

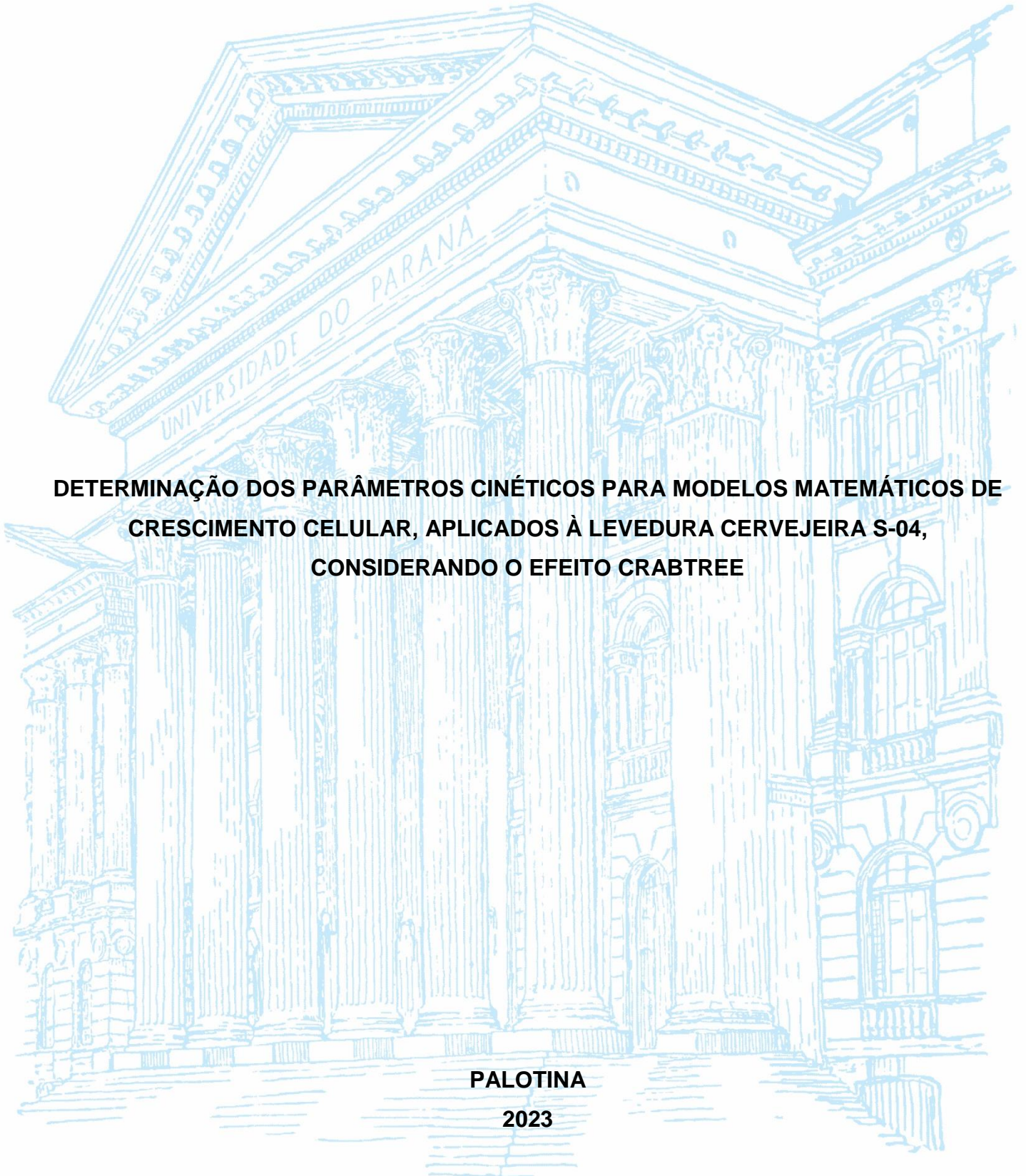
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**VINÍCIUS MURARO GONÇALVES**

**DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS PARA MODELOS MATEMÁTICOS DE  
CRESCIMENTO CELULAR, APLICADOS À LEVEDURA CERVEJEIRA S-04,  
CONSIDERANDO O EFEITO CRABTREE**

**PALOTINA**

**2023**



**VINÍCIUS MURARO GONÇALVES**

**DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS PARA MODELOS MATEMÁTICOS DE  
CRESCIMENTO CELULAR, APLICADOS À LEVEDURA CERVEJEIRA S-04,  
CONSIDERANDO O EFEITO CRABTREE**

TCC apresentado ao curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia do Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Jamal Abd Awadallak

**PALOTINA**

**2023**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIAS E EXATAS  
Rua Pioneiro, 2153, - - Bairro Jardim Dallas, Palotina/PR, CEP 85950-000  
Telefone: 3360-5000 - <http://www.ufpr.br/>

## ATA DE REUNIÃO

Ao primeiro dia do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e três, às nove horas, na Sala Virtual <https://teams.microsoft.com/join/19%3aki4ZnxG96jxaK0Erxa7-mc5l-9RN2gimcDZiUdfGVVs1%40thread.tacv2/1700000191625?context=%7b%22Tid%22%3a%22c37b37a3-e9e2-42f9-bc67-4b9b738e1df0%22%2c%22Oid%22%3a%22fd19e531-c914-489c-931a-f68fcac9c079%22%7d>, da Plataforma Microsoft Teams, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, realizou-se a Defesa Pública e Oral do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Determinação dos Parâmetros Cinéticos para Modelos Matemáticos de Crescimento Celular, Aplicados à Levedura Cervejeira S-04, Considerando o Efeito Crabtree" apresentado pelo discente Vinicius Muraro Gonçalves, orientado pelo Prof. Dr. Jamal Abd Awadallak, como um dos requisitos obrigatórios para conclusão do curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Iniciados os trabalhos, o orientador e Presidente da Banca concedeu a palavra ao discente, para exposição do seu trabalho. A seguir, foi concedida a palavra em ordem sucessiva aos membros da Banca de Exame, os quais passaram a arguir o discente. Ultimada a defesa, que se desenvolveu nos termos normativos, a Banca de Exame, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo atribuído ao discente as seguintes notas: Prof. Dr. Fabio Rogério Rosado, nota: 100 (cem) , Profa. Dra. Tania Sila Campioni Magon, nota: 90 (noventa), e Prof. Dr. Jamal Abd Awadallak, nota: 90 (noventa). A nota final do discente, após a média aritmética dos três membros da banca de exame, foi 94 (Noventa e Quatro). As considerações e sugestões feitas pela Banca de Exame deverão ser atendidas pelo discente sob acompanhamento de seu orientador. Nada mais havendo a tratar foi lavrada a presente ata, que, lida e aprovada, vai por todos assinada eletronicamente.



Documento assinado eletronicamente por **JAMAL ABD AWADALLAK, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/12/2023, às 10:15, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **TANIA SILA CAMPIONI MAGON, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/12/2023, às 10:15, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **FABIO ROGERIO ROSADO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/12/2023, às 10:19, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **6190504** e o código CRC **A116E8BA**.

---

*"The grass was greener;  
The light was brighter;  
The taste was sweeter;  
The nights of wonder;  
With friends surrounded;  
The dawn mist glowing;  
The water flowing;  
The endless river;  
Forever and ever."*

*Pink Floyd*

## RESUMO

Considerando um bioprocesso qualquer, como a propagação de leveduras, sempre se espera controle sobre este, com valores e condições que se possa prever, quantificar e conduzir de forma a se esperar com segurança um resultado que é desejado, evitando erros. Para isso, este trabalho se propõe a: (a) determinar os parâmetros cinéticos do crescimento de levedura cervejeira de forma aeróbia e anaeróbia, em diferentes condições de substrato e inóculo, avaliando diferentes modelos baseados na equação de Monod, buscando um modelo que melhor descrevam este processo na realidade, com o maior ajuste entre os dados experimentais e os calculados, e (b) buscar um modelo que possa representar o efeito Crabtree. Com o estudo realizado, se chegou a um sistema de equações que integra o metabolismo da levedura de forma aeróbia e anaeróbia, com boa capacidade de predição (erro em MSE = 0,04563) para condições aeróbias que favoreceriam o efeito Crabtree, bem como também se chegou a uma modelagem satisfatória para o modo anaeróbio (erro em MSE = 0,05973) com um termo de inibição pelo substrato, além de se concluir que a equação de Monod apresenta capacidade de modelagem mais próxima da realidade quando adaptada conforme se faz necessário para o tipo de experimento e/ou forma de predição em que é conduzido.

Palavras-Chave: Predição. Sistemas de Equações. Crabtree. Monod.

## **ABSTRACT**

Considering any bioprocess, such as the propagation of yeasts, control over it is always expected, with values and conditions that can be predicted, quantified, and managed to safely expect a desired outcome, thus avoiding errors. For this, this work proposes to: (a) determine the kinetic parameters of brewer's yeast growth aerobically and anaerobically, under different substrate and inoculum conditions, evaluating different models based on the Monod equation, seeking a model that better describes this process in reality, with the greatest adjustment between experimental and calculated data, and (b) find a model that can represent the Crabtree effect. From the study conducted, a system of equations was reached that integrates the metabolism of the yeast aerobically and anaerobically, with good predictive capacity (error in MSE = 0.04563) for aerobic conditions that would favor the Crabtree effect, as well as satisfactory modeling for the anaerobic mode (error in MSE = 0.05973) with a substrate inhibition term, in addition to concluding that the Monod equation has a modeling capacity closer to reality when adapted as necessary for the type of experiment and/or form of prediction in which it is conducted.

Keywords: Prediction, System of Equations, Crabtree, Monod.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	6
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	7
2.1 DETERMINAÇÃO DAS EQUAÇÕES DO MODELO MATEMÁTICO .....	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	9
4. CONCLUSÕES .....	15
REFERÊNCIAS.....	15



# DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS PARA MODELOS MATEMÁTICOS DE CRESCIMENTO CELULAR, APLICADOS À LEVEDURA CERVEJEIRA S-04, CONSIDERANDO O EFEITO CRABTREE

<sup>1</sup>Vinícius M. Gonçalves, <sup>2</sup>Jamal A. Awadallak

<sup>1</sup>e-mail:viniciusmurarog@gmail.com

<sup>2</sup>email:jamal@ufpr.br

## RESUMO

Considerando um bioprocesso qualquer, como a propagação de leveduras, sempre se espera controle sobre este, com valores e condições que se possa prever, quantificar e conduzir de forma a se esperar com segurança um resultado que é desejado, evitando erros. Para isso, este trabalho se propõe a: (a) determinar os parâmetros cinéticos do crescimento de levedura cervejeira de forma aeróbia e anaeróbia, em diferentes condições de substrato e inóculo, avaliando diferentes modelos baseados na equação de Monod, buscando um modelo que melhor descrevam este processo na realidade, com o maior ajuste entre os dados experimentais e os calculados, e (b) buscar um modelo que possa representar o efeito Crabtree. Com o estudo realizado, se chegou a um sistema de equações que integra o metabolismo da levedura de forma aeróbia e anaeróbia, com boa capacidade de predição (erro em MSE = 0,04563) para condições aeróbias que favoreceriam o efeito Crabtree, bem como também se chegou a uma modelagem satisfatória para o modo anaeróbio (erro em MSE = 0,05973) com um termo de inibição pelo substrato, além de se concluir que a equação de Monod apresenta capacidade de modelagem mais próxima da realidade quando adaptada conforme se faz necessário para o tipo de experimento e/ou forma de predição em que é conduzido.

Palavras-Chave: Predição. Sistemas de Equações. Crabtree. Monod.

## DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS FOR MATHEMATICAL MODELS OF CELL GROWTH, APPLIED TO BREWER'S YEAST S-04, CONSIDERING THE CRABTREE EFFECT

### ABSTRACT

*In considering any bioprocess, such as yeast propagation, control over it is always expected, with values and conditions that can be predicted, quantified, and managed to safely anticipate a desired outcome, thus avoiding errors. For this purpose, this work aims to: (a) determine the kinetic parameters of the growth of brewer's yeast both aerobically and anaerobically, under different substrate and inoculum conditions, evaluating different models based on the Monod equation, seeking a model that best describes this process in reality, with the greatest fit between experimental and calculated data, and (b) find a model that can represent the Crabtree effect. Through the study conducted, a system of equations was reached that integrates the metabolism of the yeast both aerobically and anaerobically, with good predictive ability (error in MSE = 0.04563) for aerobic conditions that would favor the Crabtree effect, as well as satisfactory modeling for the anaerobic mode (error in MSE = 0.05973) with a substrate inhibition term. It was also concluded that the Monod equation has a modeling capacity closer to reality when adapted as necessary for the type of experiment and/or form of prediction in which it is conducted.*

*Keywords: Prediction. System of Equations. Crabtree. Monod.*

## 1. INTRODUÇÃO

A propagação de leveduras cervejeiras provém da seleção de uma estirpe que tem o crescimento iniciado em condições ideais, até o seu processo de fermentação, onde estas têm um início mais acelerado devido à redução de sua fase lag. Fases lag maiores implicam em menor aptidão competitiva em ambientes diversos, além de fermentações menos eficientes. Em termos metabólicos, a levedura S-04 se destaca pelo seu desempenho em diferentes condições ambientais. Sob condições aeróbias, ela exibe um metabolismo respiratório, enquanto em ambientes anaeróbios, como os encontrados na fermentação de cerveja, ela se adapta a um metabolismo fermentativo. Esta flexibilidade metabólica torna a S-04 uma escolha popular em diversas aplicações de fermentação, além de operar em uma ampla faixa de temperatura sem alterar significativamente o seu funcionamento metabólico [7] [8] [9].

A taxa inicial de inóculo, bem como de substrato, são um fator decisivo no processo de propagação, assim como para a produção de uma cerveja. Estes fatores determinam a taxa de fermentação e influenciam diretamente no produto final, havendo cervejeiros e até pequenas cervejarias que conduzem propagação objetivando uma cerveja com um gosto mais

agradável, denotando a importância destes parâmetros para processos, produtos e indivíduos [6] [7] [9].

Um efeito que está diretamente relacionado com este objetivo é o 'Efeito Crabtree' que, em *Saccharomyces cerevisiae*, é definido como a repressão da respiração, para condições aeróbicas, na presença de fontes de carbono (açúcar). É argumentado que é o fluxo de energia da fonte de carbono que causa a repressão e não a presença de substrato em si, o que denota uma conversão maior de biomassa para uma baixa presença de substrato, apesar de ainda não se saber totalmente como o metabolismo da levedura é integrado a este efeito [1].

Ao se estudar o Efeito Crabtree, este se mostra uma incógnita ainda maior quando se busca uma modelagem matemática que possa integrá-lo ao metabolismo das leveduras de forma que se possa determinar e prever um bioprocessos com tal microrganismo.

Assim, este trabalho busca entender o rendimento da propagação da levedura S-04, bem como sua velocidade de crescimento em diferentes concentrações de substrato e inóculo, e os parâmetros cinéticos associados a estes fatores, considerando o Efeito Crabtree para tal. Assim, a contagem celular obtida para cada um dos experimentos fornece os dados em que os parâmetros serão ajustados a estes, por meio de sistemas de equações diferenciais.

QUADRO 1 – NOMENCLATURAS/DEFINIÇÕES QUE SERÃO UTILIZADAS

[C]	Espécie química qualquer
t	Tempo
X	Biomassa
S	Substrato
r	Lei de velocidade
u	Velocidade específica de crescimento
umax	Velocidade específica máxima de crescimento
Ks	Constante de Monod
Yxs	Varição de massa de novas células formadas por substrato consumido: $-(X_i - X_f)/(S_i - S_f)$
Smax	Concentração máxima de substrato suportada antes de uma inibição começar a ocorrer
ni	Coefficiente de inibição
ky	Constante de variação do rendimento em relação ao substrato inicial
n	Número total de dados/experimentos

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados experimentais que constam neste trabalho foram obtidos por meio da contagem de células com câmara de Neubauer em diversas horas após a inoculação destas em um meio contendo extrato de malte seco. Como inoculante, se utilizou da levedura cervejeira 'Fermentis Fermento Levedura SafAle S-04'.

Os experimentos foram idealizados para serem realizados conforme é mostrado na tabela 1 e 2.

TABELA I – SÉRIE DE EXPERIMENTOS AERÓBIOS

EXPERIMENTOS	CONDIÇÕES INICIAIS	
	AERÓBIOS	S0 (G/L) X0 (G/L)
1	100	2
2	100	2
3	30	3,4
4	170	0,6
5	30	0,6
6	170	6
7	1,3	2

TABELA II – SÉRIE DE EXPERIMENTOS ANAERÓBIOS

EXPERIMENTOS	CONDIÇÕES INICIAIS	
	ANAERÓBIOS	S0(G/L) X0(G/L)
1	100	2
2	100	2
3	170	0,6
4	30	0,6
5	1,3	2

Todos os 12 experimentos foram realizados em enlenmeyers previamente esterilizados, com 500 mL de água e em agitação magnética constante até que a leitura na câmara de Neubauer se estabilizasse. Os experimentos aeróbios foram ligados a uma bomba de ar que injetava ar diretamente dentro do meio líquido; e os experimentos anaeróbios foram lacrados com um airlock.

Para determinar a quantidade de células, em milhões de células / mL, se utilizou dos métodos de Lucarini [4] e da fórmula que segue:

$$\frac{\text{Número de células} * 250000 * Fd}{1 * 10^6} \quad (01)$$

Onde Fd é o fator de diluição, o valor elevado a sexta visa o resultado em milhões de célula e 250000 representa o número de células por volume na câmara.

Tendo todos os experimentos se concluído, se pode ajustar os dados obtidos aos parâmetros que compõem as equações que posteriormente serão utilizadas.

### 2.1 Determinação Das Equações Do Modelo Matemático

Dado uma equação de projeto de um reator batelada, temos que a taxa de variação com o tempo de uma espécie química qualquer é igual a uma lei de velocidade, ou seja:

$$\frac{d[C]}{dt} = r \quad (02)$$

Tendo que a lei de velocidade é uma velocidade específica de crescimento, temos as equações (03) e (04), com esta última sendo a equação de Monod [5].

$$r = \mu * X \quad (03)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} * S}{Ks + S} \quad (04)$$

Considerando não apenas uma espécie química qualquer, mas sim a biomassa, obtemos a equação que segue:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} * S * X}{Ks + S} \quad (05)$$

Sabendo há uma proporcionalidade entre a variação do substrato com o tempo, com a variação de biomassa, então se adiciona o termo genérico  $k$  para tal representação:

$$\frac{dS}{dt} = -k * \frac{dX}{dt} \quad (06)$$

A mesma lógica poderia ser utilizada para a criação de uma equação para os produtos, mas o objetivo deste trabalho é referente apenas ao crescimento de levedura e o seu respectivo consumo de substrato. Seguindo, o termo “ $k$ ” recebe o nome  $Y_{xs}$ , representando a massa de células que são formadas pelo tanto de substrato que é consumido, servindo como uma “estequiometria” para a equação. Com isso e as devidas substituições usando a equação (05) em (06), ficamos com o as equações para biomassa e para substrato:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \quad (07)$$

$$\frac{dS}{dt} = - \left( \frac{1}{Y_{xs}} \right) * \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \quad (08)$$

Estas duas equações já formam um sistema juntas para descrever um bioprocesso, mas iremos considera-las como um sistema ao discretizá-las por meio do método das diferenças finitas, onde derivadas na equação diferencial são substituídas por fórmulas de diferenças finitas, que são expressões que aproximam as derivadas com base nos valores da função nos pontos de grade, dado por “ $h$ ”, viabilizando a implementação do sistema para uma resolução por meios numéricos, onde temos o sistema da seguinte forma:

### Sistema de equações 1

$$\begin{cases} X_{n+1} = X_n + \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \right) * h \\ S_{n+1} = S_n - \left( \frac{1}{Y_{xs}} \right) * \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \right) * h \end{cases}$$

O sistema de equações 1 já é capaz de prever o crescimento de uma biomassa de leveduras, porém, conforme estudado por Flickinger e Drew [2] e depois presente no trabalho de Liu Yu [3], a equação de Monod (componente principal do sistema de equações acima) serve mais como um meio para se chegar a um cálculo numérico, mas não como base em si para um, sendo definido como “uma fórmula matemática baseada em regressão”. Ou seja, para visar uma modelagem mais precisa, este sistema aceita modificações conforme se vê necessário para tal. Desta forma, forma utilizadas as equações que seguem já em suas formas discretizadas compondo um novo sistema:

### Sistema de equações 2

$$\begin{cases} X_{n+1} = X_n + \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} * \left( 1 - \frac{S}{S_{max}} \right)^{ni} \right) * h \\ S_{n+1} = S_n - \left( \frac{1}{Y_{xs}} \right) * \left( \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \right) * \left( 1 - \frac{S}{S_{max}} \right)^{ni} \right) * h \end{cases}$$

O sistema de equações 2 conta com o termo  $\left( 1 - \frac{S}{S_{max}} \right)^{ni}$  que busca prever o efeito de inibição pelo substrato na taxa de crescimento. À medida que a concentração de substrato  $S$  se aproxima do valor máximo  $S_{max}$ , esse termo diminui. O expoente “ $ni$ ” ajusta a sensibilidade do crescimento à inibição pelo substrato.

Há ainda uma última equação que pode ser implementada à Monod, que é:

$$\mu_{an} = \frac{\mu_{max_{an}} * S * X}{K_{s_{an}} + S} \quad (09)$$

A equação (09) considera a repressão da respiração celular devido ao Efeito Crabtree. Desta forma, foi proposto um novo modelo considerando tanto a respiração quanto a fermentação celular, buscando integrar os dois metabolismos da levedura ao adicioná-lo no sistema de equações 1, ficando da seguinte forma:

### Sistema de equações 3

$$\begin{cases} X_{n+1} = X_n + \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} + \frac{\mu_{max_{an}} * S * X}{K_{s_{an}} + S} \right) * h \\ S_{n+1} = S_n - \left( \frac{1}{Y_{xs}} * \left( \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S} \right) + \frac{1}{Y_{xs_{an}}} * \left( \frac{\mu_{max_{an}} * S * X}{K_{s_{an}} + S} \right) \right) * h \end{cases}$$

Para a equação referente ao substrato no sistema de equações 3, se considera que:

$$Y_{xs} = Y_{xs_{max}} - ky * S \quad (10)$$

Observação:  $Y_{xs_{an}}$  é definido como um parâmetro.

Nos sistemas de equações mostrados, se tem diferentes parâmetros otimizáveis para cada um respectivamente.

A equação (10) tem como constantes o  $Y_{xs\_max}$  e  $ky$ , que pode ser obtido por meio de uma linha de tendência feita entre os pontos obtidos experimentalmente entre  $Y_{xs}$  e  $S_0$ , respectivamente para o aeróbio e o anaeróbio, e a equação do primeiro grau formada nos fornece “ $a$ ” e “ $b$ ”, que são  $ky$  e  $Y_{xs\_max}$ , nesta ordem.

Tendo os parâmetros ajustados, as constantes encontradas e os valores iniciais, se aplicou os sistemas de equações 1, 2 e 3 para os dados experimentais com expectativa de uma otimização que forneça um baixo erro e um bom ajuste. Cada código terá como forma de otimização o método Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno (BFGS), um algoritmo iterativo para resolver problemas de otimização não-linear sem restrições, que usa o gradiente da função objetivo para direcionar a busca pelo mínimo em cada iteração. Deste método surge a função “minimize”, que faz parte do SciPy, uma biblioteca de software em Python para matemática e engenharia em geral. A função minimize foi usada para encontrar o ponto mínimo de uma função; ou seja, o minimize usa o BFGS para encontrar o ponto em que a função alcança seu mínimo, começando de um palpite inicial.

Para todas as modelagens realizadas utilizando os respectivos sistemas de equações para o anaeróbio e para o aeróbio, se calculou o erro associado a estes com o erro quadrático médio (MSE, do inglês Mean Squared Error) que é

uma medida comum de erro de previsão em modelos estatísticos e é definido pela fórmula:

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - \hat{X}_i)^2 \quad (11)$$

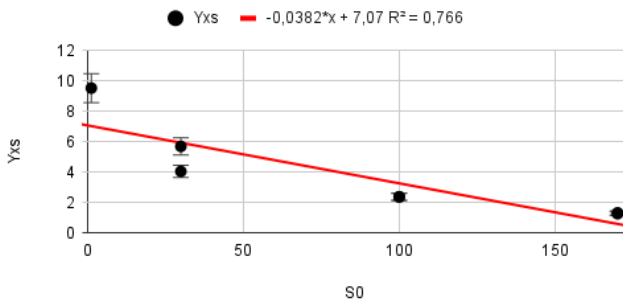
Onde n é o número total de dados,  $X_i$  os valores reais e  $\hat{X}_i$  os valores preditos por um modelo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se notar os experimentos realizados, fica evidente – assim como mostra na figura 1 – que há um padrão crescente de valores de  $Y_{xs}$  quando  $S_0$  é menor.

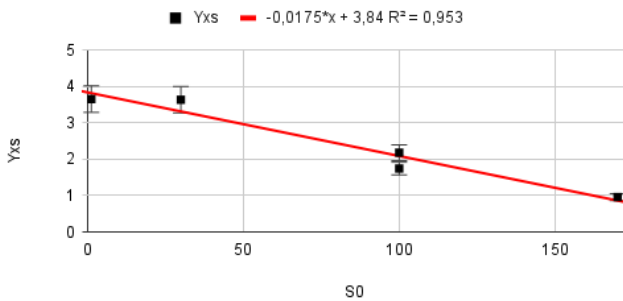
Linha de tendência de  $S_0$  e  $Y_{xs}$

Aeróbio



Linha de tendência de  $S_0$  e  $Y_{xs}$

Anaeróbio



**Figura 1- Gráficos com linha de tendência e equação para determinação de  $Y_{xs\_max}$  e  $k_y$**

A visualização de  $Y_{xs}$  se tornando maior para condições iniciais de substrato menores, pode ser melhor visualizado nas tabelas 3 e 4:

TABELA III– VALORES DE  $Y_{XS}$  EM ORDEM CRESCENTE, JUNTO DE  $S_0$ , PARA EXPERIMENTOS AERÓBIOS

Experimentos aeróbios	$S_0$ (g/L)	$Y_{XS}$ (mi cel/mL)/ (g/L)
6	170	1,2485
4	170	1,3092
2	100	2,3568

1	100	2,3675
5	30	4,0354
3	30	5,6833
7	1,3	9,5192

TABELA IV– VALORES DE  $Y_{XS}$  EM ORDEM CRESCENTE, JUNTO DE  $S_0$ , PARA EXPERIMENTOS ANAERÓBIOS

Experimentos anaeróbios	$S_0$ (g/L)	$Y_{XS}$ (mi cel/mL)/ (g/L)
3	170	0,9572
2	100	1,7425
1	100	2,1783
4	30	3,6359
5	1,3	3,6538

Destacando os experimentos 7, 3 e 5 da forma de condução aeróbia, se nota uma conversão de biomassa significativamente maior que os outros experimentos que estão em condições maiores de substrato. Se conclui então que tais experimentos (aeróbios) estão sob o efeito Crabtree, assim como já era previsto conforme a literatura. Já para os anaeróbios, o mesmo padrão é verdadeiro, porém com uma conversão de biomassa muito menor, mesmo quando nas mesmas concentrações, evidenciando que este último não sofre o mesmo efeito, mas sim uma inibição pelo substrato, ficando evidente mesmo quando se leva em conta possíveis erros associados aos experimentos.

Para a elaboração de um modelo matemático capaz de prever a concentração de células nas condições avaliadas, houve uma primeira tentativa utilizando o sistema de equações 1, com Monod sem nenhuma modificação, mas depois se chegou a hipótese de uma inibição por substrato, assim como reparado na tabela 4, sendo quando se utilizou o sistema de equações 2, que foi eficiente para ajustar os parâmetros dos experimentos anaeróbios, mas não para o aeróbio, onde foi necessário utilizar o sistema de equações 3 apenas para este meio de condução, visando um melhor ajuste do modelo aos dados experimentais. O resultado de como se deu a modelagem de cada experimento para cada forma de condução, usando cada um dos sistemas de equação citados, os parâmetros alcançados com cada modelo e o gráfico de predição dos respectivos modelos podem ser conferidos nas figuras que seguem.

Primeiramente, seguem os resultados dos anaeróbios:

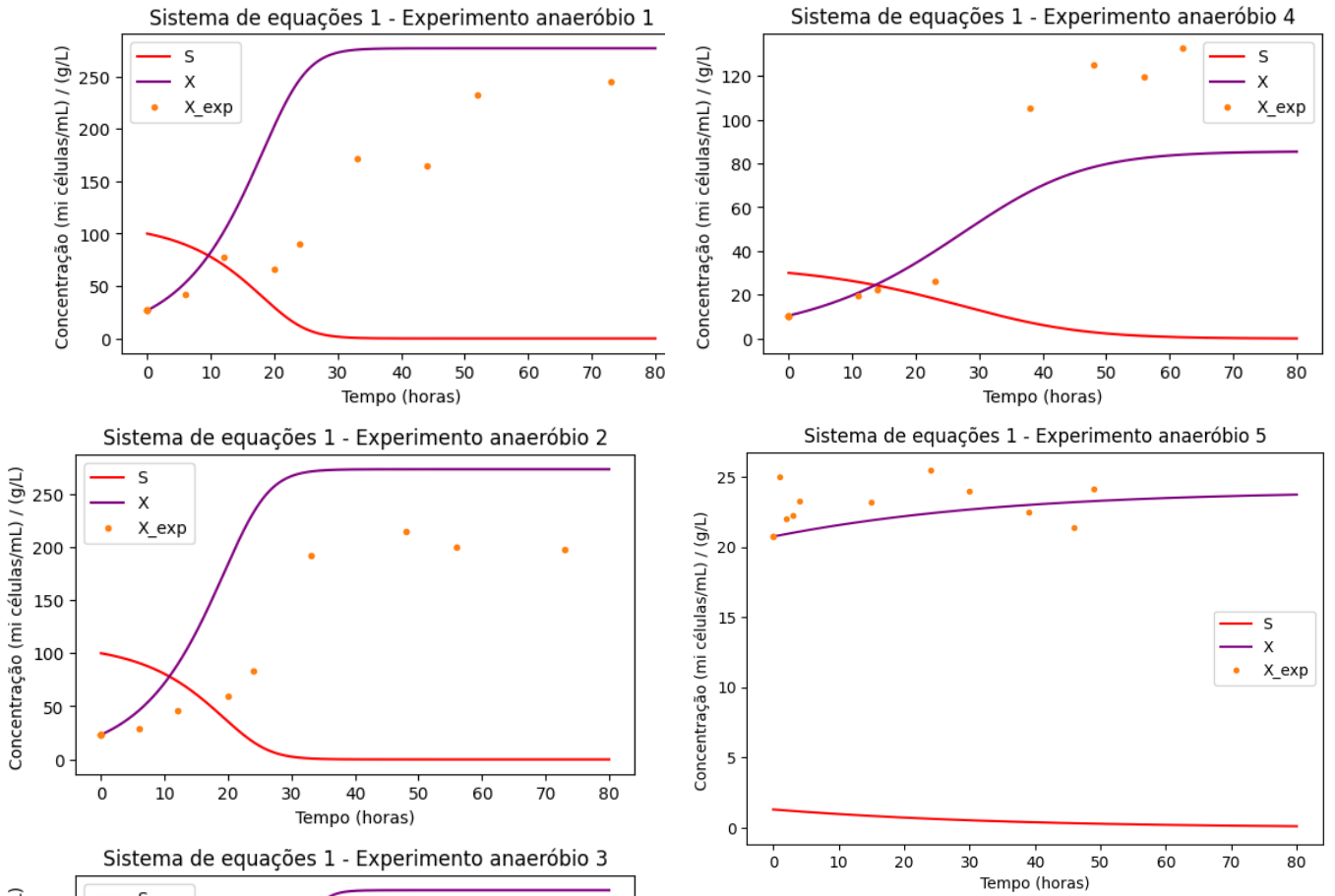


Figura 2 - Gráficos da modelagem dos experimentos anaeróbios utilizando o sistema de equações 1

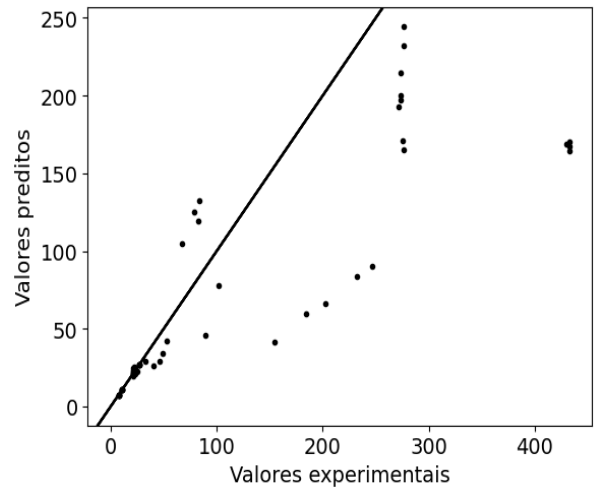


Figura 3- Valores preditos pelo sistema de equações 1 em função dos valores experimentais para o anaeróbio

Parâmetros cinéticos alcançados após otimização, utilizando o sistema de equações 1 para o anaeróbio:

- $u_{max} [1/h] = 0,07893$
- $K_s [g/L] = 8,956$
- $Y_{xs} [(mi\ cel/ml)/(g/L)] = 2,698$

Erro associado:

- $MSE = 0,09156$

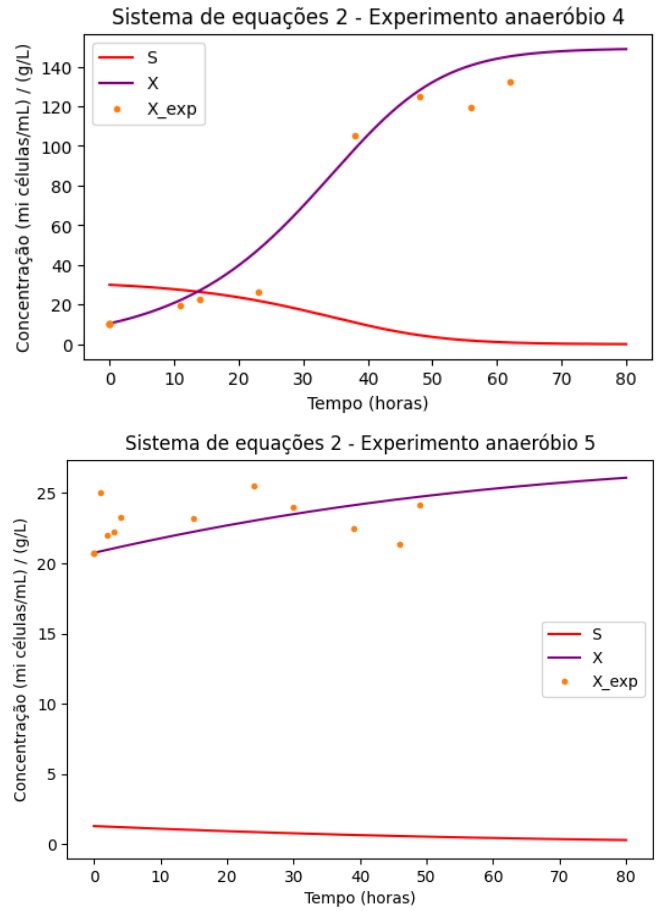
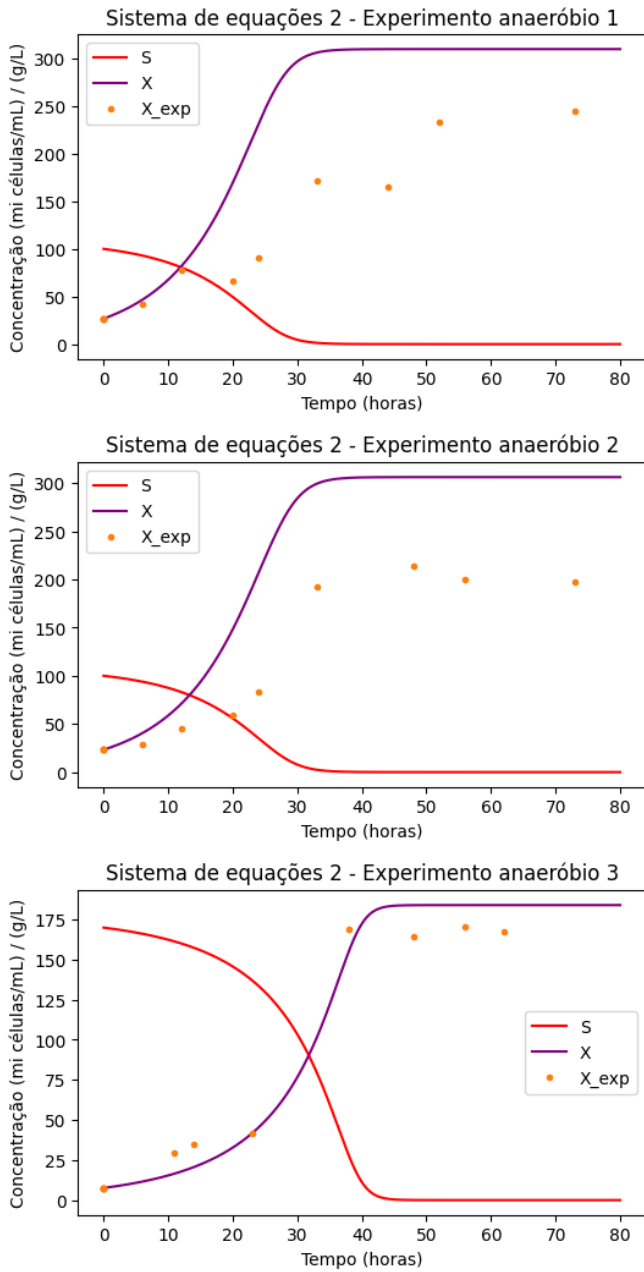


Figura 4 - Gráficos da modelagem dos experimentos anaeróbios utilizando o sistema de equações 2

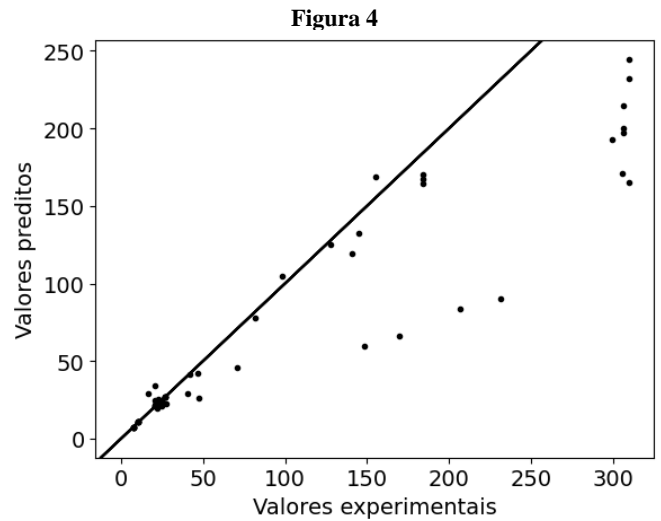


Figura 5 - Valores preditos pelo sistema de equação 2 em função dos valores experimentais para o anaeróbio

Parâmetros cinéticos alcançados após otimização, utilizando o sistema de equações 2 para o anaeróbio:

- $u_{max} [1/h] = 0,2071$
- $K_s [g/L] = 50$
- $S_{max} [g/L] = 300$
- $n_i = 1$

Erro associado:

- $MSE = 0,05973$

Seguem agora os resultados obtidos com os modelos matemáticos para os experimentos aeróbios:

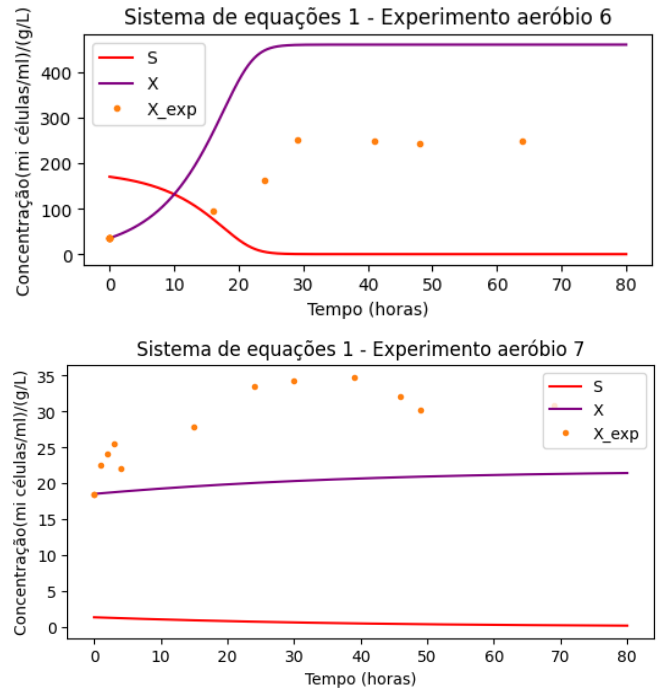
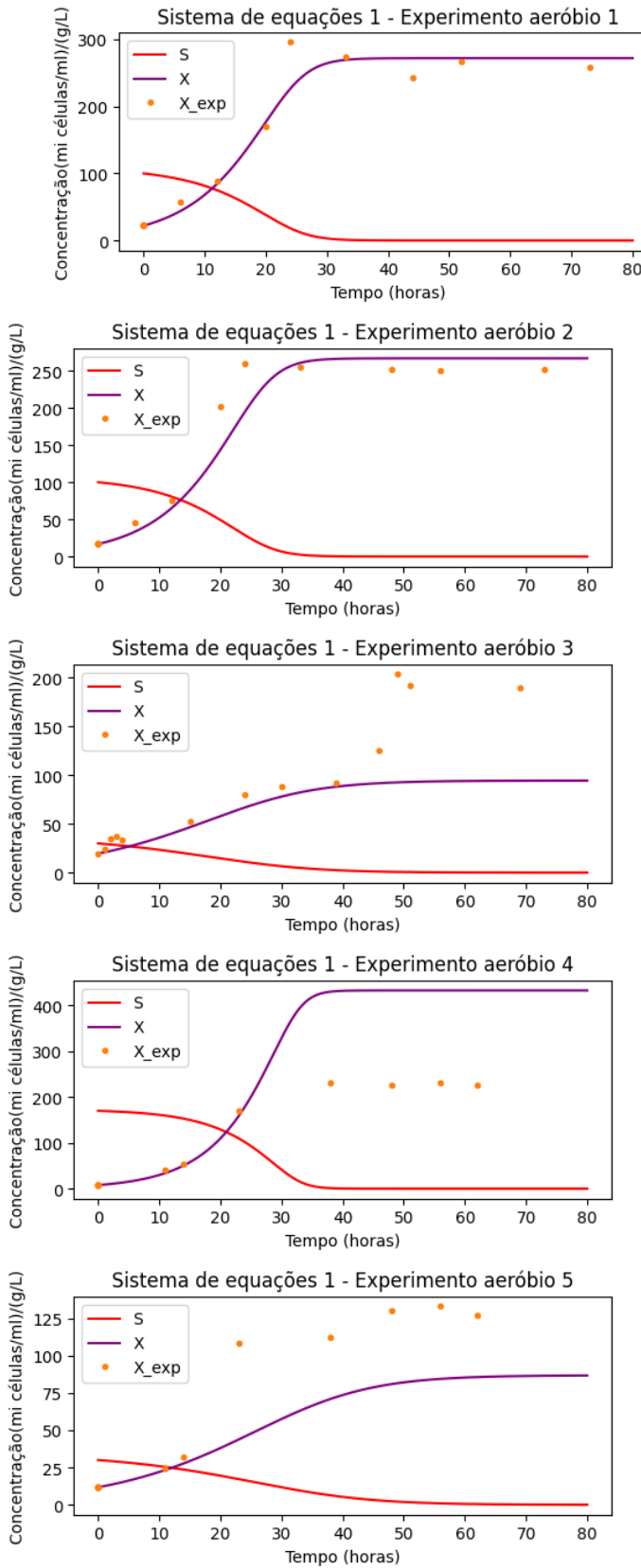


Figura 6 - Gráficos da modelagem dos experimentos aeróbios utilizando o sistema de equações 1

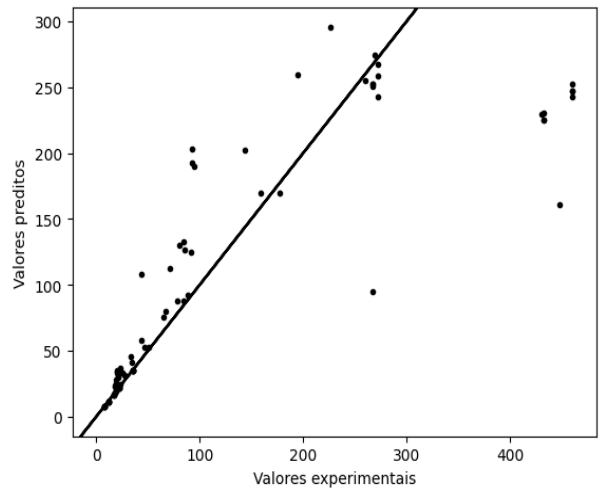


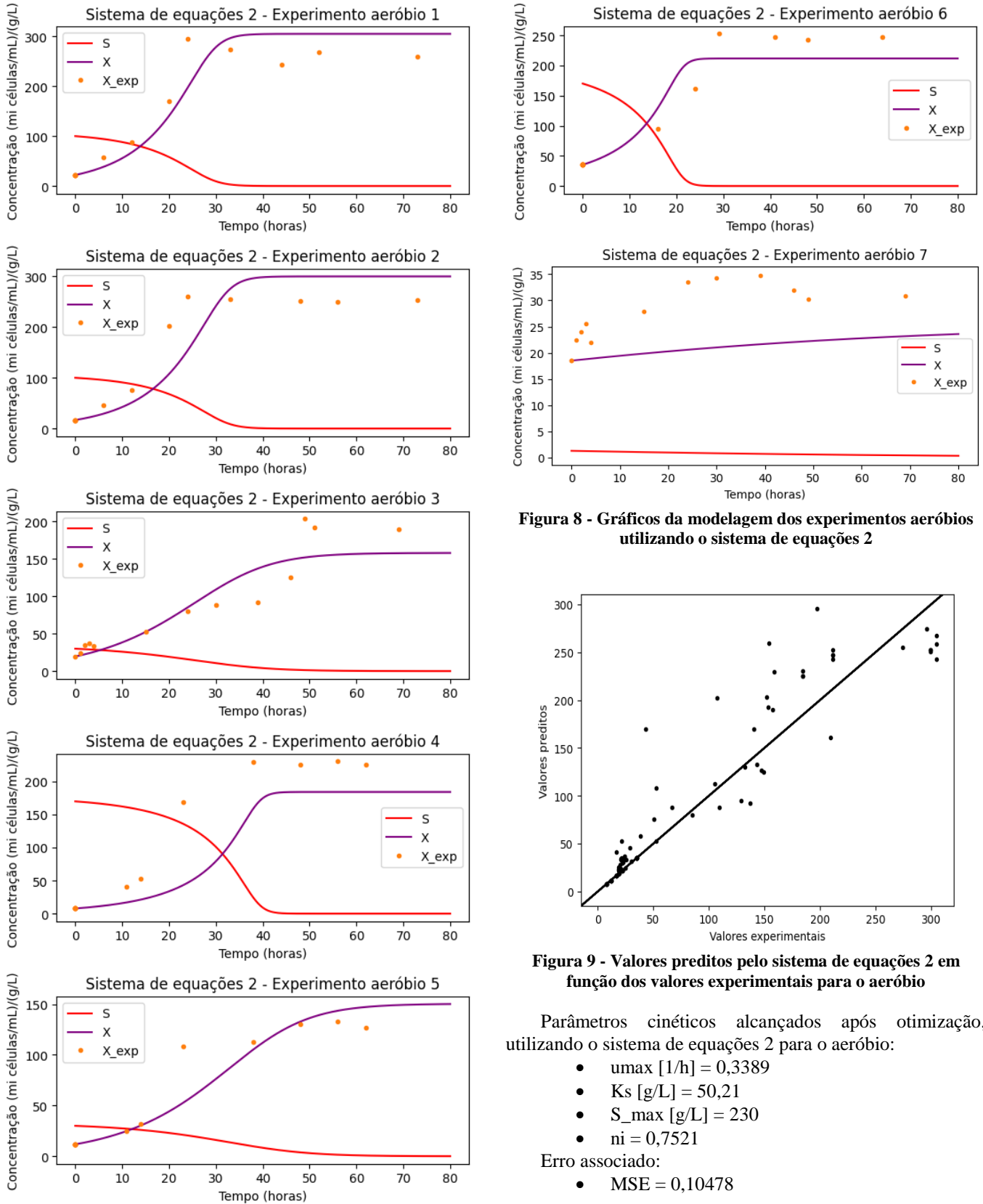
Figura 7 – Valores preditos pelo sistema de equação 1 em função dos valores experimentais para o aeróbio

Parâmetros cinéticos alcançados após otimização, utilizando o sistema de equações 1 para o aeróbio:

- $\mu_{max}$  [1/h] = 0,1363
- $K_s$  [g/L] = 8,218
- $Y_{xs}$  [(mi cel/ml)/(g/L)] = 3,262

Erro associado:

- MSE = 0,16107





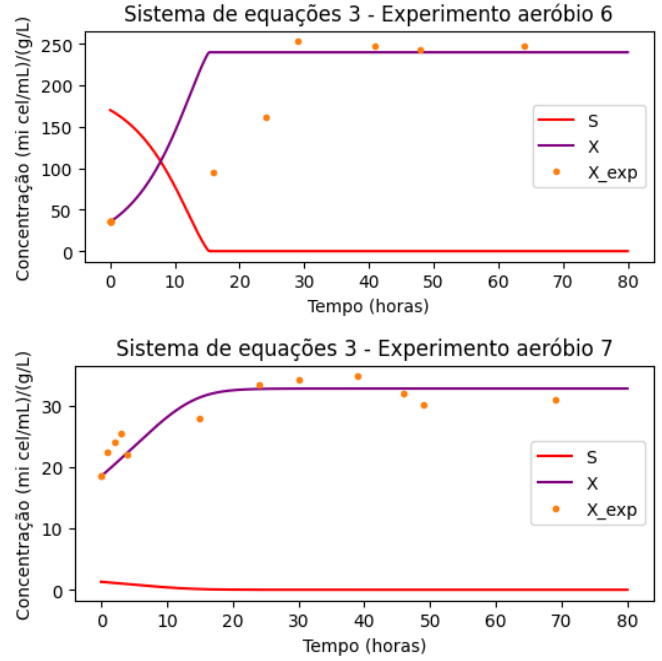
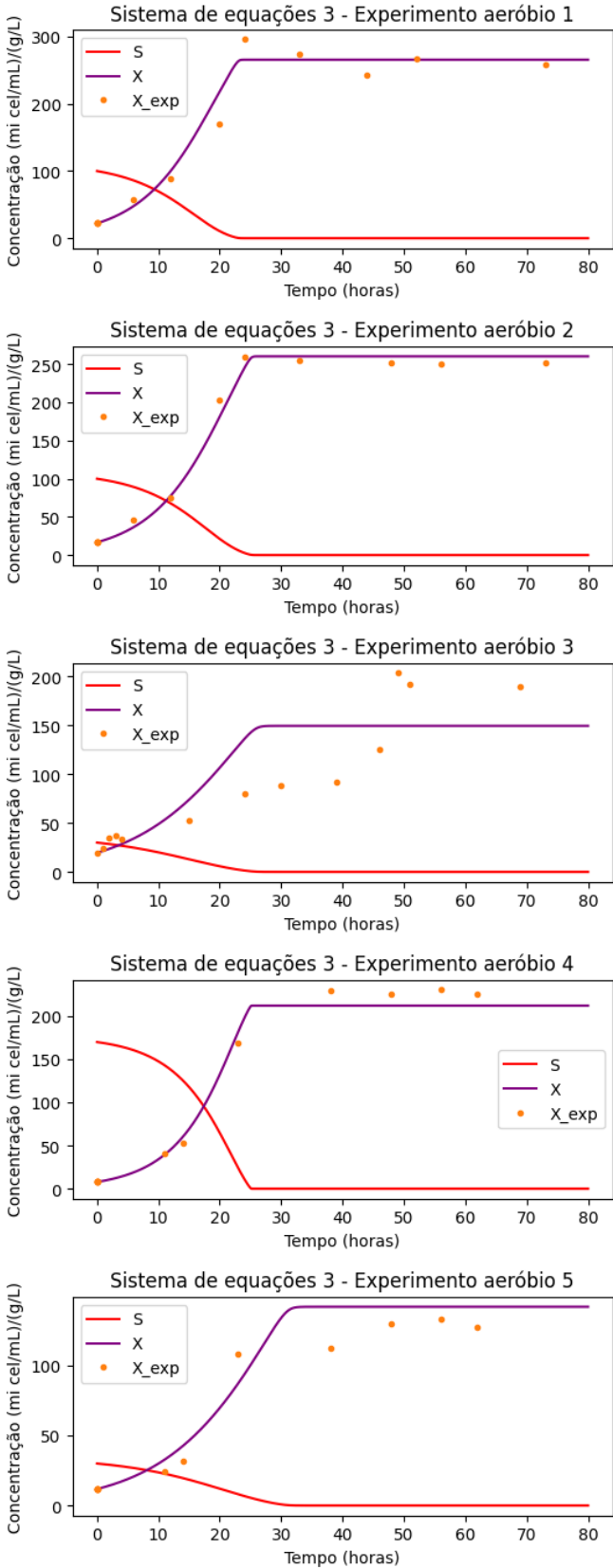


Figura 10 - Gráficos da modelagem dos experimentos aeróbios utilizando o sistema de equações 3

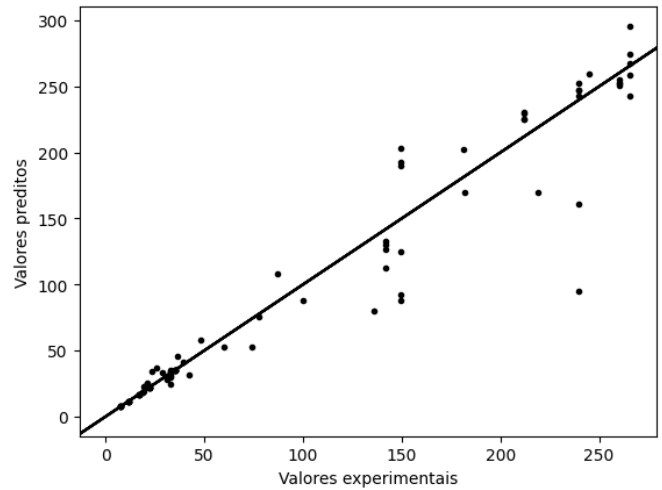


Figura 11 - Valores preditos pelo sistema de equação 3 em função dos valores experimentais para o aeróbio

Parâmetros cinéticos alcançados após otimização, utilizando o sistema de equações 3 para o aeróbio:

- $u_{max}$  [1/h] = 0,06469
- $K_s$  [g/L] = 0,45780
- $Y_{xs\_max}$  [(mi cel/ml)/(g/L)] = 14,110
- $K_y = 0,07525$
- $u_{max\_an}$  [1/h] = 0,13020
- $K_{s\_an}$  [g/L] = 91,330
- $Y_{xs\_an}$  [(mi cel/ml)/(g/L)] = 1,084

Erro associado:

- $MSE = 0,04563$

A análise para os modelos anaeróbios demonstrou que, ao adicionar um termo de inibição nas equações, o modelo matemático resultou em um MSE reduzido para a análise do metabolismo anaeróbio. Esta observação confirma a validade

da hipótese de inibição por substrato. A abordagem adotada proporcionou uma representação eficaz do metabolismo anaeróbio com ajustes mínimos necessários na equação base de Monod.

Considerando os modelos matemáticos avaliados com seus respectivos parâmetros ajustados, se nota uma diferença entre os erros dos modelos aeróbios e anaeróbios. Isso se dá por diversos motivos, sendo que um deles é que o MSE penaliza erros muito grandes, como os outliers, mas isso contribui para que os parâmetros se ajustem melhor, justificando a escolha de trabalhar com erro médio quadrático.

Nota-se também que o erro para o aeróbio ficou muito mais baixo quando se utilizou o sistema de equações 3, que conta com um termo que integra o metabolismo aeróbio ao anaeróbio, demonstrando, de certa forma, que o modelo matemático para o aeróbio se torna mais preciso quando se leva em conta o efeito Crabtree, com a curva de X se aproximando mais dos valores experimentais  $X_{exp}$ . Ou seja, apenas com o sistema de equações 3 se chega à resultados que antes não se alcançava, como se pode notar para o experimento 7 e 5 que não teve uma curva bem ajustada aos dados com os outros dois sistemas, mas que tiveram uma modelagem coerente com os dados experimentais ao usar a equação (09). Porém, apesar dos sistemas 1 e 2 não serem os de melhor resultado para o aeróbio, é visto que estes ainda apresentam resultados satisfatórios quando não tratam de experimentos com valores muito altos nem muito baixos de concentração de substrato, como os experimentos 1 e 2 que apresentam estes valores baixos, e também para os experimentos 4 e 6 que tem valores muito altos, com  $S_0(g/L)$  de 170, mas o termo de inibição pelo substrato do sistema de equações 2 já cumpre seu papel em apresentar um melhor ajuste do modelo.

O mesmo se nota para o anaeróbio que tem suas equações demonstrando valores mais próximos do real quando não se utiliza as equações simples de Monod do sistema de equações 1, como é visto nas figuras 5 e 3.

#### 4. CONCLUSÕES

Neste estudo, foi investigada a determinação dos parâmetros cinéticos em modelos matemáticos de crescimento celular da levedura cervejeira S-04, enfocando o Efeito Crabtree. Os resultados indicaram que a adaptação do modelo de Monod, com a inclusão de parâmetros adicionais e a análise da interação entre os metabolismos aeróbio e anaeróbio, proporciona uma descrição mais precisa do comportamento da levedura.

Foi observado que o sistema de equações 3, apesar de sua complexidade e das dificuldades na estimação inicial dos parâmetros, foi eficaz no ajuste do crescimento celular em condições aeróbias, apresentando um Mean Squared Error (MSE) de 0.04563, um valor inferior ao obtido no modelo anaeróbio (MSE de 0.05973). Esta constatação sublinha a eficiência do modelo na representação do Efeito Crabtree e sua influência no metabolismo da levedura.

A introdução de um termo de inibição pelo substrato no sistema de equações 2 demonstrou ser significativa,

particularmente nos experimentos anaeróbios, ao melhorar a precisão do ajuste do modelo, refletindo a influência da concentração de substrato no crescimento celular.

Embora abordagens mais simplificadas, representadas pelo sistema de equações 1, tenham fornecido resultados aceitáveis em condições específicas, a utilização de modelos mais complexos e detalhados provou ser indispensável para uma compreensão abrangente e acurada do crescimento da levedura S-04, especialmente sob condições que propiciam o Efeito Crabtree.

Este estudo contribui para o aprimoramento na modelagem matemática do crescimento de leveduras, com implicações práticas notáveis na eficiência dos processos de fermentação na indústria cervejeira.

#### REFERÊNCIAS

- [1] BARFORD, J. P.; HALL, R. J. An examination of the Crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of respiratory adaptation. *Microbiology*, v. 114, n. 2, p. 267-275, 1979.
- [2] FLICKINGER, M. C.; DREW, S. W. *Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation*. New York: Wiley, 1999.
- [3] LIU, Y. Overview of some theoretical approaches for derivation of the Monod equation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 73, p. 1241-1250, 2007.
- [4] LUCARINI, A. C.; SILVA, L. D.; BIANCHI, R. A. C. Um sistema para a contagem semi-automática de microorganismos. *Revista Pesquisa e Tecnologia FEI*, n. 26, p. 36-40, 2004.
- [5] MONOD, J. The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, v. 3, p. 371-394, 1949.
- [6] OLIVEIRA, S. F. G. Instalação de um reator de propagação de leveduras em microcervejeira. 2017. 84 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial e Ambiental) - Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2017.
- [7] PEREZ-SAMPER, G. et al. The crabtree effect shapes the *Saccharomyces cerevisiae* lag phase during the switch between different carbon sources. *MBio*, v. 9, n. 5, p. 10.1128/mbio.01331-18, 2018.
- [8] TESTA, Bruno et al. Versatility of *Saccharomyces cerevisiae* 41CM in the Brewery Sector: Use as a Starter for “Ale” and “Lager” Craft Beer Production. *Processes*, v. 10, n. 12, p. 2495, 2022.
- [9] WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. *Yeast: the practical guide to beer fermentation*. 5. ed. United States: Brewers Publications, 2010. 304 f.