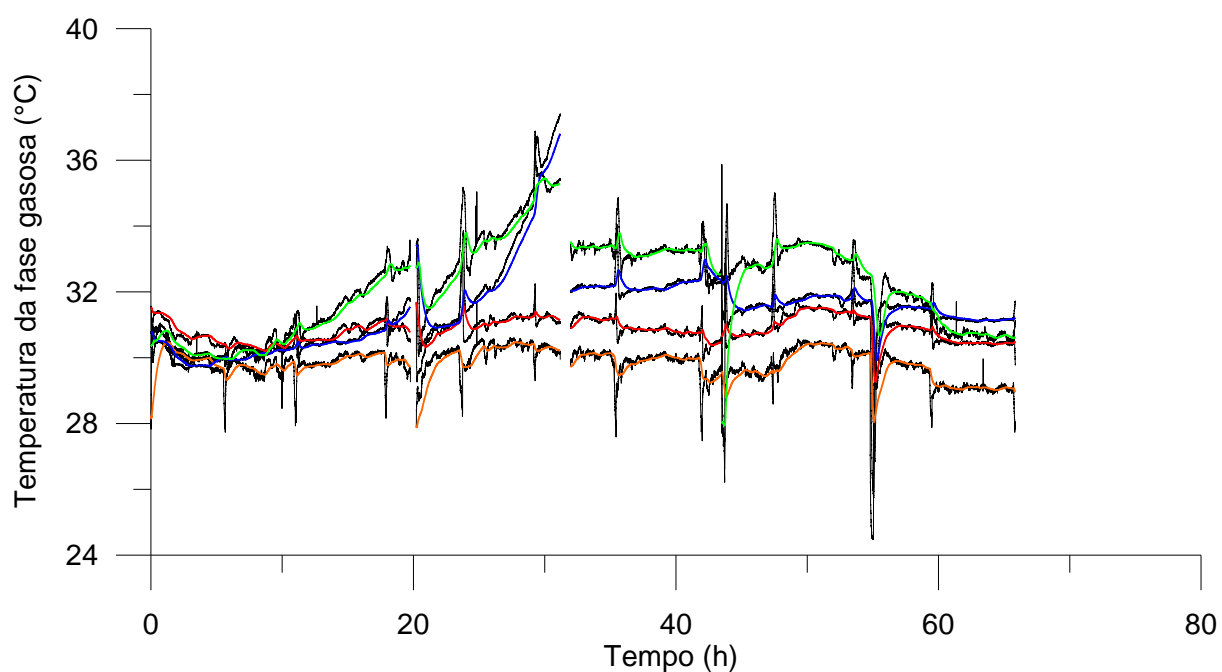


FIGURA 52 – MÉDIAS DAS TEMPERATURAS DA FASE GASOSA, MEDIDAS EM UMA MESMA ALTURA DO LEITO, DURANTE O CULTIVO NO BIORREATOR PILOTO. (—) Temperatura em diferentes alturas sem filtros; (—) Temperatura filtrada na entrada do leito; (—) Temperatura filtrada a 5 cm; (—) Temperatura filtrada a 18 cm; (—) Temperatura filtrada a 33 cm.



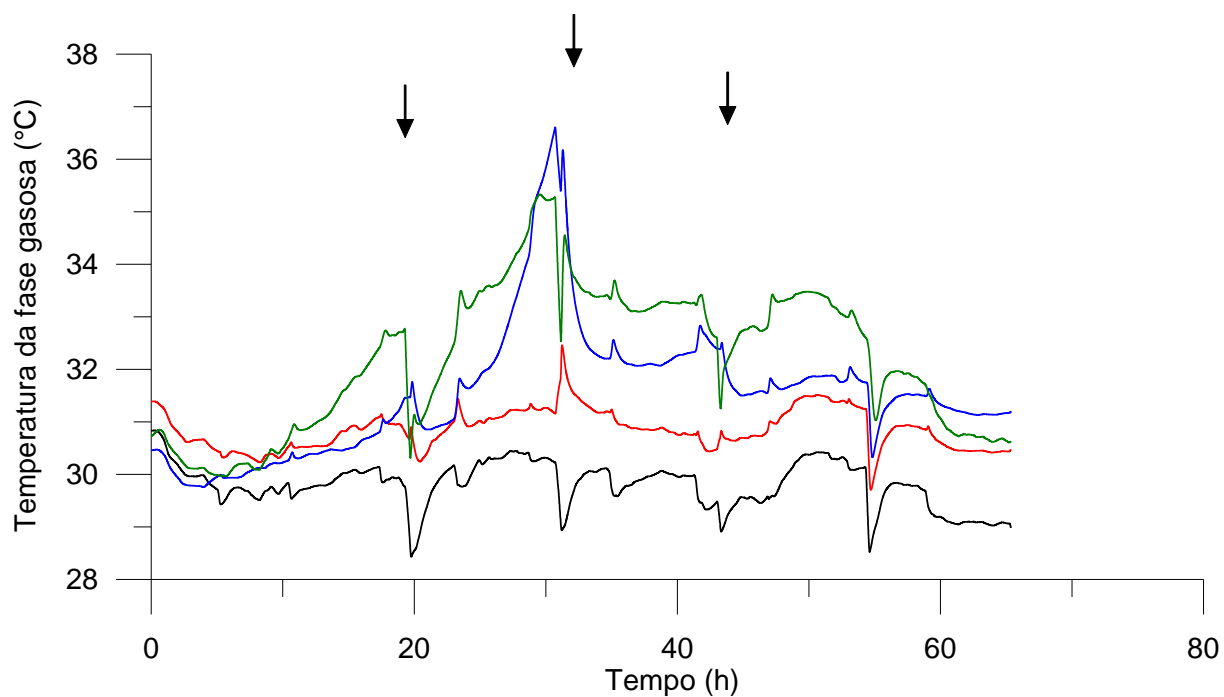


FIGURA 53 - MÉDIAS DAS TEMPERATURAS DA FASE GASOSA, MEDIDAS EM UMA MESMA ALTURA DO LEITO, DURANTE O CULTIVO NO BIORREATOR PILOTO. (—) Temperatura filtrada de entrada; (—) Temperatura filtrada a 5 cm; (—) Temperatura filtrada a 18 cm; (—) Temperatura filtrada a 33 cm.

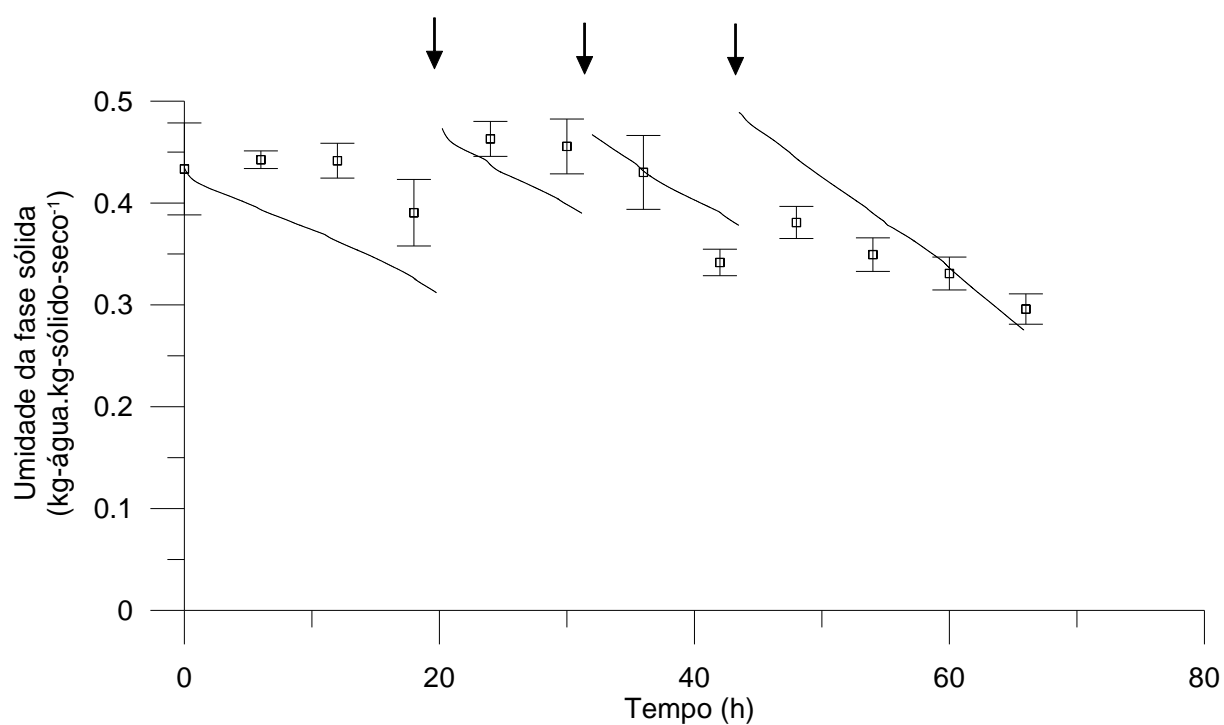


FIGURA 54 - UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO TERCEIRO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 5 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

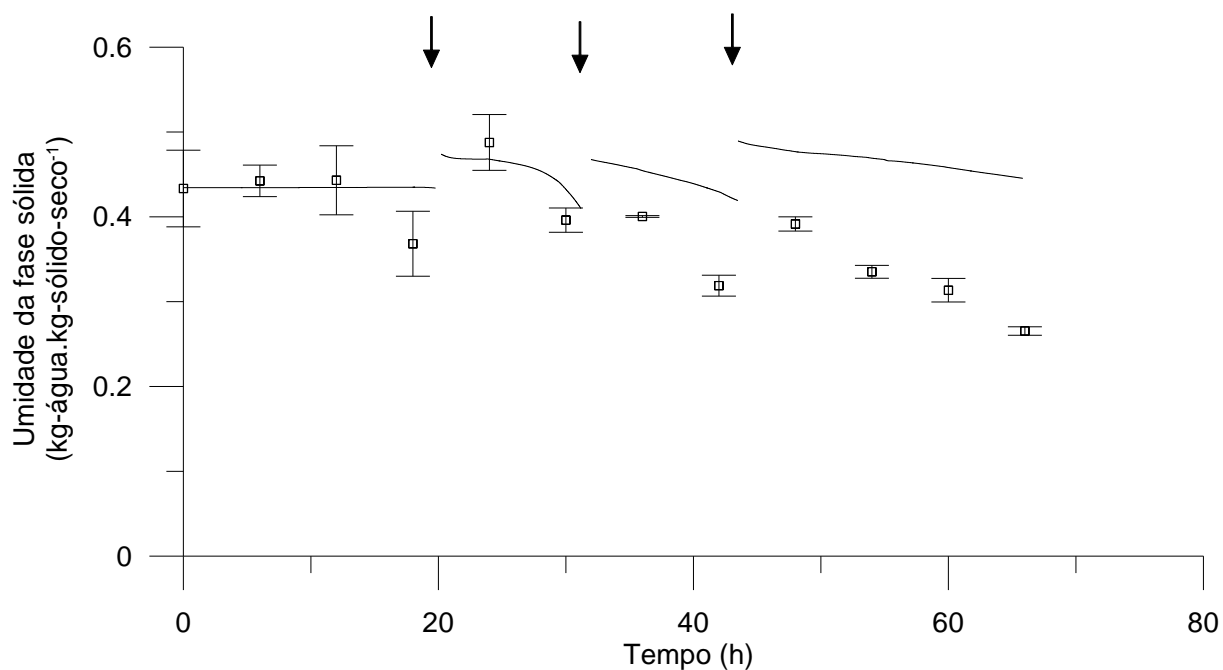


FIGURA 55 - UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO TERCEIRO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 18 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

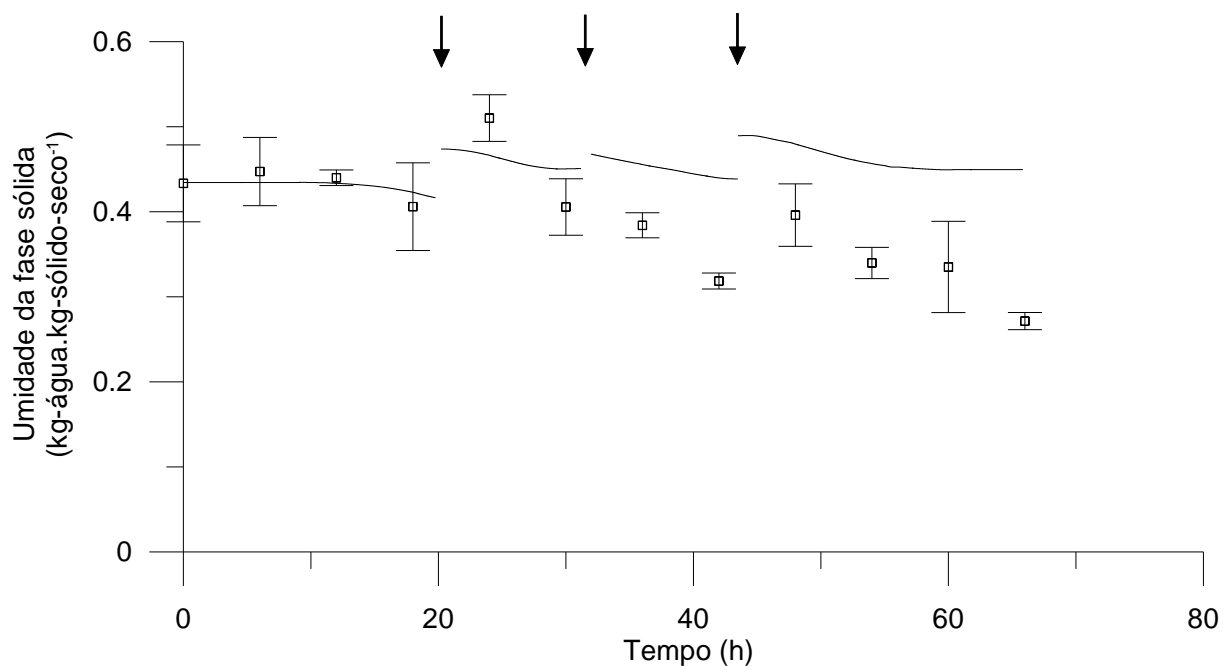


FIGURA 56 - UMIDADES DA FASE SÓLIDA MEDIDAS E INFERIDAS DO TERCEIRO CULTIVO NO BIORREATOR PARA ALTURA DO LEITO DE 33 CM. (□) Média das umidades experimentais; (—) Umidade inferida (↓) Agitação do leito.

Neste experimento ocorreram três eventos de agitação com adição de água. As agitações ocorreram após 20, 32 e 44 horas de cultivo. Os volumes de água destilada adicionados foram quatro, três e seis litros, respectivamente. Na FIGURA 53, a grande variação na temperatura que ocorre em 55 horas de cultivo não foi provocada pela agitação do leito, mas foi causada por um problema na caixa de água que era utilizada para ajustar a temperatura do gás de entrada. A bomba da segunda caixa de água, que estava a 28°C, foi acionada por aproximadamente 45 minutos e, por isto, a temperatura de todo o leito foi reduzida.

Novamente, o modelo inferiu o ressecamento do leito mais rápido do que os dados experimentais na porção inferior do leito (FIGURA 54) e calculou umidades mais elevadas nas outras duas alturas do leito analisadas (FIGURA 55 e FIGURA 56). Entretanto, neste experimento as variações ficaram mais próximas dos dados experimentais.

O objetivo do analisador de gases, nesta dissertação, era utilizar os valores lidos da variação do oxigênio para a validação do modelo de inferência. Nos experimentos 1 e 2 o equipamento não funcionou adequadamente e as leituras apresentavam resultados errôneos, como a concentração do oxigênio acima do valor utilizado na calibração. No experimento 3, a concentração do gás de saída foi medido durante o curso da fermentação (FIGURA 58).

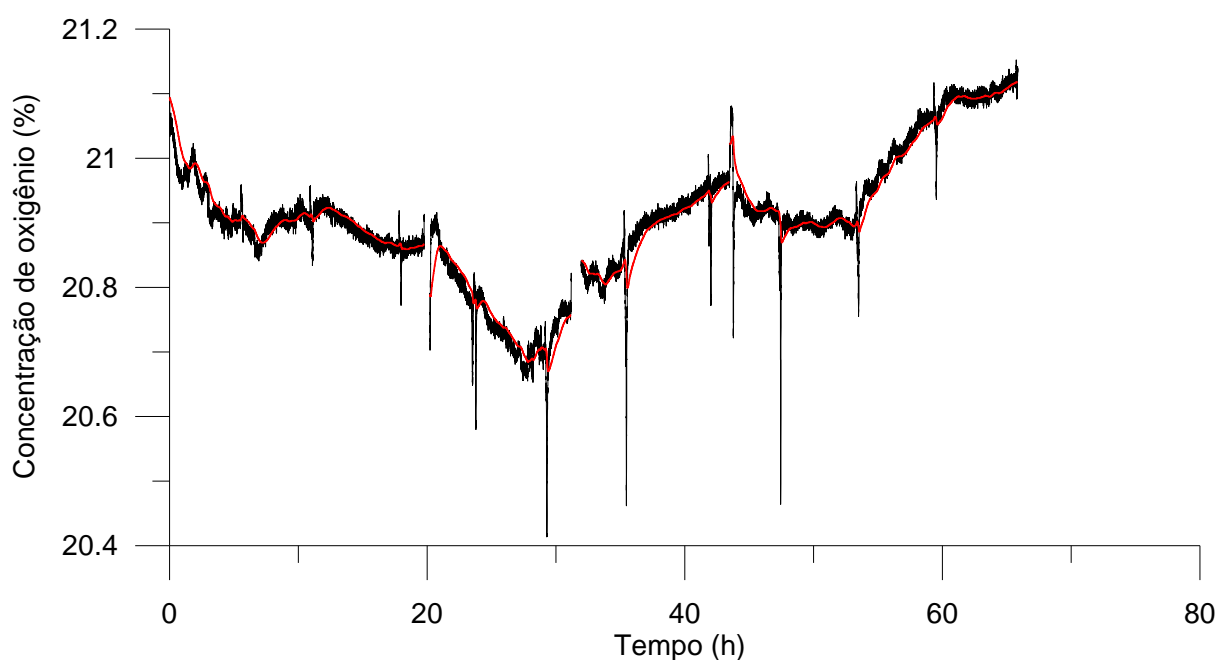


FIGURA 57 – VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE OXIGÊNIO NO GÁS DE SAÍDA DO BIORREATOR DURANTE O EXPERIMENTO 3. (—) Concentração do oxigênio medida; (—) Concentração do oxigênio filtrada.

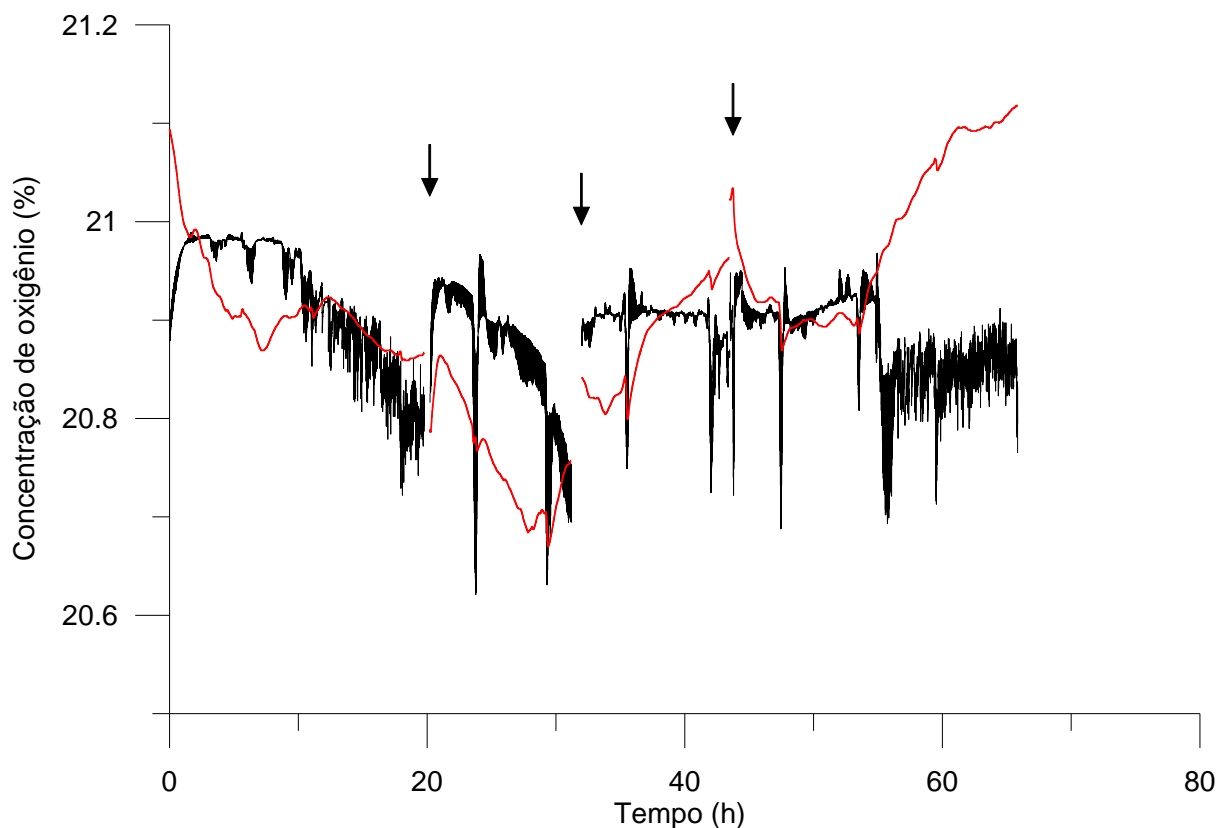


FIGURA 58 – VARIAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE OXIGÊNIO NO GÁS DE SAÍDA DO BIORREATOR DURANTE O EXPERIMENTO 3. (—) Concentração inferida; (—) Concentração filtrada experimental.

O modelo de inferência estimava a taxa de consumo molar de oxigênio para várias alturas dentro do leito, enquanto que o analisador de gases media a concentração molar de oxigênio em porcentagem no gás de saída. Para realizar a comparação da FIGURA 58, foi calculada a concentração molar de oxigênio por metro cúbico considerando que o ar possui 21% molar de  $O_2$  e 79% molar de  $N_2$ .

$$\frac{1,14 \times 10^3 \text{ g-ar-seco}}{\text{m}^3} \cdot \frac{1 \text{ mol de ar}}{29 \text{ g}} \cdot 0,21 = \frac{8,255 \text{ mol de } O_2}{\text{m}^3} \quad (82)$$

Deste valor foi subtraído o consumo de oxigênio de cada parte discretizada do leito e dividido pela quantidade total de moles do ar.

$$\text{conc de oxig (\%)} = \frac{\frac{8,255 \text{ mol de } O_2}{\text{m}^3} - \sum \left\{ \frac{dG_{O_2}}{dt} \cdot \left[ \frac{\Delta z}{(G/\rho_g)} \right] \right\}}{\frac{39,32 \text{ mol de ar}}{\text{m}^3}} \cdot 100 \quad (83)$$

Nesta equação o símbolo  $\Delta z$  é o passo na altura do leito em metros,  $G$  é o fluxo mássico de ar e  $\rho_g$  a massa específica do ar seco.

Apesar do consumo de oxigênio estimado não ser precisamente igual ao medido pelo analisador de gases, o modelo estimou corretamente as tendências de redução e aumento na concentração do oxigênio até 32 horas de cultivo, quando o microrganismo apresentava crescimento rápido. Após a segunda agitação, o consumo estimado sofreu maiores desvios em relação à concentração medida, principalmente após 60 horas de cultivo. Tanto nos resultados não filtrados da FIGURA 57 como nos valores estimados da FIGURA 58 aparecem alguns picos com acentuada redução na concentração do oxigênio (24h – 30h). Estas variações podem estar relacionadas com os momentos de amostragem do leito para a determinação da umidade. Durante a coleta amostras, o soprador era desligado, mas o microrganismo continuava a consumir oxigênio e a elevar a temperatura da fase gasosa que permanecia dentro do leito. Ao religar o soprador, a fase gasosa com reduzida concentração de oxigênio e temperatura elevada era removida de dentro do leito causando os picos no analisador de gases e no modelo de inferência, respectivamente.

A umidade da fase sólida inferida pelo modelo apresentou boa correlação com os dados do programa preditivo, mesmo quando foi fornecido ao modelo temperaturas da fase gasosa em poucas alturas. Entretanto, quando o modelo foi testado com os dados experimentais, as variações da umidade da fase sólida não foram inferidas adequadamente. Caso o programa fosse executado durante as fermentações, os eventos de agitação seriam mais freqüentes do que o necessário, pois as umidades inferidas na altura de 5 cm sofreram redução mais acentuada do que os dados experimentais.

Todavia, o modelo realizou os cálculos dos dados experimentais com valores constantes dos coeficientes de transferência de massa e calor, com o ajuste da isoterma de trigo moído e com os coeficientes de rendimento descritos por Nagel et al.(2000) para o crescimento do mesmo fungo sobre grãos de trigo. Todos estes itens citados possuem grande influência nos cálculos da umidade da fase sólida e, por não serem específicos para o cultivo realizado, podem ter sido os responsáveis pelos desvios observados.

## 6 CONCLUSÃO

Este trabalho apresentou o desenvolvimento de um modelo de duas fases para a determinação indireta da umidade do leito de um biorreator de fermentação no estado sólido. O modelo inferia a umidade a partir da temperatura da fase gasosa medida em diferentes alturas no interior do leito.

Durante o desenvolvimento do modelo de inferência foi programado um modelo preditivo da fermentação no estado sólido para realização de testes no modelo de inferência. Nos testes realizados, observou-se que as maiores discrepâncias entre os valores inferidos e os calculados pelo modelo preditivo ocorriam na região mais próxima da entrada de ar. Assim, existe necessidade de maior quantidade de sensores de temperatura na região inferior do leito para que as umidades inferidas fiquem mais próximas das calculadas pelo modelo preditivo. Por outro lado, a necessidade de sensores na região mais alta do leito é menor, pois distâncias maiores entre dois sensores não resultam em grandes variações na umidade calculada.

O modelo de inferência foi testado também em relação às medidas realizadas durante cultivos no biorreator piloto de fermentação no estado sólido. Nos dois experimentos realizados, a umidade inferida na altura de 5 cm reduzia mais rapidamente do que a umidade experimental, enquanto que nas alturas de 18 e 33 cm a umidade reduzia mais lentamente do que os dados experimentais. Estas diferenças podem ter sido provocadas pela isoterma de sorção e pelos coeficientes de rendimento que não eram específicos para o sistema experimental. Além disto, podem também ter ocorrido devido aos coeficientes de transferência de massa e calor que permaneceram constantes durante toda a simulação. Nas estimativas do modelo preditivo de fermentação no estado sólido o coeficiente de transferência de massa sofreu redução para até 3% do valor máximo.

Sendo assim, baseado nos resultados estimados a partir dos dados do modelo preditivo, o modelo de inferência tem potencial para ser empregado em experimentos reais. Porém, seria necessário determinar as equações específicas do substrato utilizado na fermentação para a validação do modelo.

Nos trabalhos futuros, além de buscar melhores estimativas para os coeficientes de rendimento e para os coeficientes de transferência de massa e calor, seria importante incorporar um termo de manutenção da atividade metabólica na

equação da produção de calor metabólico gerado e considerar as variações que ocorrem na isoterma de sorção devido ao crescimento do microrganismo, conforme foi apresentado por Marques et al. (2006).

Na parte experimental seria interessante a manutenção de cultivos regulares no biorreator piloto. Como ainda não são disponíveis comercialmente sensores da umidade do leito possíveis de serem utilizados no controle do sistema é necessária a realização de alguns experimentos para evitar tanto o ressecamento como a hidratação excessiva do leito.

## REFERÊNCIAS

- ASHLEY, V.M.; MITCHELL, D.A.; HOWES, T. Evaluating strategies for overcoming overheating problems during solid state fermentation in packed bed bioreactors. **Biochem Eng J.** v.3 p.141–50, 1999
- AURIA, R.; MORALES, M.; VILLEGAS, E.; REVAH, S. Influence of mold growth on the pressure drop in aerated solid state fermentors. **Biotech Bioeng.** v.41 p.1007–13, 1993
- BAILEY, J.E.; OLLIS, D.F. **Biochemical Engineering Fundamentals.** Mc Graw-Hill Education, p.292-293, 1986
- BANDELIER, S.; RENAUD, R.; DURAND, A. Production of gibberellic acid by fed-batch solid state fermentation in an aseptic pilot-scale reactor. **Process Biochem.** v.32 p.141–5, 1997
- BARGA, M.C. **Modelo de inferência para a determinação da umidade do leito de um biorreator piloto de fermentação no estado sólido.** Dissertação de Mestrado – UFPR, 2007
- BARRIOS-GONZALEZ, J.; TOSMANI, A. Production of aflatoxins in solid state fermentation. **J Sci Ind Res.** v.55 p.424–30, 1996
- BARSTOW, L.M.; DALE, B.E.; TENDERDY, R.P. Evaporative temperature and moisture control in solid substrate fermentation. **Biotechnol. Techniques** v.2 p.237-42, 1988
- BELLON-MAUREL, V.; ORLIAC, O.; CHRISTEN, P. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. **Process Biochemistry** v.38 p.881-96, 2003
- BOYCE, D.S. Grain moisture and temperature changes with position and time during through drying. **J. Agric Res.** V.10 p.333-341, 1965
- CALADO V.M.A. **Secagem de cereais em leito fixo de fluxos cruzados.** Tese de Doutorado - UFRJ, 1993
- CALÇADA, L.A. **Secagem de materiais granulares porosos.** Tese de Doutorado – UFRJ, 1998
- CHAMIELEC, Y.; RENAUD, R.; MARATRAY, J.; ALMANZA, S.; DIEZ, M.; DURAND, A. Pilot-scale reactor for aseptic solid-state cultivation. **Biotech Techniques.** V.8 p.245–8, 1994
- CHIU, S.W.; CHAN, S.M. Production of pigments by *Monascus purpureus* using sugarcane bagasse in roller bottle cultures. **World J Microbiol Biotechnol.** v.8 p.68–70, 1992
- CHRISTEN, P.; MEZA, J.C.; REVAH, S. Fruity aroma production of solid state fermentation by *Ceratocystis fimbriata*: influence of the substrate type and the presence of precursors. **Mycol Res.** v.101 p.911–9, 1997
- DAIGLE, D.J.; CONNICK, W.J.; BOYETTE, C.D.; JACKSON, M.A.; DORNER, J.W. Solid state fermentation plus extrusion to make biopesticide granules. **Biotechnol Tech.** v.12 p.715–9, 1998
- DURAND, A.; CHEREAU, D. A new pilot reactor for solid-state fermentation: Application to the protein enrichment of sugar beet pulp. **Biotech Bioeng.** v.31 p.476–86, 1988
- DURAND, A.; RENAUD, R.; MARATRAY, J.; ALMANZA, S.; DIEZ, M. INRA-Dijon reactors for solid state fermentation: designs and applications. **J Sci Ind Res.** v.55 p.317-32, 1996
- ELLAIAH, P.; SRINIVASULU, B.; ADINARAYANA, K. Optimisation studies on neomycin production by a mutant strain of *Streptomyces marinensis* in solid state fermentation. **Process Biochemistry** v.39 p.529-34, 2004



ELLIS, S.P.; GRAY, K.R.; BIDDLESTONE, A.J. Mixing evaluation of a Z-blade mixer developed as a novel solid state bioreactor. **Food and Bioproducts Processing** v.72 p.158–62, 1994

FACKLER, K.; GRADINGER, C.; HINTERSTOISSER, B.; MESSNER, K.; SCHWANNINGER, M. Lignin degradation by white rot fungi on spruce wood shavings during short-time solid-state fermentations monitored by near infrared spectroscopy. **Enzyme and Microbial Technology** v.39 p.1476-83, 2006

FERNÁNDEZ, M.; PÉREZ-CORREA, J.R.; Instrumentation for Monitoring SSF Bioreactors. In: MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; BEROVIC, M., **Solid State Fermentation Bioreactors: Fundamental of Design and operation**. 1. ed. Verlag Berlin Heidelberg:Springer, 2006. p.363-374

FERNÁNDEZ, M.; ANANÍAS, J.; SOLAR, I.; PEREZ, R.; CHANG, L.; AGOSIN, E. Advances in the development of a control system for a solid substrate pilot bioreactor. In: ROUSSOS, S.; LONSANE, B.K.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZÁLEZ, G.; **Advances in solid state fermentation**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997. p. 155-168

FERNANDEZ, M.; PEREZ-CORREA, J.R.; SOLAR, I.; AGOSIN, E. Automation of a solid substrate cultivation pilot reactor. **Bioprocess Eng.** v.16 p.1–4, 1996

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; PÉREZ-CORREA, J.P. Realistic modelo f a solid substrate fermentation packed-bed bioreactor. **Process Biochemistry** v.42 p. 224-234, 2006

FOONG, C.W.; JANAUN, J.; KRISHNAIAH, K.; PRABHAKAR, A. Effect of superficial air velocity on solid state fermentation of palm kernel cake in a lab scale fermenter using locally isolated fungal strain. **Industrial Crops and Products** v.30 p.114-8, 2009

GHILDYAL, N.P.; GOWTHAMAN, M.K.; RAGHAVA RAO, K.S.M.S.; KARANTH, N.G. Interaction between transport resistances with biochemical reaction in packed-bed solid-state fermentors: Effect of temperature gradients. **Enzyme Microb Technol.** v.16 p.253–7, 1994

GLENN, D.R.; ROGERS, P.L.; A solid substrate fermentation process for an animal feed product: Studies on fungal strain improvement. **Australian Journal of Biotechnology**. v.2 p. 50-57, 1988

GONZÁLEZ-SEPÚLVEDA, M.; AGOSIN, E. Capture of volatile metabolites for tracking the evolution of gibberellic acid in a solid-state culture of *Gibberella fujikuroi*. **Biotech Lett.** v.22 p.1849-54, 2000

GOWTHAMAN, M.K.; GHILDYAL, N.P.; RAGHAVA RAO, K.S.M.S.; KARANTH, N.G. Interaction of transport resistances with biochemical reaction in packed-bed solid state fermentors: The effect of gaseous concentration gradients. **J Chem Technol Biotech.** v.56 p.233–9, 1993

GUTIERREZ-ROJAS, M.; HOSN, S.A.A.; AURIA, R.; REVAH, S.; FAVELA-TORRES, E. Heat transfer in citric acid production by solid state fermentation. **Process Biochemistry** v.31 p.363-9, 1996

HARDIN, M.T.; MITCHELL, D.A. Recent developments in the design, operation and modelling of bioreactors for solid-state fermentation. **Recent Research Developments in Fermentation and Bioengineering** v.1 p.205-22, 1998

HIMMELBLAU, D.M. **Basic Principles and Calculations in Chemical Engineering**, 6.ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, 1996

HÖLKER, U.; LENZ, J. (2005) Solid-State fermentation – Are there any biotechnological advantages? **Current opinion in Microbiology** v.8 p.301-6, 2005

ISHIDA, H.; HATA, Y.; KAWATO, A.; ABE, Y.; SUGINAMI, K.; IMAYASU, S. Identification of functional elements that regulate the glucoamylase-encoding gene (glab) expressed in solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. **Curr Genet.** v.37 p.373-9, 2000

- IZUMI, M. **Koji making Method**, United States Patent n. 4.048.340, 1977
- KASTANEK, F.; DEMMEROVA, K.; PAZLAROVA, J.; BURKHARD, J.; MALETEROVA, Y. Biodegradation of polychlorinated biphenyls and volatile chlorinated hydrocarbons in contaminated soils and ground water in field conditions. **Int Biodeter Biodegr.** v.44 p.39–47, 1999
- KHANAHMADI, M.; ROOSTAAZAD, R.; MITCHELL, D.A.; MOKHTAR, M.; BOZORGMEHRI, R.; SAFEKORDI, A. Bed moisture estimation by monitoring of air stream temperature rise in packed-bed solid-state fermentation. **Chemical Engineering Science** v.61 p.5654-63, 2006
- KLEIN, J. Application Of Bioreactors For Bioremediation In: WISE D.L. (ed.), **Global Environmental Biotechnology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997 p. 489–504.
- KOTA, K.P.; SRIDHAR, P. Solid state cultivation of *Streptomyces clavuligerus* for cephamycin C production. **Process Biochem.** v.34 p.325–8, 1999
- LEANGON, S.; MADDOX, I.S.; BROOKS, J.D. Influence of the gly-colytic rate on production of citric acid and oxalic acid by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. **World J Microbiol Biotechnol.** v.15 p.493–5, 1999
- LEKHA, P.K.; LONSANE, B.K. Comparative titers, location and properties of tannin-acyl-hydrolase produced by *Aspergillus niger* PKL 104 in solid-state, liquid surface and submerged fermentations. **Proc Biochem.** v.29 p.497–503, 1994
- LOTONG, N.; SUWANARIT, P. Production of Soy Sauce *Koji* Mold Spore Inoculum in Plastic Bags. **Applied and Environmental Microbiology**, v.46 p. 1224-1226, 1983
- LU, M.Y.; MADDOX, I.S.; BROOKS, J.D. Application of a multi-layer packed bed reactor to citric acid production in solid state fermentation using *Aspergillus niger*. **Process Biochem.** v.33 p.117–23, 1998
- LÜTH, P.; EIBEN, U. **Solid-state fermenter and method for solid-state fermentation**. World Patent N. WO 99/57239, 1999
- MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. Biosurfactant production by microorganisms on unconventional carbon sources. **J Surfact Detergents** v.2 p.237–41, 1999
- MANCINI, M.C. **Transferência de massa em secadores de grãos**. Tese de Doutorado - UFRJ, 1996
- MARQUES, B.C.; BARGA, M.C.; BALMANT, W.; LUZ JR, L.F.L.; KRIEGER, N.; MITCHELL, D.A. A model of the effect of the microbial biomass on the isotherm of the fermenting solids in solid state fermentation. **Food Technology and Biotechnology** v.44 p.457-63, 2006
- MASAPHY, S.; LEVANON, D.; HENIS, Y. Degradation of atrazine by the lignocellulolytic fungus *Pleurotus pulmonarius* during solid state fermentation. **Biores Technol.** v.56 p.207–14, 1996
- MEDEIROS, A.B.P.; PANDEY, A.; FREITAS, R.J.S.; CHRISTEN, P.; SOCCOL, C.R. Optimization of the production of aroma compounds by *Kluyveromyces marxanus* in solid-state fermentation using factorial design and response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal** v.6 p.33–9, 2000
- MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; BEROVIC, M., **Solid State Fermentation Bioreactors: Fundamental of Design and operation**. 1. ed. Verlag Berlin Heidelberg:Springer, 2006
- MITCHELL, D.A.; BEROVIC, M.; KRIEGER, N. Biochemical engineering aspects of solid state bioprocessing. **Adv Biochem Eng/Biotech.** v.68 p.61–138, 2000
- MITCHELL, D.A.; STUART, D.M.; TANNER, R.D. Microbial growth kinetics solid state fermentation. In: FLICKINGER, M.C., DREW, S.W. (Eds) **The encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation**. John Wiley, New York, 1999. v.5. p 2407-2429.

NAGEL, F.J.I.; TRAMPER, S.N.; BAKKER, M.S.N; RINZEMA, A. Model for on-line moisture content in a mist bioreactor for solid-state fermentation. **Biotechnology Bioengineering Journal** v.72 p.231-43, 2000

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Savier, 2002

OOSTRA, J.; LE COMTE, E. P.; VAN DEN HEUDEL, J. C.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Intra-particle oxygen diffusion limitation in solid-state fermentation. **Enzyme Microb. Technol.**,v.27 p. 652-63, 2001

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; RODRIGUEZ-LEON, J.; NIGAM, P. **Solid-State Fermentation in Biotechnology**. New Delhi: Asiatech Publishers Inc., 2001

PANDEY, A; RADHAKRISHNAN, S. The production of glucoamylase by *Aspergillus niger* NCIM 1245. **Process Biochem.** v.28 p.305–9, 1993

Pasa, B.C.; **Relatório de projeto de iniciação científica**. Departamento de Ciências Agrárias – URI Campus Erechim, Erechim, 2002

PASTTRANA, L.M.; GONZALEZ, M.P.; PINTADO, J.; MURADO, M.A. Interactions affecting gibberellic acid production in solid state fermentation. **Enzyme Microb Technol.** v.17 p.784–90, 1995

PELCZAR Jr., J.M.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R.; EDWARDS, D.D.; PELCZAR, M.F. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**. 2.ed. v.1 São Paulo: Makron Books, 1996

PEÑA Y LILLO, M.; CORREA, R.P.; AGOSIN, E.; LATRILLE, E. Indirect measurement of Water Content in an Aseptic Solid Substrate Cultivation Pilot-Scale Bioreactor. **Biotechnol Bioeng.** v.76 p.44-51, 2001

PÉREZ-CORREA, J.R.; AGOSIN, E. Automation os solid-substrate fermentation processes. In: FLICKINGER, M.C., DREW, S.W. (Eds) **The encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation**. John Wiley, New York, 1999 v.5 p. 2429-2446.

PETZOLD, L.R.; RENAN, K.E.; CAMPBELL, S.L.; **Numerical Solution of Initial-Value Problems in Differential-algebraic Equations**. New York: Elsevier, 1989

RAHARDJO, Y.S.P.; WEBER, F.J.; HAEMERS, S.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Aerial mycelia of *Aspergillus oryzae* accelerate alfa-amylase production in a model solid-state fermentation system. **Enzyme and Microbial Technology** v.36 p.900–2, 2005

RATHBUN, B.L.; SHULER, M.L. Heat and mass transfer effects in static solid–substrate fermentations: Design of fermentation chambers. **Biotechnol Bioeng.** v.25 p.929–38, 1983

REID, R.C.; PRAUSNITZ, J.M.; SHERWOOD, T.K. **The Properties of Gases and Liquids** 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1977

ROBINSON, T.; NIGAM, P. Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal** v.13 p.197–203, 2003

RODRÍGUEZ COUTO, S.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to lignolytic enzyme production. **Biochemical Engineering Journal** v.22 p.211-9, 2005

ROUSSOS, S.; RAIMBAULT, M.; PREBOIS, J-P.; LONSANE, B.K. Zymotis, a large scale solid state fermenter. **Appl Biochem Biotechnol.** v.42 p.37-52, 1993

RYOO, D.; MURPHY, V.G.; KARIM, M.N.; TENDERDY, R.P. Evaporative temperature and moisture control in a rocking reactor for solid substrate fermentation. **Biotechnl. Techniques** v.5 p.19-24, 1991

SARGANTANIS, J.; KARIM, M.N.; MURPHY, V.G.; RYOO, D. TENDERDY, R.P. Effect os operating conditions on solid substrate fermentation. **Biotechnol. Bioeng.** v.42 p. 149-158, 1993

SATO K, SUDO S Small-scale solid-state fermentations. In: Demain AL, Davies JE (eds) **Manual of industrial microbiology and biotechnology**, 2. ed. Washington DC:ASM Press, p.61–79, 1999

SAUCEDO-CASTANEDA, G.; GUTIERREZ-ROJAS, M.; BACQUET, G.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZALEZ, G. Heat transfer simulation in solid substrate fermentation **Biotechnol Bioeng**. v.35 p. 802-808, 1990

SAUCEDO-CASTANEDA, G.; LONSANE, B.K.; KRISHNAIAH, M.M.; NAVARRO, J.M.; ROUSSOS, S.; RAIMBAULT, M. Maintenance of heat and water balances as a scale-up criterion for the production of ethanol by *Schwanniomyces castellii* in a solid state fermentation system. **Process Biochem**. v.27 p.97–107, 1992

SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; TREJO-HERNÁNDEZ, M.R.; LONSANE, B.K.; NAVARRO, J.M.; ROUSSOS, S.; DUFOUR, D.; RAIMBAULT, M. On-line automated monitoring and control system for CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in aerobic and anaerobic solid-state fermentation. **Process Biochem**. v.29 p.13–24, 1994

SCHÖBLER, M.; BAUER, W.; RÖTTENBACHER, L. Modelling a solid-state fluidized bed fermenter for ethanol production with *S. Cerevisiae*. **BioProcess engineering** v.2 n.1 p.25-31, 1987

SCHUTYSER, M.A.I.; DE PAGTER, P.; WEBER, F.J.; BRIELS, W.J.; BOOM, R.M.; RINZEMA, A. Substrate aggregation due to aerial hyphae during discontinuously mixed solid-state fermentation with *Aspergillus oryzae*: Experiments and modeling. **Biotech Bioeng**. v.83 p.503–13, 2003

SEBORG, D.E.; EDGAR, T.S.; MELLICHAMP, D.A. **Process Dynamics and Control**. 2.ed. New York: Willey, 2004

SEKAR, C; RAJASEKAR, V.W.; BALARAMAN, K. Production of cyclosporin A by solid state fermentation. **Bioprocess Eng**. v.17 p.257–9, 1997

SINGH, S.A.; RAMAKRISHNA, M.; APPU RAO, A.G. Optimisation of downstream processing parameters for the recovery of pectinase from the fermented bran of *Aspergillus carbonarius*. **Process Biochemistry** v.35 p.411-7, 1999

SOUZA, D.F.; DE SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Effect of easily metabolizable sugars in the production of xylanase by *Aspergillus tamari* in solid-state fermentation. **Process Biochemistry** v.36 p.835-8, 2001

SPENDLEY, W.; HEXT, G.R.; HIMSWORTH, F.R. Sequential application of Simplex designs in optimization and evolutionary operations. **Technometrics** v.4 p. 441-61, 1962

SUEHARA, K.; OHTA, Y.; NAKANO, Y.; YANO, T. Rapid measurement and control of the moisture content of compost using near infrared spectroscopy. **J Biosci Bioeng**. v.87 p.769-74, 1999

SUNESSON, A.L.; VAES, W.H.J.; NILSSON, C.A.; BLOMQUIST, G.; ANDERSSON, B.; CARLSON, R. Identification of volatile metabolites from five fungal species cultivated on two media. **Appl Environ Microb**. v.61 p.2911–8, 1995

SURYANARAYAN, S. Current industrial practice in solid state fermentations for secondary metabolite production: the Biocon India experience. **Biochem Eng J**. v.13 p.189–95, 2003

SURYANARAYAN, S.; MAZUMDAR, K. **Solid state fermentation**. World Patent n. WO 00/29544, 2000

SWEAT, V.E. **Thermal properties of foods**. Engineering properties of foods. New York: Marcel Dekker, 1986

TENGERDY, R.P. Cellulase production by solid state fermentation. **J Sci Res**. v.55 p.313–6, 1996

- THIBAUT, J.; POULIOT, K.; AGOSIN, E.; PEREZ-CORREA, R. Reassessment of the estimation of dissolved oxygen concentration profile and  $K_La$  in solid-state fermentation. **Process Biochem.** v.36 p.9–18, 2000
- TREVISAN, M.G.; POPPI, R.J. Química analítica de processos. **Quim Nova** v.29 p.1065-71, 2006
- VICCINI, G.; MANNICH, M.; CAPALBO, D.M.F.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.; MITCHELL, D.A. Spore production in solid-state fermentation of rice by *Clonostachys rosea*, a biopesticide for gray mold of strawberries. **Process Biochemistry** v.42 p.275–8, 2007
- VIEIRA, C.R.; CABRAL, L.C.; PAULA, L.C. Caracterização Física e Tecnológica de seis cultivares de soja plantadas no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v.17 n.3, 1997
- VILLEGAS, E.; AUBAGUE, S.; ALCANTARA, L.; AURIA, R.; REVAH, S. Solid state fermentation: acid protease production in controlled CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> environments. **Biotech Adv.** v.11 p.387–97, 1993
- VINIEGRA-GONZÁLEZ, G.; FAVELA-TORRES, E.; AGUILAR, C.N.; RÓMERO-GOMEZ, S.J.; DÍAZ-GODÍNEZ, G.; AUGUR, C. Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. **Biochemical Engineering Journal** v.13 p.157–67, 2003
- VISHWANATHA, K.S.; APPU RAO, A.G.; SINGH, S.A. Characterisation of acid protease expressed from *Aspergillus oryzae* MTCC 5341. **Food Chemistry** v.114 p.402-7, 2009
- VON MEIEN, O.F.; LUZ JR, L.F.L.; PÉREZ-CORREA, R. Design of air preparation for SSF bioreactors. In: MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; BEROVIC, M., **Solid State Fermentation Bioreactors: Fundamental of Design and operation**. 1. ed. Verlag Berlin Heidelberg:Springer, 2006. p.403-412
- VON MEIEN, O.F.; MITCHELL, D.A. A two-phase model for water and heat transfer within an intermittently-mixed solid-state fermentation bioreactor with forced aeration. **Biotechnology and Bioengineering** v.79 p.416-28, 2002
- WANG, L.; YANG, S.T. **Solid state fermentation and Its applications**. New Technologies and Applications p. 465-489, 2007
- WEBER, F.J.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. A simplified material and energy balance approach for process development and scale-up of *Coniothyrium minitans* conidia production by solid-state cultivation in a packed-bed reactor. **Biotech Bioeng.** v.65 p.447–58, 1999
- WILLIAMS, W. **Koji process for producing Soy Sauce**. United States Patent n. 4.209.535, 1980
- XAVIER, S.; LONSANE B.K. Sugarcane press-mud as novel and inexpensive substrate for production of lactic acid in a solid state fermentation system. **Appl Microbiol Biotechnol.** v.41 p.291–5, 1994
- XUE, M.; LIU, D.; ZHANG, H.; HONGYAN, Q.; LEI, Q. A pilot process of solid state fermentation form sugar beet pulp for the production of microbial protein. **Journal of Fermentation and Bioengineering** v.73 p.203-205, 1992
- YANG, S.S. Antibiotics production of cellulosic wastes with solid state fermentation by *Streptomyces*. **Renew Energy** v.9 p.876–9, 1996
- YANO, T.; SUEHARA, K.; NAKANO, Y. Determination of the content of water and rice bran in solid media used for mushroom cultivation under near infrared spectroscopy. **J Ferment Bioeng** v.86 p.472-476, 1998
- ZHANG, W.J.; XU, Z.R.; ZHAO, S.H.; SUN, J.Y.; YANG, X. Development of a microbial fermentation process for detoxification of gossypol in cottonseed meal. **Animal Feed Science and Technology** v.135 p.176-186, 2007

ZIFFER, J. Wheat bran culture process for fungal amylase and penicillin production. In: RAIMBAULT, M. (ed) **Solid state fermentation in bioconversion of agro-industrial raw materials**. Montpellier: Orstom, p.121–8, 1988

# **ANEXOS**

# **ANEXO A**



## Programa de PASA et al. (2002) para secagem de milho

```

! Programa para predicao dos perfis de
! -Temperatura do gas
! -Temperatura do solido
! -Umidade do gas
! -Umidade do solido
! no processo de secagem de um solido granular
!
! Unidades: SI
!
! z=0 i=1; enquanto que em z=z+dz i=2 ...
! t=0 j=1; enquanto que em t=t+dt j=2 ...
!
implicit real (A-H, O-Z), integer (I-N)
parameter (l=1000,m=10000,n=4)
dimension yg(l,m),tg(l,m),ys(l,m),ts(l,m),ysa(l,m),dk1(l,n),dk2(l,
n),t(m),to(n)

open(unit=2,file='output1.dat',status='unknown')
open(unit=3,file='output2.dat',status='unknown')

!Condições de operação
yga=0.014 !umidade do gás na alimentação (fração mássica em b.s.)
tga=65.0 !temperatura do gás na alimentação (°C)
yso=0.25 !umidade do sólido na alimentação (fração mássica em b.s.)
tso=24.5 !temperatura do sólido na alimentação (°C)
gg=0.659 !velocidade mássica (kg/m2.s)
e=0.4 !porosidade
ds=1190 !densidade do sólido (kg/m3)
fp=1.013e05 !pressão (pascal)
cpl=(1000/18.016)*75.4 !cp da água líquida (J/Kg°C)
cps=1680 !cp do milho (J/Kg°C)
lbda=2.256e06 !calor latente de vaporização da água livre (J/kg)
stept=1.8 !passo de integração no tempo (s) (tempo/stept)=inteiro
stepz=0.01 !passo de integração em z (m)
tempo=3600 !tempo de secagem (s)
h=0.5 !altura do leito (m)

snj=tempo/stept
ncont=0
z=-stepz
ni=h/stepz
press=50 !pontos a serem impressos no tempo (tempo/press)=inteiro
npress=snj/press

! Condição em z=0 e qualquer tempo => (z,t)
do j=1,snj
yg(1,j)=yga
tg(1,j)=tga
enddo

! Condição em t=0 e qualquer z => (z,t)
do i=1,ni+1
ys(i,1)=yso
ts(i,1)=tso
enddo

! Condição em t=0 e qualquer z => (z,t)
do i=1,ni+1
ys(i,1)=yso
ts(i,1)=tso
enddo

do i=1,ni+1
z=z+stepz
to(1)=0
do j=1,snj
ncont=ncont+1
do k=1,4
!====alterar expressao para produtos diferentes=====
!coeficiente volumétrico efetivo de transferência de calor
ha=(1000/60)*4286.5*((gg*60)*(tg(i,j)+273.15)/fp)**0.6011
!pressão de saturação e umidade relativa
fpsat=exp(18.3036-(3816.44/(tg(i,j)+273.15-46.13)))
ur=(760/fpsat)*(yg(i,j)/(0.625+yg(i,j)))
!umidade de equilibrio
a=-alog(1-ur)
ba=(3.82e-5*(1.8*(tg(i,j)+273.15)-410))
ysa(i,j)=(1./100.)*(a/ba)**0.5
!====fim da alteracao=====

```

```

      cpar=(1000/29)*(28.94+(0.4147E-2)*tg(i,j)+(0.3191E-5)*(tg(i,j)*
1*2)-(1.965E-9)*(tg(i,j)**3)) !J/kg°C
      cpv=(1000/18.016)*(33.46+(0.688E-2)*tg(i,j)+(0.7604E-5)*(tg(i,j
1)**2)-(3.593E-9)*(tg(i,j)**3))

      !====alterar expressao para produtos diferentes=====
      !coeficiente volumétrico efetivo de transferência de massa
      csa=1.45*ys(i,j)-0.15
      !====fim da alteracao=====

      !Sistema de equacoes diferenciais em t
      dk1(i,k)=-((csa/((1-e)*ds))*(ys(i,k)-ysa(i,j))
      dk2(i,k)=ha*(tg(i,j)-ts(i,k))/(ds*(1-e)*(cps+cpl*ys(i,k)))-
1csa*(ys(i,k)-ysa(i,j))*(lbda+cpv*(tg(i,j)-ts(i,k)))/
2(ds*(1-e)*(cps+cpl*ys(i,k)))

      if ((k-2).le.0) then
        to(k+1)=to(1)+0.5*stept
        ys(i,k+1)=ys(i,1)+0.5*stept*dk1(i,k)
        ts(i,k+1)=ts(i,1)+0.5*stept*dk2(i,k)
      else if (k.eq.3) then
        to(k+1)=to(1)+0.5*stept
        ys(i,k+1)=ys(i,1)+0.5*stept*dk1(i,k)
        ts(i,k+1)=ts(i,1)+0.5*stept*dk2(i,k)
      endif
      enddo

      t(j+1)=to(1)+stept
      ys(i,j+1)=ys(i,j)+(stept/6.)*(dk1(i,1)+2*dk1(i,2)+2*dk1(i,3)+dk1(
1i,4))
      ts(i,j+1)=ts(i,j)+(stept/6.)*(dk2(i,1)+2*dk2(i,2)+2*dk2(i,3)+dk2(
1i,4))

C -----
C Para controlar numeros de pontos de impressao
C -----
      if(ncont.le.1) then
        write(2,*) z,t(j+1),ys(i,j+1),ts(i,j+1)
        write(3,*) z,t(j+1),yg(i,j),tg(i,j),i
      endif
      if(ncont.ge.npress) then
        ncont=0
      endif
C -----

      to(1)=t(j+1)
      ys(i,1)=ys(i,j+1)
      ts(i,1)=ts(i,j+1)
      tg(i+1,j)=tg(i,j)-ha*(tg(i,j)-ts(i,j))*stepz/(gg*(cpar+yg(i,j)*
1cpv))
      yg(i+1,j)=yg(i,j)+(csa*stepz/gg)*(ys(i,j)-ysa(i,j))
      enddo
      enddo
      stop
      end

```

# **ANEXO B**

## Programa para secagem de milho com ordem de cálculo modificado – PASAMOD

```

! Programa para predicao dos perfis de
! -Temperatura do gas
! -Temperatura do solido
! -Umidade do gas
! -Umidade do solido
! no processo de secagem de um solido granular
!
! Unidades: SI
!
! t=0 i=1; enquanto que em t=t+dt i=2 ...
! z=0 j=1; enquanto que em z=z+dz j=2 ...
!
implicit real (A-H, O-Z), integer (I-N)
parameter (l=1000,m=13000,n=4)
dimension yg(m,1),tg(m,1),ys(m,1),ts(m,1),ysa(m,1),dk1(m,n),dk2(m,
ln),z(1),zo(n),dkk1(m,n),dkk2(m,n)

open(unit=2,file='output1.dat',status='unknown')
open(unit=3,file='output2.dat',status='unknown')

!Condições de operação
yga=0.014 !umidade do gás na alimentação (fração mássica em b.s.)
tga=65.0 !temperatura do gás na alimentação (°C)
yso=0.25 !umidade do sólido na alimentação (fração mássica em b.s.)
tso=24.5 !temperatura do sólido na alimentação (°C)
gg=0.659 !velocidade mássica (kg/m2.s)
e=0.4 !porosidade
ds=1190.0 !densidade do sólido (kg/m3)
fp=1.013e05 !pressão (pascal)
cpl=(1000.0/18.016)*75.4 !cp da água líquida (J/Kg°C)
cps=1680.0 !cp do milho (J/Kg°C)
lbda=2.256e06 !calor latente de vaporização da água livre (J/kg)
stept=1.8 !passo de integração no tempo (s) (tempo/stept)=inteiro
stepz=0.001 !passo de integração em z (m)
tempo=3600 !tempo de secagem (s)
h=0.5 !altura do leito (m)

snj=h/stepz
ncont=0
t=-stept
ni=tempo/stept
press=50 !pontos a serem impressos no tempo (tempo/press)=inteiro
npress=ni/press

! Condiçao em z=0 e qualquer tempo => (t,z)
do j=1,snj
ys(1,j)=yso
ts(1,j)=tso
enddo

! Condiçao em t=0 e qualquer z => (t,z)
do i=1,ni+1
yg(i,1)=yga
tg(i,1)=tga
enddo

do i=1,ni+1
t=t+stept
zo(1)=0.0
ncont=ncont+1
do j=1,snj

!====alterar expressao para produtos diferentes=====
!coeficiente volumétrico efetivo de transferência de calor
ha=(1000/60)*4286.5*((gg*60)*(tg(i,j)+273.15)/fp)**0.6011
!pressão de saturação e umidade relativa
fpsat=exp(18.3036-(3816.44/(tg(i,j)+273.15-46.13)))
ur=(760/fpsat)*(yg(i,j)/(0.625+yg(i,j)))
!umidade de equilibrio
a=-alog(1-ur)
ba=(3.82e-5*(1.8*(tg(i,j)+273.15)-410))
ysa(i,j)=(1./100.)*(a/ba)**0.5
!====fim da alteracao=====

```



# **ANEXO C**

## Programa preditivo de fermentação no estado sólido – MEIENMOD

```

|   Programa para predicao dos perfis de
|   -Temperatura do gas
|   -Temperatura do solido
|   -Unidade do gas
|   -Unidade do solido
|   no processo de secagem de um solido granular
|
|-----
|   Alteração do programa original de secagem para descrever o cultivo
|   de microorganismos em um biorreator de Fermentação no estado sólido
|   considerando o modelo de duas fases.
|   Realizado em 12 de fevereiro de 2009.
|-----
|
|   Unidades: SI
|
|   t=0 i=1; enquanto que em t=t+dt i=2 ...
|   z=0 j=1; enquanto que em z=z+dz j=2 ...
|
|   implicit doubleprecision (A-H, O-Z), integer (I-N)
|   parameter (l=120000,m=2,n=4)
|   dimension yg(m,l),tg(m,l),ys(m,l),ts(m,l),ysa(m,l),bio(m,l),
| *subs(m,l),dk1(m,n),dk2(m,n),z(1),zo(n),dkk1(m,n),dkk2(m,n),
| *dkk3(m,n),dkk4(m,n),fys(m,n),fts(m,n),fbio(m,n),fsubs(m,n),
| *fyg(m,n),ftg(m,n),avg(1),aws(1),uv(1),ut(1),u(1)
|
|   OPEN(unit=1,file='output1.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=2,file='output2.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=3,file='output3.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=4,file='output4.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=5,file='output5.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=6,file='output6.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=7,file='output7.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=8,file='output8.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=9,file='output9.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=10,file='output10.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=11,file='output11.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=12,file='output12.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=13,file='output13.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=14,file='output14.dat',status='unknown')
|   OPEN(unit=15,file='output15.dat',status='unknown')
|
|   !Dados de entrada do modelo e condições iniciais
|
|   h=0.5           !altura do leito (m)
|   gg=0.06         !vazão mássica do ar seco (kg/m2.s)
|   fp=760.07       !pressão (mm Hg)
|   dg=1.14         !densidade do ar seco (Kg/m3)
|   ds=300.0        !densidade do sólido seco (kg/m3)
|   ywb=0.3         !Rendimento da água em função do crescimento (KgW/KgX)
|   xlbda=2414300.  !calor latente de vaporização da água livre (J/kgW)
|   yq=8.366D6      !Rendimento do calor em função do crescimento (J/KgX)
|   tso=38.         !temperatura do sólido na alimentação (°C)
|   tga=38.         !temperatura do gás na alimentação (°C)
|   avso=0.99       !Atividade da água inicial do leito
|   avgo=0.99       !Atividade da água inicial da fase gasosa
|   cps=2500.       !cp do sólido seco /neste caso milho/ (J/Kg°C)
|   cpar=1000.      !cp do ar seco
|   cpv=1791.       !cp do vapor d'água
|   cpl=(1000.0/18.016)*75.4 !cp da água líquida (J/Kg°C)
|   ep=0.35         !porosidade do leito (adim)
|   bo=0.002        !Concentração inicial de Biomassa (Kg X/Kg S)
|   bm=0.250        !Quantidade máx de biomassa (KgX/KgS)
|   ybs=0.5         !Rendimento da biomassa em função do substrato (KgX/KgS)
|   ami=(2.694D11)/3.6D3 !coeficiente da eq. da taxa de cresc. especif. f(T) (1/s)
|   bmi=1.3D47      !coeficiente da eq. da taxa de cresc. especif. f(T) (adim)
|   ea1=70225.      !Energia de ativ. da taxa de cresc. especif f(T) (J/mol)
|   ea2=283356.     !Energia de ativ. da taxa de cresc. especif f(T) (J/mol)
|   R=8.314         !Constante universal dos gases (J/mol K)
|   uopt=9.00535D-5 !Taxa de crescimento especifica máxima (1/s)
|   c1=2.9          !c1, c2, c3, c4 e c5 são constantes da isoterma
|   c2=0.004
|   c3=1.275
|   c4=-0.0029
|   c5=0.32
|   a1=7.304        !a1, a2, a3 e a4 são constantes do cálculo do
|   a2=-1.77D-2     !coeficiente de transferência de massa
|   a3=2.202
|   a4=-6.18D-3
|   d1=618.9218     !d1, d2, d3 e d4 são constantes para a taxa de crescimento
|   d2=-1863.527   !especifico em função da atividade da água na fase sólida
|   d3=1865.097
|   d4=-620.6684

```

```

so=(1.-ep)*ds      !Concentração volumétrica inicial de substrato seco(Kg/m3)
ysb=-(1./ybs)     !Consumo do substrato em função da produção de biomassa
tempo=216000.     !tempo de cultivo (s)

stept=20.         !passo de integração no tempo (s) (tempo/stept)=inteiro
stepz=5.D-4      !passo de integração em z (m)

snj=h/stepz
ncont=0
t=-stept
ni=tempo/stept
press=21600      !pontos a serem impressos no tempo (tempo/press)=inteiro
npress=ni/press
z(1)=0.0

!Cálculo da unidade do gás na alimentação (fração mássica em b.s.)
Psato=DEXP(18.3036-3816.44/(tga+273.15-46.13))
yga=avgo*0.62413*Psato/fp/(1.-Psato/fp*avgo)

!Cálculo da unidade do sólido na alimentação (fração mássica em b.s.)
yso=(DLOG(1.-avso**c5)/(-DEXP(c1+c2*tso)))**(1./(c3+c4*tso))

!
! Condição em t=0 e qualquer z => (t,z)
do j=1,snj
  ys(1,j)=yso
  ts(1,j)=tso
  bio(1,j)=bo
  subs(1,j)=so
  avg(j)=avgo
  avs(j)=avso
enddo

!
! Início dos cálculos para o avanço no tempo
do i=1,ni+1
  t=t+stept
  zo(1)=0.0
  ncont=ncont+1

  !Condição de contorno para qualquer t ea z=0
  yg(1,1)=yga
  tg(1,1)=tga

  !Passa os valores calculados na posição 2 da matriz para a posição 1.
  !Este passo é necessário para a redução do tamanho total da matriz
  !permitindo realizar todos os cálculos em uma matriz (2,j).
  if (i.gt.1.0) then
    do j=1,snj
      bio(1,j)=bio(2,j)
      subs(1,j)=subs(2,j)
      ts(1,j)=ts(2,j)
      ys(1,j)=ys(2,j)
    enddo
  endif

  !*****
  !                               Impressão dos resultados (Parte 1)
  !*****
  if(ncont.eq.1) then
    somabio=0.0
    somasub=0.0
    do med=1,snj
      somabio=somabio+bio(1,med)
      somasub=somasub+subs(1,med)
    enddo
    biomed=somabio/snj
    submed=somasub/snj
    write(1,FMT='(F5.2,3X,F7.5,3X,F9.4,2X)')t/3600.,biomed,submed
    write(2,FMT='(6(F8.5,1X))')t/3600.,bio(1,2),bio(1,(snj/4)),
      bio(1,(snj/2)),bio(1,(3*snj/4)),bio(1,snj)
    write(3,FMT='(6(F10.5,1X))')t/3600.,subs(1,2),subs(1,(snj/4)),
      subs(1,(snj/2)),subs(1,(3*snj/4)),subs(1,snj)
    write(4,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,tg(1,1),tg(1,(snj/4)),
      tg(1,(snj/2)),tg(1,(3*snj/4)),tg(1,snj)
    write(5,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ts(1,2),ts(1,(snj/4)),
      ts(1,(snj/2)),ts(1,(3*snj/4)),ts(1,snj)
    write(6,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,yg(1,2),yg(1,(snj/4)),
      yg(1,(snj/2)),yg(1,(3*snj/4)),yg(1,snj)
    write(7,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ys(1,2),ys(1,(snj/4)),
      ys(1,(snj/2)),ys(1,(3*snj/4)),ys(1,snj)
    write(8,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ysa(1,2),ysa(1,(snj/4)),
      ysa(1,(snj/2)),ysa(1,(3*snj/4)),ysa(1,snj)
    write(9,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,avg(2),avg(snj/4),
      avg(snj/2),avg(3*snj/4),avg(snj)
    write(10,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,avs(2),avs(snj/4),
      avs(snj/2),avs(3*snj/4),avs(snj)
    write(11,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,uv(2),uv(snj/4),
      uv(snj/2),uv(3*snj/4),uv(snj)
    write(12,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ut(2),ut(snj/4),
      ut(snj/2),ut(3*snj/4),ut(snj)
    write(13,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,u(2)*3600.,u(snj/4)*3600.,
      u(snj/2)*3600.,u(3*snj/4)*3600.,u(snj)*3600.
    write(14,FMT='(12(F10.5,1X))')tg(1,2),tg(1,snj/10),
      tg(1,snj*2/10),tg(1,snj*3/10),tg(1,snj*4/10),
      tg(1,snj*5/10),tg(1,snj*6/10),tg(1,snj*7/10),
      tg(1,snj*8/10),tg(1,snj*9/10),tg(1,snj)
  endif

  !*****Fim da Impressão dos resultados *****

```



```

-----
Controle da unidade
-----
if (avg(snj).LE. avmin .OR. ts(1,snj).GE. tmax) then
  somabiom=0.0
  somasubs=0.0
  do jcont=1,snj
    somabiom=somabiom+bio(1,jcont)
    somasubs=somasubs+subs(1,jcont)
  enddo
  biomed=somabiom/snj
  subsmmed=somasubs/snj

  xmipt=uoapt*fcni
  biop=biomed*DEXP(tagi*xmipt)/(1.-biomed/bm+biomed/bm*
  * DEXP(tagi*xmipt))
  * subsp=subsmmed*(bm+biomed*(DEXP(tagi*xmipt)-1.))*(ybs+biomed)/
  * (ybs*(bm+biomed*(DEXP(tagi*xmipt)-1.))+biomed*bm*
  * DEXP(tagi*xmipt))

  do jt=1,snj
    bio(1,jt)=biop
    subs(1,jt)=subsp
    ys(1,jt)=yso
    ts(1,jt)=tso
    tg(1,jt)=tga
    yg(1,jt)=yga
    aws(jt)=awso
    awg(jt)=awgo
  enddo

  t=t+tagi
  write(15,FMT='(3(F10.5,2X))')t/3600.,biop,subsp
  write(4,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,tg(1,1),tg(1,(snj/4)),
  * tg(1,(snj/2)),tg(1,(3*snj/4)),tg(1,snj)
  write(5,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ts(1,10),ts(1,(snj/4)),
  * ts(1,(snj/2)),ts(1,(3*snj/4)),ts(1,snj)
  write(6,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,yg(1,10),yg(1,(snj/4)),
  * yg(1,(snj/2)),yg(1,(3*snj/4)),yg(1,snj)
  write(7,FMT='(6(F10.5,2X))')t/3600.,ys(1,10),ys(1,(snj/4)),
  * ys(1,(snj/2)),ys(1,(3*snj/4)),ys(1,snj)
  write(*,*)t/3600.,biop,subsp
endif

!-----fim do controle de unidade-----

do j=1,snj

!-----alterar expressao para produtos diferentes-----
!coeficiente volumétrico efetivo de transferência de calor (Eq. 14)
ha=44209.85*(gg*(tg(1,1)+273.15))/fp)**0.6011
!Pressão de Saturação (Eq. 10b)
  Estas constantes são para tg(K) e P(mmHg)
  O valor de 133.322 é fator de conversão de mmHg para Pa
  fpsat=DEXP(18.3036-(3816.44/(tg(1,1)+273.15-46.13)))
!Atividade da água na fase gasosa (Eq. 10a)
  As unidades de fp e fpsat devem ser as mesmas, neste caso Pa
  avg(j)=(fp/fpsat)*(yg(1,1)/(yg(1,1)+0.62413))
!Atividade da água na fase sólida (Eq. 11)
  Temperaturas em °C
  aws1=DEXP(c1+c2*ts(1,j))
  aws2=c3+c4*ts(1,j)
  aws(j)=(1.-DEXP(-(ys(1,j)**aws2)*aws1))**(1./c5)
!Unidade de equilíbrio - isoterma (Eq. 09)
  Temperaturas em °C
  * ysa(1,j)=(DLOG(1.-avg(j)**c5)/(-DEXP(c1+c2*tg(1,1))))**
  * (1./(c3+c4*tg(1,1)))
!Taxa de crescimento específico em f(aws) (Eq. 12a)
  uv(j)=DEXP((d1*(aws(j)**3)+(d2*(aws(j)**2)+(d3*aws(j))+d4)
!Taxa de crescimento específico em f(ts) (Eq. 12b)
  amil=ami*DEXP(-ea1/R/(ts(1,j)+273.15))
  bmil=1.+bmi*DEXP(-ea2/R/(ts(1,j)+273.15))
  ut(j)=(amil/bmil)/uoapt
!Taxa de crescimento específico atual (Eq.12c)
  u(j)=uoapt*DSQRT(uv(j)*ut(j))
!coeficiente volumétrico efetivo de transferência de massa (Eq. 13)
  csal=a1+a2*(tg(1,1)+273.15)
  csa2=a3+a4*(tg(1,1)+273.15)
  csa=csal*ys(1,j)-csa2
!-----fim da alteracao-----

```

```

do k=1,4
!Sistema de equacoes diferenciais em z
!Os vetores ftg(i,k) e fyg(i,k) são utilizados nos cálculos parciais do
!método de Runge-kutta. Os elementos ftg(i,1) e fyg(i,1) recebem os valores
!de tg(i,j) e yg(i,j) atuais para o cálculo. Estes vetores foram criados
!para corrigir as atribuições indevidas que ocorriam quando eles eram
!chamados de tg(i,k) e yg(i,k).
  if (k.eq.1) then
    ftg(1,1)=tg(1,1)
    fyg(1,1)=yg(1,1)
  endif

  dk1(1,k)=-ha*(ftg(1,k)-ts(1,j))/(gg*(cpar+fyg(1,k)*cpv))
  dk2(1,k)=(csa/gg)*(ys(1,j)-ysa(1,j))

  if ((k-2).le.0) then
    ftg(1,k+1)=ftg(1,1)+0.5*stepz*dk1(1,k)
    fyg(1,k+1)=fyg(1,1)+0.5*stepz*dk2(1,k)
  else if (k.eq.3) then
    ftg(1,k+1)=ftg(1,1)+stepz*dk1(1,k)
    fyg(1,k+1)=fyg(1,1)+stepz*dk2(1,k)
  endif
enddo

z(j+1)=zo(1)+stepz
tg(1,j+1)=tg(1,1)+(stepz/6.)*(dk1(1,1)+2*dk1(1,2)+2*dk1(1,3)+
* dk1(1,4))
yg(1,j+1)=yg(1,1)+(stepz/6.)*(dk2(1,1)+2*dk2(1,2)+2*dk2(1,3)+
* dk2(1,4))

*****
C      Para controlar numeros de pontos de impressao (Parte 2)
C      *****
  if (ncont.ge.npress) then
    ncont=0
  endif

*****
C      *****
do kk=1,4
!Sistema de equacoes diferenciais em t para ys e ts
!Os vetores fbio(i,k), fsubs(i,k), fts(i,k) e fys(i,k) foram criados pelo
!mesmo motivo de ftg(i,k) e fyg(i,k) .
  if (kk.eq.1) then
    fbio(1,1)=bio(1,j)
    fsubs(1,1)=subs(1,j)
    fts(1,1)=ts(1,j)
    fys(1,1)=ys(1,j)
  endif

  dkk3(1,kk)=u(j)*fbio(1,kk)*(1.-(fbio(1,kk)/bm))
  dkk4(1,kk)=(ysb/(1.-fbio(1,kk)*ysb))*fsubs(1,kk)*dkk3(1,kk)
  dkk1(1,kk)=(ha*(tg(1,j)-fts(1,kk))-xibda*csa*(fys(1,kk)
* -ysa(1,j))+yq*(fsubs(1,kk)*dkk3(1,kk)+fbio(1,kk)*
* dkk4(1,kk)))/(fsubs(1,kk)*(cps+cpl*fys(1,kk)))
  dkk2(1,kk)=(-csa*(fys(1,kk)-ysa(1,j))+yvb*(fsubs(1,kk)*
* dkk3(1,kk)+fbio(1,kk)*dkk4(1,kk))-fys(1,kk)*
* dkk4(1,kk))/fsubs(1,kk)

  if ((kk-2).le.0) then
    fbio(1,kk+1)=bio(1,j)+0.5*stept*dkk3(1,kk)
    fsubs(1,kk+1)=subs(1,j)+0.5*stept*dkk4(1,kk)
    fts(1,kk+1)=ts(1,j)+0.5*stept*dkk1(1,kk)
    fys(1,kk+1)=ys(1,j)+0.5*stept*dkk2(1,kk)
  else if (kk.eq.3) then
    fbio(1,kk+1)=bio(1,j)+stept*dkk3(1,kk)
    fsubs(1,kk+1)=subs(1,j)+stept*dkk4(1,kk)
    fts(1,kk+1)=ts(1,j)+stept*dkk1(1,kk)
    fys(1,kk+1)=ys(1,j)+stept*dkk2(1,kk)
  endif
enddo

bio(2,j)=bio(1,j)+(stept/6.)*(dkk3(1,1)+2*dkk3(1,2)+
* 2*dkk3(1,3)+dkk3(1,4))
subs(2,j)=subs(1,j)+(stept/6.)*(dkk4(1,1)+2*dkk4(1,2)+
* 2*dkk4(1,3)+dkk4(1,4))
ts(2,j)=ts(1,j)+(stept/6.)*(dkk1(1,1)+2*dkk1(1,2)+
* 2*dkk1(1,3)+dkk1(1,4))
ys(2,j)=ys(1,j)+(stept/6.)*(dkk2(1,1)+2*dkk2(1,2)+
* 2*dkk2(1,3)+dkk2(1,4))

zo(1)=z(j+1)
tg(1,1)=tg(1,j+1)
yg(1,1)=yg(1,j+1)

enddo
enddo
stop
end

```

## **ANEXO D**

## Programa do modelo de Inferência

```

-----
| Modelo para a Inferência da unidade da fase sólida
| para um Biorreator de Fermentação no estado sólido
| que opera com agitação intermitente e aeração forçada.
| Modelo de duas fases que considera o não equilíbrio entre
| as fases gasosa e sólida.
|
| Autor: Tiago de Lima
| Data:10 de julho de 2009
|
-----

Programa inferencia
USE SIMPLEX
implicit integer*4 (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter :: dp=selected_real_kind(10,200), in=selected_int_kind(8)
integer(kind=in), parameter :: MN = 200, ML = 8 !Parâmetros da rotina simplex
integer(kind=in)::snj, snj2 !Necessário chamar como inteiro para o allocate
real(kind=dp), dimension (MN) :: Dsexp, x1, Dscal
real(kind=dp), dimension (ML) :: par
real(kind=dp), dimension (1,4) :: fyg, dk
real(kind=dp), dimension (:,:),allocatable::aux, aux2, tg, ts, yg,tin,tin2,tin3,tin4
real(kind=dp), dimension (:), allocatable::avg, avs, ys, ysa, dtgdz, qa, do2dt, dco2dt, dwdt, dysdt, subs

open (unit=10, file='entradapart1.dat', status = 'old')
open (unit=15, file='parametros.dat', status = 'old')
open (unit=21, file='Output1.dat', status = 'unknown')
open (unit=22, file='Output2.dat', status = 'unknown')
open (unit=23, file='Output3.dat', status = 'unknown')
open (unit=24, file='Output4.dat', status = 'unknown')
open (unit=25, file='Output5.dat', status = 'unknown')
open (unit=26, file='Output6.dat', status = 'unknown')
open (unit=27, file='Output7.dat', status = 'unknown')
open (unit=28, file='Output8.dat', status = 'unknown')
open (unit=29, file='Output9.dat', status = 'unknown')
open (unit=30, file='Output10.dat', status = 'unknown')
open (unit=31, file='Output11.dat', status = 'unknown')
open (unit=50, file='Filtros.dat', status = 'unknown')

!N é o contador de linhas do arquivo de entrada
N=0

!Aloca as matrizes para leitura dos dados
allocate(tin(80000,7))
allocate(tin4(80000,7))

!Faz os valores internos das matrizes serem iguais a zero
tin=0.0D0
tin4=0.0D0

!Precisões dos equipamentos
ptemp=0.05 !Termopares tipo T
poxig=0.01 !Analisador de gases para o oxigênio
pcarb=0.01 !Analisador de gases para o gás carbônico

!Realiza a leitura do arquivo de entrada sendo que:
!A primeira coluna é referente ao tempo em horas
!Da segunda até a sexta coluna são as temperaturas dos termopares do tipo T
!As duas últimas colunas referentes ao analisador de gases, oxigênio e gás carbônico, respectivamente

do while (.not.eof(10))
  N=N+1
  read(10,*)tin(N,1),tin(N,2),tin(N,3),tin(N,4),tin(N,5),tin(N,6),tin(N,7)
enddo

close(10)

!-----
!FILTROS DE DADOS
!-----

!Filtro1 - Eliminação de Duplicatas de Medição em um mesmo tempo

NPT=0
do I=1,N-1
  if (tin(I+1,1)>tin(I,1)) then
    NPT=NPT+1
    do KM=1,7
      tin4(NPT,KM)=tin(I,KM)
    enddo
  endif
enddo

!Aloca as matrizes com o tamanho de dados sem repetição para os outros filtros
allocate(tin2(NPT,7))
allocate(tin3(NPT,7))

!Zera as matrizes novas
tin2=0.0D0
tin3=0.0D0

!Transfere os valores do filtro 1 para a matriz tin2
tin2(:,:)=tin4(:,:)

```

```

!Retira o espaço da memória das duas matrizes de leitura
deallocate(tin)
deallocate(tin4)

!Filtro 2 - Eliminação de variações da temperatura menores que a precisão dos termopares
tin3(1,:) = tin2(1,:)
do I=1,NPT-1
  do NT=2,5
    if (dabs(tin2(I+1,NT)-tin3(I,NT))>=ptemp) then
      tin3(I+1,NT)=tin2(I+1,NT)
    else
      tin3(I+1,NT)=tin3(I,NT)
    endif
  enddo

  if (dabs(tin2(I+1,6)-tin3(I,6))>=poxig) then
    tin3(I+1,6)=tin2(I+1,6)
  else
    tin3(I+1,6)=tin3(I,6)
  endif

  if (dabs(tin2(I+1,7)-tin3(I,7))>=pcarb) then
    tin3(I+1,7)=tin2(I+1,7)
  else
    tin3(I+1,7)=tin3(I,7)
  endif

  tin3(I+1,1)=tin2(I+1,1)
enddo

!Filtro 3 - Filtro Exponencial
do I=1,NPT-1
  tin2(1,:) = tin3(1,:)
  TAUF=0.5
  ZETA=(tin3(I+1,1)-tin3(I,1))/(TAUF+(tin3(I+1,1)-tin3(I,1)))
  do NNT=2,7
    tin2(I+1,NNT)=ZETA*tin3(I+1,NNT)+(1-ZETA)*tin2(I,NNT)
    tin3(I+1,NNT)=tin2(I+1,NNT)
  enddo
enddo

!Filtro 4 - Média Móvel
do I=16,NPT
  do NM=2,7
    SOMA=0.0D0
    do MM=1,15
      SOMA=SOMA+tin3(I-MM,NM)
    enddo
    tin2(I,NM)=SOMA/15.
  enddo
enddo

do NN=1,NPT
  write (50,FMT='(8(F6.3,2X))')tin2(NN,1),tin2(NN,2),tin2(NN,3),tin2(NN,4),tin2(NN,5),tin2(NN,6),tin2(NN,7)
enddo

!Retira da memória a matriz auxiliar tin3 ficando apenas a tin2 com os valores finais do filtro.
deallocate (tin3)

|-----
|                                     Modelo de Inferência
|-----

!Leitura dos Parâmetros utilizados no modelo
read(15,*)N           !Número de pontos experimentais em função da altura do leito (N)
read(15,*)Tol         !Tolerância do valor da função objetivo (Tol)
read(15,*)NitMax      !Número máximo de iterações(NitMax)
read(15,*)npar        !Número de Parâmetros a serem ajustados(npar)
read(15,*)h           !Altura do leito (m)
read(15,*)gg         !Vezão mássica de ar seco(Kg/m2.s)
read(15,*)fp         !Pressão (Pa)
read(15,*)ep         !Porosidade do leito (adim)
read(15,*)dg         !densidade do ar seco (Kg/m3)
read(15,*)cpar       !cp do ar seco (J/Kg°C)
read(15,*)cpv       !cp do vapor d'água (J/Kg°C)
read(15,*)cpv       !cp da água líquida (J/Kg°C)
read(15,*)cps       !cp do sólido seco (J/Kg °C) - ((1590.00*0.49)+(2311.78*0.51))
read(15,*)xlbda     !calor latente de vaporização da unidade relativa (J/KgW)
read(15,*)xMCO2     !massa molar do gás carbônico
read(15,*)xMO2      !massa molar do oxigênio
read(15,*)xMH2O     !massa molar da água
read(15,*)yqo2      !coeficiente de rendimento do calor em função do oxigênio
read(15,*)yco2o2    !coeficiente de rendimento do gás carbônico em função do oxigênio
read(15,*)yvo2      !coeficiente de rendimento da água em função do oxigênio
read(15,*)ds        !densidade do sólido seco (Kg/m3)
read(15,*)yso       !umidade inicial da fase sólida (bs)
read(15,*)avgo      !umidade relativa inicial da fase gasosa
read(15,*)d1        !d1, d2, d3 e d4 são constantes do cálculo do coeficiente
read(15,*)d2        !de transferência de massa.
read(15,*)d3
read(15,*)d4
read(15,*)c1        !c1, c2, c3, c4 e c5 são constantes da isoteraa
read(15,*)c2
read(15,*)c3
read(15,*)c4
read(15,*)c5

close(15)

```

```

!Passos da integração
stepz=5.D-4      !passo na altura z (m)
snj=h/stepz     !define o número de linhas das matrizes em função da altura
snj2=snj+1
tga=tin2(1,2)
tso=tin2(1,2)

!Monta as matrizes conforme o tamanho da altura do leito e stepz
allocate(tg(2,snj2))
allocate(ts(2,snj))
allocate(yg(1,snj2))
allocate(aux2(2,3))
allocate(avg(snj))
allocate(avs(snj))
allocate(ys(snj))
allocate(ya(snj))
allocate(dtgdz(snj))
allocate(qa(snj))
allocate(do2dt(snj))
allocate(dco2dt(snj))
allocate(dwdt(snj))
allocate(dysdt(snj))
allocate(subs(snj))

!Faz os valores internos das matrizes serem iguais a zero
tg=0.0D0
ts=0.0D0
yg=0.0D0
aux2=0.0D0
avg=0.0D0
avs=0.0D0
ys=0.0D0
ya=0.0D0
dtgdz=0.0D0
qa=0.0D0
do2dt=0.0D0
dco2dt=0.0D0
dwdt=0.0D0
dysdt=0.0D0
subs=0.0D0
fyg=0.0D0
dkk1=0.0D0
Dsexp=0.0D0
x1=0.0D0
Dscal=0.0D0
par=0.0D0
t=0.0D0

!Cálculo da unidade do gás na alimentação (fração mássica em base seca)
Psato=133.322*DEXP(18.3036-3816.44/(tga+273.15-46.13))
yga=awgo*0.62413*Psato/fp/(1.-Psato/fp*awgo)

!Cálculo da unidade do sólido na alimentação (fração mássica em b.s.)
avso=(1.-DEXP(-(yso**(c3+c4*tso)))*(DEXP(c1+c2*tso)))*(1./c5)

!Concentração volumétrica inicial de substrato seco(Kg/m3)
so=(1.-ep)*ds

!Inicializa os vetores e matrizes com as condições iniciais
subs=so
avg=awgo
avs=avso
tg=tga
ts=tso
ys=yso
yg=yga

!Este laço DO fornece as alturas do leito das quais serão amostradas
!as temperaturas da fase gasosa.
!**Valores válidos para o modelo preditivo com 5 pts e termopares nas
!alturas correspondentes ao do biorreator**
x1(1)=0.00000
x1(2)=0.05000
x1(3)=0.18000
x1(4)=0.35000

principal: do j=2,NPT

```

```

-----
|Início da rotina para determinar qual a equação que melhor se ajusta aos pontos experimentais
-----

Dsexp(1:N)=tin2(j,2:5)      !Passa para o vetor Dsexp os valores de um determinado tempo da matriz aux
t=tin2(j,1)*3600.
stept=(tin2(j,1)-tin2(j-1,1))*3600.

!Otimização dos parâmetros para equação polinomial de segundo grau
par(1)=-2.0      !chute inicial do parâmetro 1 para equação exponencial
par(2)=2.0      !chute inicial do parâmetro 2 para equação exponencial
intt=1          !seleciona a equação exponencial

    call Regress (npar, par, Tol, NitMax, N, Dsexp, x1, intt, ajuste, fdesv)

a1=par(1)
a2=par(2)
b1=(fdesv/n)
b2=ajuste

!Otimização dos parâmetros para equação de secagem
par(1)=5.5      !chute inicial do parâmetro 1 para equação de secagem
par(2)=2.0      !chute inicial do parâmetro 2 para equação de secagem
intt=2          !seleciona a equação de secagem

    call Regress (npar, par, Tol, NitMax, N, Dsexp, x1, intt, ajuste, fdesv)

a3=par(1)
a4=par(2)
b3=(fdesv/n)
b4=ajuste

!Seleciona a equação em que o valor do coeficiente de Pearson ficou com maior valor
!e com menor valor no resultado da soma dos desvios absolutos.
if (b2>0.94 .OR. b4>0.94) then

    sec: if (b2>b4 .AND. b1<b3) then
        r2=b2
        desvio=b1
        do ki=1,snj+1
            hi=(ki-1)*(h/snj)      !À altura do leito em metros para ser calculado tg
            tg(2,ki)=a1*(hi**2)+a2*hi+38.
        enddo
    else sec
        r2=b4
        desvio=b3
        do kki=1,snj+1
            hi=(kki-1)*(h/snj)      !À altura do leito em metros para ser calculado tg
            tg(2,kki)=(a3*hi/(a4+hi))+38.
        enddo
    end if sec

else
!Para a equação formada por vários segmentos de reta do tipo y=ax+b,
!ou então, Dsexp=a*x1+b

xnum=1.0
do i=1,(N-1)
    aux2=reshape((/Dsexp(i),Dsexp(i+1),x1(i),x1(i+1),xnum,xnum/),(/2,3/))
    aux2(2,:)=aux2(1,:)-aux2(2,:)
    a5=aux2(2,1)/aux2(2,2)          !Calcula o coeficiente angular da equação da reta
    b5=aux2(1,1)-(aux2(1,2)*a5)    !Calcula o coeficiente linear da equação da reta
    ini=(x1(i)/stepz)+1.           !Calcula o primeiro ponto do vetor tg que receberá valor deste seg
    if (i==(N-1)) then
        ndiv=((x1(i+1)-x1(i))/stepz)      !Calcula o número de divisões dentro do intervalo da reta
    else
        ndiv=((x1(i+1)-x1(i))/stepz)-1    !Calcula o número de divisões dentro do intervalo da reta
    endif
    do ii=ini,(ini+ndiv)
        hi=(ii-1)*(h/snj)              !À altura do leito em metros para ser calculado tg
        tg(2,ii)=a5*hi+b5
    enddo
enddo

end if

!Cálculo da unidade do gás na alimentação (como podem ocorrer variações da temperatura de entrada
!deve-se calcular novos valores para a unidade da fase gasosa na base do leito)
Psato=133.322*DEXP(18.3036-3816.44/(tg(2,1)+273.15-46.13))
yg(1,1)=awgo*0.62413*Psato/fp/(1.-Psato/fp*awgo)

```

```

|=====
secundario: do i=1,snj

!Coeficiente volumétrico efetivo de transferência de calor
ha=58599.1

!Pressão de Saturação
!Estas constantes são para tg(K) e P(mmHg)
!O valor de 133.322 é fator de conversão de mmHg para Pa
fpsat=133.322*DEXP(18.3036-(3816.44/(tg(2,i)+273.15-46.13)))

!Atividade da água na fase gasosa
!As unidades de fp e fpsat devem ser as mesmas, neste caso Pa
avg(i)=(fp/fpsat)*(yg(1,1)/(yg(1,1)+0.62413))

if (avg(i)>=1.) avg(i)=0.999

!Atividade da água na fase sólida
!Temperaturas em °C
avs(i)=(1.-DEXP(-(ys(i)**(c3+c4*ts(1,i)))*(DEXP(c1+c2*ts(1,i)))))**(1./c5))

!Umidade de equilíbrio - isoterma
!Temperaturas em °C
ysa(i)=(DLOG(1.-avg(i)**c5)/(-DEXP(c1+c2*tg(2,i))))**1./(c3+c4*tg(2,i))

!Coeficiente volumétrico efetivo de transferência de massa
csa=0.4919

!Umidade da Fase Gasosa
do k=1,4
if (k==1) then
fyg(1,1)=yg(1,1)
endif

dk(1,k)=(csa/gg)*(ys(i)-ysa(i))

if ((k-2)<=0) then
fyg(1,k+1)=fyg(1,1)+0.5*stepz*dk(1,k)
else if (k==3) then
fyg(1,k+1)=fyg(1,1)+stepz*dk(1,k)
endif
enddo
yg(1,i+1)=yg(1,1)+(stepz/6.)*(dk(1,1)+2*dk(1,2)+2*dk(1,3)+dk(1,4))

!Temperatura da fase sólida
dtgdz(i)=(tg(2,i+1)-tg(2,i))/stepz
ts(2,i)=((cpar+yg(1,1)*cpv)*gg*dtgdz(i)+ha*tg(2,i))/ha

!Derivada da temperatura da fase sólida em função do tempo para uma determinada altura
dt=((ts(2,i)-ts(1,i))/stept)

!Calor metabólico gerado em função do tempo para uma determinada altura
qm(i)=(subs(i)*(cps+ys(i)*cpv)*dt-ha*(tg(2,i)-ts(2,i))+xlbda*csa*(ys(i)-ysa(i)))

if (qm(i)<=0.0) then
qm(i)=0.0
endif

!Consumo de oxigênio
do2dt(i)=-(1./yqo2)*qm(i)

!Produção de gás carbônico
dco2dt(i)=-yco2o2*do2dt(i)*xMCO2

!Produção de água metabólica
dwdt(i)=-ywo2*do2dt(i)*xMH2O

!Balanço dos sólidos secos
subs(i)=subs(i)-(-ywo2*xMH2O-yco2o2*xMCO2+xMO2)*do2dt(i)*stept

!Umidade da fase sólida
dysdt(i)=(1/subs(i))*(-csa*(ys(i)-ysa(i))+dwdt(i)-ys(i)*(-(-ywo2*xMH2O-yco2o2*xMCO2+xMO2)*do2dt(i)))
ys(i)=ys(i)+dysdt(i)*stept

!Passa para a posição yg(1,1) o valor atual para ser calculado
yg(1,1)=yg(1,i+1)

end do secundario

```



```

somaoc2=0.0D0
somaco2=0.0D0
somadw=0.0D0
somaqm=0.0D0
somaqs=0.0D0
o2f=0.0D0
somasubs=0.0D0
do nit=1,snj
  somaoc2=somaoc2+(do2dt(nit)*(stepz/(gg/dg)))
  somaco2=somaco2+dco2dt(nit)
  somadw=somadw+dwdt(nit)
  somaqm=somaqm+qm(nit)
  somaqs=somaqs+qs(nit)
  somasubs=somasubs+subs(nit)
enddo
ysmed=(somaqs/(snj))
subsmed=somasubs/(snj)
o2f=8.255+(somaoc2)
o2f=(o2f/39.3103)*100.

!Impressão dos resultados

write(21,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,tg(2,1),tg(2,(snj/4)),tg(2,(snj/2)),tg(2,(3*snj/4)),tg(2,snj) !Output1
write(22,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,ts(2,2),ts(2,(snj/4)),ts(2,(snj/2)),ts(2,(3*snj/4)),ts(2,snj) !Output2
write(23,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,yg(1,2),yg(1,(snj/4)),yg(1,(snj/2)),yg(1,(3*snj/4)),yg(1,snj) !Output3
write(24,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,ys(2),ys(100),ys(360),ys(660),ys(snj) !Output4
write(25,FMT='(6(F10.5,1X))' t/3600.,subs(2),subs(snj/4),subs(snj/2),subs(3*snj/4),subs(snj) !Output5
write(26,FMT='(6(F12.3,2X))' t/3600.,qm(2),qm(snj/4),qm(snj/2),qm(3*snj/4),qm(snj) !Output6
write(27,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,do2dt(2),do2dt(snj/4),do2dt(snj/2),do2dt(3*snj/4),do2dt(snj) !Output7
write(28,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,dco2dt(2),dco2dt(snj/4),dco2dt(snj/2),dco2dt(3*snj/4),dco2dt(snj) !Output8
write(29,FMT='(6(E11.5,2X))' t/3600.,dwdt(2),dwdt(snj/4),dwdt(snj/2),dwdt(3*snj/4),dwdt(snj) !Output9
write(30,FMT='(6(E11.5,2X))' t/3600.,o2f,ysmed,subsmed !Output10
write(31,FMT='(6(F10.5,2X))' t/3600.,avg(2),avg(100),avg(360),avg(660),avg(snj) !Output11

!Volta os valores da coluna 1 para a coluna 2
ts(1,:)=ts(2,:)
tg(1,:)=tg(2,:)

end do principal

close (21)
close (22)
close (23)
close (24)
close (25)
close (26)
close (27)
close (28)
close (29)
close (30)
close (31)

deallocate(tg)
deallocate(ts)
deallocate(yg)
deallocate(ys)
deallocate(subs)
deallocate(aux2)
deallocate(avg)
deallocate(aws)
deallocate(ysa)
deallocate(dtgdz)
deallocate(qm)
deallocate(do2dt)
deallocate(dco2dt)
deallocate(dwdt)
deallocate(dysdt)

end program inferencia

```

# **ANEXO E**

## Programa de ajuste da curva da temperatura da fase gasosa – SIMPLEX

```

MODULE SIMPLEX
implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)

CONTAINS

| Calculo da funcao objetivo como uma funcao do conjunto de parametros:
function ObjFunc (npar, par, N, Dscal, Dsexp, x1, intt)
implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter :: dp=selected_real_kind(10,200)
integer, parameter :: MN = 200, ML = 8
real(kind=dp), dimension (MN), intent(in) :: Dsexp, x1
real(kind=dp), dimension (ML), intent(in) :: par
real(kind=dp), dimension (MN), intent (inout)::Dscal
intent (in)::npar, N, intt

a=par(1)
b=par(2)
soma=0.0

do i = 1,N
if (intt==1) then
Dscal(i)=a*(x1(i)**2)+b*x1(i)+38.
else
Dscal(i)=(a*x1(i)/(b+x1(i)))+38.
end if
soma=soma+(Dscal(i)-Dsexp(i))**2
end do
ObjFunc = soma

end function ObjFunc

----- REGRESS -----
| Regress: Prepara as coordenadas de npar+1 vertices do simplex inicial
| no espaco npar-dimensional, e os valores da funcao y em cada um
| destes vertices, apos o que chama iAoeba e, de acordo com a
| linha retornada, transfere os parametros estimados para [x].
subroutine Regress (npar, x, ftol, MaxIter, N, Dsexp, x1, intt, ajuste, fdesv)

implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter :: dp=selected_real_kind(10,200)
integer, parameter :: ML = 8, MN=200
integer, intent (in)::npar,MaxIter, N, intt
real(kind=dp), intent(in)::Ftol
real(kind=dp), intent(out)::ajuste, fdesv
real(kind=dp), dimension (ML), intent (inout) :: x
real(kind=dp), dimension (MN)::Dscal
real(kind=dp), dimension (MN), intent(in) :: Dsexp, x1
real(kind=dp), dimension (ML+1,ML) :: p
real(kind=dp), dimension (ML+1) :: y

| Vertices do Simplex inicial:
do i = 2, npar+1
p(1,i-1) = x(i-1)
do j = 1, npar
if (i .eq. (j+1)) then
p(i,j) = 1.1D+0 * x(j)
else
p(i,j) = x(j)
end if
end do
end do

| Valores da funcao nos vertices:
do i = 1, npar+1
do j = 1, npar
x(j) = p(i,j)
end do
y(i) = ObjFunc (npar, x, N, Dscal, Dsexp, x1, intt)
end do

| Regressao:
iLow = iAoeba (p, y, npar, ftol, MaxIter, N, Dscal, Dsexp, x1, intt)

| Salvar os parametros estimados em [x]:
do i = 1, npar
x(i) = p(iLow,i)
end do

| Chama a função rquad e passa para o termo "ajuste" o resultado do coeficiente
ajuste = rquad(Dsexp, Dscal, N)

| Calcula a soma absoluta dos desvios entre os valores experimentais e calculados
fdesv=0.0
do i = 1, N
desv = 100.0D+0 * (Dsexp(i) - Dscal(i)) / Dsexp(i)
fdesv=fdesv+abs(desv)
end do

end subroutine Regress

```

```

! iEndAmeoba: Imprime resultados parciais na tela e/ou arquivo e testa
! se houve convergencia e se o numero de iteracoes nao foi
! ultrapassado.
! Retorna 1 (Convergencia ou iter >= MaxIter) ou 0 (Continua).
function iEndAmeoba (iter, MaxIter, rtol, ftol)
implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter :: dp=selected_real_kind(10,200)
integer, parameter :: ML = 8
integer::iEndAmeoba
real (kind=dp), intent (in) :: rtol, ftol
integer, intent (in) :: MaxIter, iter

iEndAmeoba = 0

if (rtol < ftol .OR. iter >= MaxIter) then
iEndAmeoba = 1
end if

end function iEndAmeoba

! iAmeoba: Minimiza a funcao objetivo de npar parametros ajustaveis.
! Retorna a linha da matriz p para a qual a funcao possui o menor valor.
function iAmeoba (p, y, npar, ftol, MaxIter, N, Dscal, Dsexp, xl, intt)
implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter :: dp=selected_real_kind(10,200)
integer, parameter::ML=8, MN=200
real(kind=dp), parameter :: ALPHA = 1.0D+0, BETA = 0.5D+0, GAMMA = 2.0D+0
real(kind=dp), dimension (MN), intent(in) :: Dsexp, xl
real(kind=dp), dimension (ML+1,ML), intent(inout) :: p
real(kind=dp), dimension (ML+1), intent(inout) :: y
real(kind=dp), dimension (MN), intent (inout)::Dscal
real(kind=dp), dimension (ML) :: pr, prr, pBar
intent (in) :: ftol
intent (in) :: npar, MaxIter, N, intt

npts = npar + 1
iter = 1
do while (.TRUE.)
ilo = 1
if (y(1) .gt. y(2)) then
ihi = 1
inhi = 2
else
ihi = 2
inhi = 1
end if
do i = 1, npts
if (y(i) .lt. y(ilo)) ilo = i
if (y(i) .gt. y(ihi)) then
inhi = ihi
ihi = i
else if (y(i) .gt. y(inhi)) then
if (i .ne. ihi) inhi = i
end if
end do

rtol=2.0D+0* abs(y(ihi)-y(ilo)) / (abs(y(ihi)) + abs(y(ilo)))

if (iEndAmeoba (iter, MaxIter, rtol, ftol) .eq. 1) then
iAmeoba = ilo
return
end if

```

```

iter = iter + 1
do j = 1, npar
  pBar(j) = 0.0D+0
end do
do i = 1, npts
  if (i .ne. ihi) then
    do j = 1, npar
      pBar(j) = pBar(j) + p(i,j)
    end do
  end if
end do
do j = 1, npar
  pBar(j) = pBar(j) / dfloat (npar)
  pr(j) = (1.0D+0 + ALPHA) * pBar(j) - ALPHA * p(ihi,j)
end do
ypr = ObjFunc(npar, pr, N, Dscal, Dsexp, xl, intt)
if (ypr .le. y(ilo)) then
  do j = 1, npar
    prr(j) = GAMMA * pr(j) + (1.0D+0 - GAMMA) * pBar(j)
  end do
  yprr = ObjFunc(npar, prr, N, Dscal, Dsexp, xl, intt)
  if (yprr .lt. y(ilo)) then
    do j = 1, npar
      p(ihi,j) = prr(j)
    end do
    y(ihi) = yprr
  else
    do j = 1, npar
      p(ihi,j) = pr(j)
    end do
    y(ihi) = ypr
  end if
else if (ypr .ge. y(inhi)) then
  if (ypr .lt. y(ihi)) then
    do j = 1, npar
      p(ihi,j) = pr(j)
    end do
    y(ihi) = ypr
  end if
  do j = 1, npar
    prr(j) = BETA * p(ihi,j) + (1.0D+0 - BETA) * pBar(j)
  end do
  yprr = ObjFunc(npar, prr, N, Dscal, Dsexp, xl, intt)
  if (yprr .lt. y(ihi)) then
    do j = 1, npar
      p(ihi,j) = prr(j)
    end do
    y(ihi) = yprr
  else
    do i = 1, npts
      if (i .ne. ilo) then
        do j = 1, npar
          pr(j) = 0.5D+0 * (p(i,j) + p(ilo,j))
          p(i,j) = pr(j)
        end do
      end if
      y(i) = ObjFunc (npar, pr, N, Dscal, Dsexp, xl, intt)
    end do
  end if
end do
else
  do j = 1, npar
    p(ihi,j) = pr(j)
  end do
  y(ihi) = ypr
end if
end do
end function iAmoeba

```

```

!Função rquad que calcula o quadrado do coeficiente de Pearson para determinar
!qual equação apresentou o melhor ajuste
function rquad(Dsexp, Dscal, N)
implicit integer (I-N), doubleprecision (A-H, O-Z)
integer, parameter::dp=8, MN=200
integer, intent(in)::N
real(kind=dp), dimension (MN), intent(in)::Dsexp
real(kind=dp), dimension (MN), intent(in)::Dscal

!iniciando todos os elementos para retirar valores das iterações passadas
rquad=0.0
somaexp = 0.0
somacalc = 0.0
expmedia = 0.0
calcmedia = 0.0
anum = 0.0
coef=0.0
den1=0.0
den2=0.0

do i=1,N
    somaexp = somaexp+Dsexp(i)
    somacalc = somacalc+Dscal(i)
end do

expmedia = somaexp/N
calcmedia = somacalc/N

do j=1,N
    anum = anum + ((Dsexp(j)-expmedia)*(Dscal(j)-calcmedia))
    den1 = den1 + (Dsexp(j)-expmedia)**2
    den2 = den2 + (Dscal(j)-calcmedia)**2
enddo

coef=(anum/(DSQRT(den1*den2)))**2
rquad=coef

end function rquad

end MODULE SIMPLEX

```