

Universidade Federal do Rio Grande Escola de Química e Alimentos Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BIORREATORES DE LEITO FIXO PARA FERMENTAÇÃO/BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO

Daniele Colembergue da Cunha

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto O. Rocha

Rio Grande, RS 2009



Universidade Federal do Rio Grande Escola de Química e Alimentos Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE BIORREATORES DE LEITO FIXO PARA FERMENTAÇÃO/BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO

Daniele Colembergue da Cunha

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora, pelo curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Vieira Costa Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto O. Rocha

Rio Grande, RS 2009

Aos meus queridos avós, Jorge e Celina Colembergue. Sem vocês, eu não teria chegado até aqui!

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente a Deus. Pela vida, saúde e força para trilhar meu caminho.

Ao meu orientador, Prof. Jorge, principalmente por me ter "acolhido" no Programa de Pós-Graduação nível doutorado. Sem esta oportunidade, eu não teria realizado este sonho.

Ao meu co-orientador, Prof. Luiz, pelo seu incansável apoio a este trabalho.

Obrigada, Prof. Jorge e Prof. Luiz, por tantas outras coisas, como pela confiança depositada em mim, pelo convívio, pelo exemplo, pelo conhecimento compartilhado...

Também agradeço ao Prof. Jeferson Souza, que, apesar de não me coorientar oficialmente, também deu apoio e suporte ao trabalho realizado.

Agradeço à minha família: minha avó, minhas irmãs e familiares... E principalmente ao Leonardo, ao João Vítor e a Caroline. É uma felicidade ter vocês em minha vida!

Aos professores do programa de pós-graduação e aos colegas de curso e de laboratório.

E, finalmente, ao meu país por proporcionar gratuitamente este curso de pós-graduação e a FAPERGS (Fundo de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul) pelo suporte econômico dado através da bolsa de estudo. Depositei muito esforço neste trabalho e espero ter recompensado de alguma forma com os resultados obtidos.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	1
Introdução	2
Objetivos	4
Justificativa	5
CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA	7
1. Bioprocessos em Estado Sólido (BES)	8
1.1. Substratos	10
1.2. Fatores importantes para o crescimento do microrganismo em BES	11
1.2.1. Temperatura	11
1.2.2. pH	12
1.2.3. Atividade de água e teor de umidade do substrato	12
1.2.4. Nível de oxigênio	13
1.3. Biorreatores para BES	14
1.3.1. Tipo de biorreatores	14
1.3.2. Modelagem matemática aplicada em biorreatores de BES de leito	
empacotado	16
1.3.2.1. Cinética de crescimento do microrganismo	20
1.4. Variáveis de controle operacional em BES	25
2. Teoria Constructal	26
2.1. Princípios da Teoria Constructal	27
CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	31
Artigo I: Constructal Design: uma nova metodologia para otimização geométric	ca
de biorreatores	35
Artigo II: Biorreator modular para bioprocessos em estado sólido	54
Artigo III: Biorreator hollow – um novo projeto para bioprocessos em estado	
sólido	67
CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES	84
Conclusões Gerais	85
Sugestões	86
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	94
ANEXOS	96

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1: Principais aplicações de BES em vários setores econômicos	9
Tabela 2: Vantagens e desvantagens dos principais reatores de BES	16
Tabela 3: Modelos empíricos para o crescimento de microrganismos	22

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Artigo I

Tabela 1: Parâmetros e propriedades usadas na simulação	45
Tabela 2: Posição e coordenadas dos pontos de monitoramento da temperatura,	
coeficiente de correlação e erro percentual entre as temperaturas máximas	
experimental e numérica	47
Tabela 3: Análise de variância entre as temperaturas experimentais e numéricas par	ra
cada posição de temperatura monitorada ao longo do cultivo	48

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

17
21
22
24
le
25
S
28
S
29

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Figura 1: Esquema principal do presente trabalho	32
Figura 2: Fluxograma da metodologia empregada para modelagem e simulação do	
bioprocesso	33

Artigo I

Figura 1: Aparato experimental: 1) Banho termostatizado, 2) Bomba, 3) Filtro de ar, 4)
Rotâmetro, 5) Umidificador, 6) Separador de gotas, 7) Biorreator de coluna de leito
fixo
Figura 2: Domínio computacional e condições de contorno
Figura 3: Perfis de temperatura em função do tempo nas posições (r,z) (0, 0,15) (a), (0
0,20) (b), (0, 0,25) (c) e (0, 0,30) (d) durante BES. Dados experimentais caracterizados
por símbolos e dados numéricos dados por linhas contínuas e/ou semi-contínuas 46
Figura 4: Perfis de temperatura dos experimentos E1 (a-c) e E2 (d-f) para vários
tempos

Figura 5: Perfis de temperatura do biorreator de geometria otimizada em vários tempo	วร
(a-c) e perfis de temperatura de 3 diferentes razões (D/L) do biorreator isolado (e-f). 5	;1
Figura 6: Otimização da razão (D/L) do biorreator isolado para várias velocidades (a)	е
vazões de alimentação de ar (b) 5	52
Figura 7: (D/L) _{opt} do biorreator isolado em função da temperatura de alimentação do a	ır.
	53

Artigo II

Artigo III

Figura 1: Esquema do biorreator hollow e domínio computacional......71 Figura 2: Campo de temperaturas do domínio computacional em 20 h (a), 30 h (b), 35 h (c) e 40 h (d) de cultivo ((D/L) = 0.5, φ = 0.1, (D_{in}/D_{out}) = 1,T_{in} = 29 °C e Figura 3: Perfis de temperatura do biorreator hollow com razão $(D_{in}/D_{out}) = 0.5$ (a) e com $(D_{in}/D_{out}) = 1.5$ (b) em 40 h de cultivo $((D/L) = 0.5, \varphi = 0.1, T_{in} = 29 \text{ °C e}$ Figura 4: Perfis de velocidade no biorreator hollow com $(D_{in}/D_{out}) = 1$ (a), $(D_{in}/D_{out}) = 0.5$ Figura 5: Temperatura máxima do biorreator em função de (D/L) para vários o Figura 6: Otimização geométrica do biorreator hollow em função de (D_{in}/D_{out}) para diferentes φ (T_{in} = 29 °C e Q = 3 X 10⁻⁶ m³ s⁻¹) (a) e a velocidade do fluido Figura 7: Otimização geométrica do biorreator hollow para diferentes Q (T_{in} = 29 °C). (a): em função de ϕ , sendo $(D_{in}/D_{out}) = 1$. (b): em função de (D_{in}/D_{out}) sendo $\phi = 0.05$.

Figura 8: Otimização geométrica do biorreator <i>hollow</i> para diferentes T _{in}	
$(Q = 3 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1})$. (a): em função de ϕ , sendo $(D_{in}/D_{out}) = 1$. (b): em função de	
(D_{in}/D_{out}) , sendo φ = 0,05	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- A: fator de frequência (s⁻¹)
- B: fator adimensional (adimensional)
- Bi: número de Biot na parede do biorreator [hD/2k] (adimensional)
- [CO₂]: concentração de CO₂ (g (100 g meio seco)⁻¹)
- Cp: calor específico (J kg⁻¹ °C⁻¹)
- D: diâmetro do biorreator (m)
- D_{in}: diâmetro do duto interno de entrada de ar do biorreator hollow (m)
- D_{out}: diâmetro do duto interno na saída do biorreator hollow (m)
- e: energia total específica (J kg⁻¹)
- E_{a1}: energia de ativação (J gmol⁻¹)
- E_{a2}: energia de inativação (J gmol⁻¹)
- Err: erro percentual (%)
- F: valor da distribuição F (adimensional)
- f: capacidade do ar de absorver água (kg água (kg ar)⁻¹ °C⁻¹)
- \vec{g} : vetor gravidade (m s⁻²)
- h: entalpia específica (J kg⁻¹)
- J_i: fluxo de difusão das espécies j (kg m⁻³ s⁻¹)
- K: permeabilidade do leito (m²)
- k: condutividade térmica do leito (W m⁻¹ °C⁻¹)
- L: comprimento (m)
- M: umidade do leito (g (100 g meio fermentado)⁻¹)
- m: coeficiente de manutenção da biomassa (kg substrato ((kg biomassa) s)⁻¹
- P: pressão estática (Pa)
- p: nível de significância (adimensional)
- Q: vazão de ar (m³ s⁻¹)
- r: coordenada radial (m)
- R: constante universal dos gases (J gmol⁻¹ K⁻¹)
- R: resistência global ao fluxo
- R_{CO2}: velocidade de formação de CO₂ (g (100 g meio seco)⁻¹ s⁻¹)
- R_s: velocidade de consumo de substrato (g (100 g meio seco)⁻¹ s⁻¹)
- R_x: velocidade de crescimento do microrganismo (g (100 g meio seco)⁻¹ s⁻¹)
- S: termo fonte de energia (W m⁻³)

[S]: concentração de substrato (g (100 g meio seco)⁻¹)

t: tempo (h ou s)

T: temperatura (°C)

V: volume (m³)

 \vec{v} : velocidade superficial (m s⁻¹)

[X]: concentração celular (g (100 g meio seco)⁻¹)

Y_{CO2}: fator de conversão substrato-CO₂ (kg CO₂ (kg substrato)⁻¹)

Y_{X/S}: fator de conversão substrato-biomassa (kg biomassa (kg substrato)⁻¹)

z: coordenada axial (m)

Letras Gregas:

 $\overline{\tau}$: tensão de cisalhamento (Pa)

 Δ H: calor de formação de CO₂ (J (g de CO₂)⁻¹)

ε: porosidade do leito (adimensional)

λ: entalpia de vaporização (J kg⁻¹)

μ: viscosidade absoluta (kg m⁻¹ s⁻¹)

 μ_{max} : velocidade específica máxima de crescimento (s⁻¹)

ρ: massa específica (kg m⁻³)

φ: fração de volume (adimensional)

Subscritos:

b: leito

d: duto interno do biorreator hollow

ef: efetivo

f: fluido

g: vidro

i: índice de fase

in: entrada

m: minimizado

max: máximo

opt: ótimo

r, z, θ: componentes do vetor velocidade

 ∞ : condição do ambiente

s: sólido

ss: sólido seco 0: inicial

RESUMO

Ao contrário dos bioprocessos submersos, que são amplamente utilizados e estudados, bioprocessos em estado sólido (BES) ainda são carentes de estudos de modelagem e simulação, o que aponta para o grande potencial de otimização. A dificuldade no aperfeiçoamento de BES está associada a problemas com a dissipação do calor gerado pelas atividades metabólicas do microrganismo durante o crescimento. Esta dificuldade na transferência de calor dentro do biorreator pode levar a zonas de altas temperaturas, que afetam adversamente a produtividade. A modelagem matemática é uma ferramenta essencial para otimizar bioprocessos. Através de modelos matemáticos é possível otimizar as variáveis operacionais para controle do bioprocesso e também analisar o design do biorreator. A otimização geométrica, de acordo com a Teoria Constructal, visa melhorar o desempenho do biorreator através, por exemplo, de minimizar a temperatura no interior do leito a níveis ótimos para o cultivo. O presente trabalho apresenta projetos de biorreatores para BES, todos com geometria otimizada, obtidos a partir de experimentação numérica, através de um software de computational fluid dynamics (CFD). O modelo matemático utilizado era preditivo e significativo ao nível de confiança de 95%. A otimização geométrica foi apresentada em função das condições operacionais do cultivo. Para o biorreator de coluna e leito fixo com paredes isoladas, foram apresentadas as geometrias ótimas em função da velocidade, da vazão e da temperatura do ar de admissão. Para uma temperatura do ar de admissão de 29,5 °C, as configurações ótimas ((D/L)_{opt}) variaram entre 1,0 e 2,4 para uma faixa de velocidade de admissão do ar entre 0,003 e 0,006 m s⁻¹. Relacionando com vazão, as razões mostraram-se ótimas entre 2,2 \leq (D/L) \leq 2,6 quando operando sob 3,3 a 3,5 10⁻⁵ m³ s⁻¹. Outro biorreator estudado foi o biorreator modular, composto de módulos elementares com geometria otimizada, sendo adaptável a diferentes escalas de produção e de fácil montagem. As configurações ótimas dos módulos de geometria retangular e seção guadrada foram apresentadas para diferentes volumes de módulos, em função da temperatura e da velocidade do ar de admissão. Foi observado que o volume máximo do módulo sem resfriamento externo é 5 L, para uma velocidade do ar de admissão acima de 0,0045 m s⁻¹ e temperatura inferior ou igual 29,0 °C O último biorreator proposto foi o biorreator hollow, semelhante a um biorreator de coluna e leito fixo, porém com um duto oco inserido nele. O duto interno tem inúmeros furos perpendiculares às suas paredes, mas sua saída é isolada, permitindo que o ar penetre no meio poroso. A geometria otimizada do biorreator hollow foi apresentada em função da fração de volume do duto interno, da razão entre os diâmetros de entrada e saída do duto interno, da vazão e da temperatura do ar de admissão. Em comparação com o biorreator de coluna convencional de mesmas dimensões e sob mesmas condições operacionais, o biorreator hollow apresentou temperatura máxima mais baixa, demonstrando que o projeto é eficiente para resfriar o meio poroso. Concluiu-se, enfim, no presente trabalho, que a geometria é um parâmetro importante e a sua otimização pode beneficiar o desempenho do biorreator.

Palavras-chave: bioprocessos em estado sólido, biorreator, otimização geométrica, Teoria *Constructal*.

ABSTRACT

Unlike the submerged bioprocesses, that was wildly used and studied, solid state bioprocess (SSB) are still poorly studied with respect to modeling and simulation, what indicates a big potential for optimization. The difficulty in the BES improvement is associated to problems with the dissipation of heat generated by metabolic activities of microorganisms during growth. This difficulty in transferring heat from the bioreactor could lead to areas with high temperature, which usually affect the productivity adversely. The mathematical modeling is an essential tool for optimizing bioprocesses. Using mathematical models it is possible to optimize operational variables to control the bioprocess and also explore the design of the bioreactor. The geometric optimization, according Constructal Theory, aims to improve the performance of the bioreactor through, for example, minimizing the temperature inside the bed to optimum levels for the bioprocess. The present work presents designs of bioreactors to SSB, all with optimized geometry, obtained from numerical experiments, by computational fluid dynamics (CFD) software. The mathematical model used has been predictive and significant at .95 level of confidence. The geometric optimization was presented as function of operational conditions of the cultivation. For the column fixed bed bioreactor with isolated wall, the optimal configurations are shown as function of flow, velocity and temperature of inlet air. For a inlet air temperature of 29.5 °C, the optimal configurations ((D/L)_{opt}) varied between 1.0 e 2.4 to a range of inlet velocity between 0.003 e 0.006 m s⁻¹. Relating with the volumetric flow, the optimal ratios presented between 2.2 \leq (D/L) \leq 2.6 when operating under 3.3 a 3.5 10⁻⁵ m³ s⁻¹. Other studied bioreactor was the modular bioreactor, consisting of elementary modules with optimized geometry, being adaptable to different scales of production and easy assembly. The optimal configurations of the modules with rectangular geometry and square section were shown depending on the volume of modules and the temperature and velocity of inlet air. It was observed that the maximum volume of the module without external cooling was 5 L, for a inlet velocity upper 0.0045 m s⁻¹ and temperature smaller or equal to 29.0 °C. The last proposed bioreactor was the hollow bioreactor, similar to a column fixed bed bioreactor, but with an empty duct inserted on it. The internal duct has innumerable holes perpendicular to its wall (the inlet port), but its end is insulated, allowing the air penetrates into the porous medium. The optimized geometry of hollow bioreactor was presented in function of the volume fraction of internal duct, the ratio between the diameters of inlet and outlet of the internal duct, the flow rate and temperature of the inlet air. Comparing with the conventional column bioreactor with the same configuration and same operational conditions, the hollow bioreactor showed a lower maximum temperature. This demonstrates that the project is efficient at cooling the porous medium. Finally, it was concluded that the geometry is an important parameter and its optimization can benefit the performance of the bioreactor.

Keywords: bioreactor, Constructal Theory, geometric optimization, solid state bioprocess.

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

Introdução

Bioprocessos em estado sólido (BES) caracterizam-se pelo cultivo de microrganismos em leito de partículas sólidas, na ausência de água livre nos espaços inter-partículas e tendo ar como fase contínua (Dalsenter et al., 2005; Viccini et al., 2001; Sangsurasak e Mitchell, 1998).

Apesar de BES apresentar vantagens econômicas, biotecnológicas e ambientais sobre o cultivo submerso (Hölker e Lenz, 2005) e terem sido relatados na literatura muitos resultados promissores em escala de laboratório (Araya et al., 2007; Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007), poucos bioprocessos são aplicados em grande escala (Araya et al., 2007; Dalsenter et al., 2005). A principal dificuldade para a produção comercial encontra-se em controlar as variáveis do leito em valores ótimos para o crescimento do microrganismo e formação de produto (Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007; Viccini et al., 2001).

Uma dos parâmetros mais importantes em BES é a temperatura do leito, principalmente devido a seu difícil controle em biorreatores de maior escala (Dalsenter et al., 2005; Weber et al., 2002; Ghildyal et al., 1994). A geração de calor proveniente das atividades metabólicas do microrganismo pode levar a zonas de temperaturas elevadas, que, normalmente, afetam adversamente a produtividade em termos de biomassa ou do metabólito desejado (Weber et al., 2002; Ghildyal et al., 1994). Uma vez que muitos bioprocessos em estado sólido envolvem fungos filamentosos (Lareo et al., 2006), os quais podem sofrer danos com a agitação contínua, frequentemente é necessário o uso de biorreatores que mantenham o leito estático por longos períodos (Dalsenter et al., 2005).

Assim, torna-se evidente a necessidade do desenvolvimento de novos projetos de biorreatores ou a modificação dos já existentes.

Modelos matemáticos apresentam um importante papel na otimização de projetos e de condições de operação de biorreatores de BES (Mitchell et al., 2004; Viccini et al., 2001). Empregando um modelo matemático válido e simulação numérica, é possível otimizar biorreatores ou projetar novos tipos com melhor desempenho.

A aplicação da metodologia de otimização geométrica através da Teoria Constructal no projeto de biorreatores é inédito e visa melhorar o desempenho do biorreator através da minimização da temperatura no interior do leito a níveis ótimos para o bioprocesso. A Teoria Constructal propõe que as estruturas espaciais e temporais exibidas pela natureza sejam resultado do processo global de otimização para aquela delimitação física. O princípio afirma que um sistema heterogêneo, de tamanho finito, onde exista escoamento irá se submeter a mudanças na forma e estrutura de maneira a atingir acessos mais fáceis (caminhos de resistência reduzida) para suas correntes internas, de modo a otimizar o seu desempenho (o propósito ao qual se destina) (Bejan, 2000; Bejan e Lorente, 2006). A Teoria Constructal considera que o mesmo princípio (atingir o objetivo com melhor eficiência, sujeito a restrições) utilizado na Engenharia é o mesmo que ocorre na natureza (Bejan, 2000; Bejan, 2006).

Objetivos

Objetivo Geral

- Aplicar a modelagem matemática, simulação numérica e otimização geométrica no projeto de biorreatores de leito fixo para bioprocessos em estado sólido (BES).

Objetivos Específicos

- Otimizar a geometria de biorreatores de leito fixo através do princípio Constructal de minimização da resistência global ao fluxo de calor, de modo que os biorreatores sejam capazes de operar, sob certo limite de temperatura, sem a utilização de nenhum tipo de equipamento externo de resfriamento;

- Apresentar o projeto de um novo modelo de biorreator, denominado "biorreator modular";

- Apresentar o projeto de um novo modelo de biorreator, denominado "biorreator *hollow*".

Justificativa

Em 1996, a linha de pesquisa em bioprocessos (ou fermentação) em estado sólido da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) foi intensificada com a criação do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB). Desde então, foram desenvolvidos vários trabalhos nesta linha de pesquisa, como o emprego de subprodutos agro-industriais abundantes na região como substrato (principalmente farelo e casca de arroz) e a produção de alimentos e biocompostos (entre eles, enzimas e biosurfactantes). No total, somam-se 11 dissertações de mestrado e 7 trabalhos de conclusão de curso. Este trabalho é a primeira tese de doutorado do LEB em bioprocessos em estado sólido. Os trabalhos e a prática desenvolvidos no laboratório até agora foram muito importantes para o desenvolvimento desta tese, que espera, da mesma forma, servir para o avanço científico de bioprocessos em estado sólido (BES).

Os objetivos práticos propostos neste trabalho foram definidos no intuito de tentar resolver o problema de temperatura excessiva no interior do leito sólido que ocorre durante os bioprocessos em estado sólido.

No decorrer do cultivo, o calor gerado pelas atividades metabólicas dos microrganismos não é facilmente dissipado devido à baixa condutividade térmica do substrato. Nestas circunstâncias, gradientes de temperatura se desenvolvem no leito sólido. As altas temperaturas alcançadas podem afetar a esporulação, a germinação de esporos, o crescimento do microrganismo e a formação do produto. Portanto, a imediata remoção do calor metabólico durante o cultivo é importante para este tipo de bioprocesso. Porém poucas tentativas foram feitas para fornecer equipamentos efetivos para uma boa transferência de calor para bioprocessos em estado sólido (Chen et al., 2005).

O design (ou projeto geométrico) do biorreator pode facilitar a transferência de calor e, dessa forma, minimizar o problema de alta temperatura no leito sólido. A otimização da geometria baseada na lei Constructal (Bejan, 2000; Bejan, 1997) acredita que a forma e estrutura na natureza e engenharia podem ser deduzidas do princípio da maximização do desempenho global para aquela delimitação. Este método tem sido aplicado em diferentes sistemas termofluídicos com sucesso (Biserni et al., 2007; Rocha et al., 2006; Rocha et al., 2005; Bejan, 2004), o que motivou seu emprego neste trabalho.

Em vista da dificuldade e da complexidade dos sistemas de BES, estratégias baseadas em modelos são necessárias para o design e otimização da operação em biorreatores de grande escala (Mitchell et al., 2003). Os modelos devem descrever não apenas os balanços de massa e energia no biorreator como também a cinética de crescimento do microrganismo (Dalsenter et al., 2005).

O tempo e o custo do projeto de um novo equipamento podem ser sensivelmente reduzidos com o uso da simulação numérica. As ferramentas de *computacional fluid dynamics* (CFD) vêm se tornando cada vez mais robustas e capazes de resolver modelos matemáticos complexos, que descrevem, de forma precisa, a física do problema em estudo, permitindo que se chegue praticamente ao projeto final do equipamento, deixando-se para o laboratório os experimentos finais de ajuste e teste do equipamento (Maliska, 2004).

Tendo isso em vista, este trabalho propõe a aplicação da modelagem matemática, simulação numérica e otimização geométrica no projeto de biorreatores de leito fixo empregados em BES, a fim de melhorar o desempenho do biorreator através da minimização da temperatura no interior do leito a níveis ótimos para o desenvolvimento do bioprocesso.

CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

1. Bioprocessos em Estado Sólido (BES)

O cultivo de microrganismos em substratos sólidos faz parte da história da Humanidade (Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007; Rahardjo et al., 2006), principalmente na preparação de alimentos tradicionais como o *tempeh*, o *shoyu* e o *miso* nos países orientais e o pão e o queijo nos países ocidentais (Bellon-Maurel et al., 2003). Este processo, conhecido como *solid state fermentation* (SSF), fermentação em estado sólido (FES), fermentação em substrato sólido (FSS) ou bioprocesso em estado sólido (BES), é definido como o crescimento de microrganismos em substrato sólido úmido, no qual há umidade suficiente para manter o crescimento e o metabolismo microbiano, mas não há água livre e tendo o ar como fase contínua (Rahardjo et al., 2006; Dalsenter et al., 2005; Raghavarao et al., 2003; Mitchell e von Meien, 2000).

Bactérias, fungos e leveduras podem crescer em substratos sólidos e serem utilizadas em BES, porém os fungos filamentosos são os mais adaptáveis e dominam os trabalhos de pesquisa (Raghavarao et al., 2003; Raimbault, 1998). *Trichoderma, Penicillium, Aspergillus* e *Rhizopus* são exemplos de fungos normalmente empregados em BES. Seu modo de crescimento hifal (pelo alongamento das pontas e ramificações) permite a penetração parcial no material sólido e a produção de uma ampla variedade de enzimas extracelulares para degradar as macromoléculas, características que fazem estes organismos especialmente apropriados para BES. No curso de crescimento, microcolônias espalham-se radialmente sobre a superfície do substrato formando um "tapete" micelial. As hifas aeriais podem se prolongar na fase gasosa (com ramificações, na forma de árvore) e as hifas penetrativas podem entrar na matriz sólida, até certo ponto, dependendo do fornecimento de oxigênio e da disponibilidade de nutrientes, bem como da estrutura e das propriedades físicas do material sólido (Lenz et al., 2004).

Os bioprocessos em estado sólido têm muitas aplicações, entre elas, a biorremediação e biodegradação de compostos perigosos, a produção de metabólitos como antibióticos e enzimas e o enriquecimento nutricional de subprodutos agrícolas (Pandey, 2003; Soccol e Vanderberghe, 2003; Pandey et al., 2000). A Tabela 1 apresenta as principais aplicações de BES em vários setores econômicos.

Setor econômico	Aplicação	Exemplos
Indústria agro - alimentar	Alimentos fermentados tradicionais	<i>Koji, tempeh</i> , queijos fermentados
	Produção de cogumelos	Pleurotus, Agaricus
	Bioconversão de subprodutos	Polpa de bagaço de cana- de-açúcar, polpa de café, compostagem, desintoxicação
	Aditivos alimentares	Flavorizantes, corantes, ácidos graxos e ácidos orgânicos essenciais
Agricultura	Biocontrole, bioinseticida	Beauveria Metarhizium, Trichoderma
	Hormônios para crescimento de plantas	Gibberella, Rhizobium, Inchoderma
Fermentação industrial	Produção de enzimas	Amilases, celulases, proteases, pectinases
	Produção de antibióticos	Penicilina, probióticos
	Produção de ácidos orgânicos	Ácido cítrico, fumárico, láctico

Tabela 1: Principais aplicações de BES em vários setores econômicos.

Fonte: Raimbault (1998).

Este tipo de bioprocesso apresenta vantagens econômicas, biotecnológicas e ambientais sobre os bioprocessos submersos (Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007; Couto e Sanromán, 2006). Entre estas vantagens, cita-se:

- maiores produtividades volumétricas, logo requerendo menores biorreatores;

- tempo de processo usualmente mais curto;
- contaminação reduzida por bactérias e leveduras;
- degradação reduzida do metabólito durante o bioprocesso;
- alta concentração do metabólito no substrato sólido final;
- determinados metabólitos são produzidos apenas em BES;

- produtos obtidos através de BES (enzimas, esporos e metabólitos) geralmente têm uma vida útil mais longo;

- baixo consumo de água em bioprocessos em estado sólido, reduzindo, por conseguinte, efluentes líquidos e custos do tratamento;

- BES podem utilizar os resíduos agrícolas como substratos.

Apesar das vantagens apresentadas pelo BES, poucos processos entram em produção comercial, devido às dificuldades técnicas em operar e otimizar biorreatores de grande escala. Uma vez que processos modernos de controle e técnicas de engenharia de otimização estão baseadas em modelos, a modelagem matemática deve aumentar as chances de transformar com sucesso os bioprocessos em estado sólido de laboratório em produção comercial (Araya et al., 2007).

1.1. Substratos

Todos os substratos usados em BES têm uma característica comum: a sua estrutura básica macromolecular. Em geral, são produtos compostos e heterogêneos provenientes da agricultura ou subprodutos da agro-indústria. Esta estrutura básica macromolecular (por exemplo: celulose, amido, pectina, lignocelulose, fibras) confere as propriedades de um sólido como substrato. A macromolécula estrutural pode simplesmente proporcionar um matriz inerte (bagaço de cana, fibras inertes, resinas), dentro da qual as fontes de carbono e de energia (açúcares, lipídios, ácidos orgânicos) são absorvidas. Mas, geralmente, a matriz macromolecular representa o substrato e também proporciona as fontes de carbono e de energia (Raimbault, 1998).

Preparação e pré-tratamento representam os passos necessários para converter o substrato bruto em uma forma adequada para utilização, que incluem (Raimbault, 1998):

- Redução de tamanho por moagem, raspagem ou corte;

- Hidrólise física, química ou enzimática de polímeros para aumento da disponibilidade do substrato pelo fungo;

 Suplementação com nutrientes (fósforo, nitrogênio, sais) e ajuste de pH e teor de umidade, através de uma solução mineral;

- Cocção ou tratamento por vapor para pré-degradação da estrutura macromolecular e eliminação dos principais contaminantes.

Weber et al. (2002) verificaram que a escolha apropriada do meio sólido é essencial para o sucesso do processo. Os autores verificaram que *Aspergillus oryzae* poderia ser cultivado com sucesso em cânhamo, mas o cultivo falhou quando trigo foi usado como substrato sólido. A alta capacidade de captar água do cânhamo proporcionou um bom controle da atividade de água, e não foram observados o encolhimento do leito e a formação de canais preferenciais.

1.2. Fatores importantes para o crescimento do microrganismo em BES

Fatores tais como a temperatura, pH, atividade de água (teor de água do substrato), nível de oxigênio e concentrações dos nutrientes e do produto afetam significativamente o crescimento microbiano e a formação de produto (Raimbault, 1998).

1.2.1. Temperatura

Em geral, uma quantidade apreciável de calor encontra-se envolvida em BES, o qual está diretamente relacionado com as atividades metabólicas dos microrganismos (Chen et al., 2005; Pérez-Guerra et al., 2003; Saucedo-Castañeda et al., 1990). Nos estágios iniciais da fermentação, a temperatura é a mesma em todas as locações do leito. Com o progresso da fermentação, ocorrem as biorreações, liberando calor, que não é facilmente dissipado devido à baixa condutividade térmica do substrato. Então, gradientes de temperatura se desenvolvem no leito dos BES. Esses gradientes podem se tornar exagerados e zonas de alta temperatura podem aparecer, afetando negativamente a produtividade em termos de biomassa e metabólito desejado (Ghildyal et al., 1994).

Biorreatores de leito empacotado em escala de laboratório conseguem controlar a temperatura através do resfriamento pela parede. Entretanto, em grandes reatores, o resfriamento condutivo se torna insuficiente e é preciso usar a aeração forçada (Weber et al., 2002). Porém, é preciso lembrar que aeração excessiva pode produzir tensões cisalhantes (que tem um efeito nocivo sobre a morfologia do fungo filamentoso) e formar canais preferenciais no leito de substrato. A necessidade de apropriadas taxas de aeração do substrato reduz a possibilidade de empregar a carga máxima nos biorreatores independentemente do seu *design* (Gasiorek, 2008).

O resfriamento por aeração forçada é efetivo principalmente devido à evaporação. Isso implica que o sucesso no controle da temperatura somente se dá à custa de perda de umidade do substrato, que pode afetar negativamente o cultivo. Além disso, a mudança do resfriamento condutivo pelo resfriamento evaporativo pode resultar em gradientes axiais nos biorreatores de leito fixo. Os gradientes axiais em biorreatores de escala industrial podem causar diferenças na produtividade quando comparados com os biorreatores de escala de laboratório (Weber et al., 2002). Entretanto, menores gradientes axiais de temperatura minimizam a evaporação e, assim, os problemas de secagem do leito (Mitchell et al., 2003).

1.2.2. pH

O controle e a medição desta variável em BES são muito difíceis. Entretanto, os substratos empregados em BES normalmente têm efeito tamponante devido a sua composição química complexa. Nestes casos, o controle do pH não é necessário (Pérez-Guerra et al., 2003).

1.2.3. Atividade de água e teor de umidade do substrato

Normalmente, o conteúdo de água do substrato oscila entre 30 e 75%. Valores de umidade muito baixos podem induzir a esporulação do microrganismo, enquanto níveis muito altos podem reduzir a porosidade do sistema, ocasionando limitação da transferência de oxigênio, e aumentar o risco de contaminação bacteriana. Durante o cultivo, o nível de água do substrato pode mudar devido à evaporação e atividade microbiana (Pérez-Guerra et al., 2003).

O papel da água nos sistemas biológicos é numeroso e os mecanismos de ação e interação desta molécula com as moléculas orgânicas não estão totalmente elucidadas. Entretanto, duas funções fundamentais podem ser distinguidas (Gervais e Molin, 2003):

- Tendo função de solvente: fornece nutrientes e remove resíduos ou metabólitos, sob a forma dissolvida;

- Tendo função estrutural: a água está associada à estabilidade e à função biológica das estruturas organizadas ao nível molecular e celular. Ao nível molecular, o papel da água na estabilização da estrutura dos biopolímeros, tais como proteínas, nucleotídeos e carboidratos, foi reconhecida há cerca de 30 anos. Em nível celular, também já foi demonstrado o papel das moléculas de água na estabilização da estrutura lamelar da membrana plasmática, que preserva a permeabilidade da membrana. No meio intracelular, as moléculas de água associadas com outras moléculas, tais como polióis, açúcares ou enzimas, contribuem para a manutenção do volume celular, especialmente quando a célula é colocada num meio hipertônico e, particularmente, durante as condições de secagem e congelamento.

A partir dessas diferentes funções, pode-se verificar o motivo da essencialidade da água para o metabolismo de fungos em BES (Gervais e Molin, 2003):

 Se a quantidade de água torna-se insuficiente e não permite uma boa difusão de solutos e do gás, o metabolismo celular é desacelerado ou pode parar, devido à falta de substratos ou através da concentração elevada de metabólitos inibidores dentro ou próximo à célula;

- Se a quantidade de água intra ou extracelular não permitir a manutenção das propriedades funcionais de algumas enzimas, a sua inatividade cria um desequilíbrio na cadeia metabólica das células. Da mesma forma, se a transferência de água induzida pela diferença iônica entre intra e extracelular pode levar à desnaturação da estrutura mecânica da membrana plasmática, afetando as propriedades de permeabilidade e transporte através da membrana e, então, prejudicando a célula.

1.2.4. Nível de oxigênio

A aeração é essencial em processos aeróbios, pois fornece oxigênio ao sistema, remove o dióxido de carbono e serve como um fluido de transferência de calor para controle da temperatura através redistribuição de energia e remoção de calor (Richard et al., 2004).

A limitação quanto ao nível de oxigênio não é uma preocupação em biorreatores de leito fixo, uma vez que utilizem aeração forçada (Mitchell et al., 2003).

1.3. Biorreatores para BES

Raghavarao et al. (2003) classificam o biorreator como o coração do bioprocesso, onde as matérias-primas, em condições adequadas, são convertidas no produto desejado. Maximização da taxa de formação e do rendimento do produto dentro do biorreator é um elemento-chave para a otimização o processo de produção.

Algumas das características desejadas de um biorreator para BES são:

 - contenção do substrato. O material de construção do biorreator deve ser forte, resistente à corrosão e atóxico para o desenvolvimento do microrganismo, além de ter um custo acessível;

 prevenção da entrada de contaminantes no processo bem como a liberação descontrolada do microrganismo para o meio ambiente. A primeira é praticamente difícil devido à necessidade de manuseio do substrato sólido que não pode ser bombeado como no caso de líquidos. O último é igualmente um requisito importante a considerar, pois a maior parte dos processos envolve esporos fúngicos, que podem ser patogênicos e causar riscos à saúde;

 Regulação eficaz da aeração, agitação e remoção de calor para controlar a temperatura, a atividade de água e a concentração de oxigênio gasoso. Muitas vezes, bioprocessos em estado sólido sofrem com problemas referentes à ineficaz remoção de calor ou à perda de água por evaporação, afetando o rendimento e qualidade do produto desejado;

- Manutenção da uniformidade dentro do leito de substrato. Poderia ser obtido através de uma agitação efetiva, que também ajudaria na minimização dos gradientes térmicos. Em alguns bioprocessos, entretanto, esta estratégia é imprópria por envolverem fungos filamentosos (Couto e Sanromán, 2006; Dalsenter et al., 2005).

1.3.1. Tipo de biorreatores

Durand (2003) classifica os tipos de biorreatores em duas categorias: (a) biorreatores em escala de laboratório, que usam quantidades de meio sólido seco entre poucos gramas a poucos kilogramas; (b) biorreatores em escala piloto ou industrial, nos quais vários kilogramas a várias toneladas são empregados.

Já Couto e Sanromán (2006) classificam os biorreatores pelo tipo de aeração ou sistema de agitação empregado. Entre eles:

 Bandeja. É composto de placas planas. O substrato é espalhado em cada bandeja formando uma camada fina, com poucos centímetros de profundidade.
 O reator é mantido em uma câmara à temperatura constante através do qual circula ar úmido. O principal inconveniente desta configuração é que muitas placas e grande volume são necessárias para produção em grande escala, tornando o projeto pouco atraente (Chen et al., 2005);

 Leito empacotado. É geralmente composto de uma coluna de vidro ou plástico com o substrato sólido mantido sobre uma base perfurada. Através do leito do substrato, ar úmido é continuamente alimentado. O biorreator pode ser equipado com um encamisamento com circulação de água para controlar a temperatura durante o processo. Os principais inconvenientes associados com esta configuração são: crescimento não uniforme, pobre remoção de calor e problemas de aumento de escala;

- Tambor rotativo. Este projeto permite aeração adequada e mistura do substrato, embora com emprego limitado, pois pode causar danos ao micélio, assim como a aglomeração de substrato (Chen et al., 2005). A agitação é realizada através da rotação de todo recipiente ou por agitação através de pás internas. A principal desvantagem é que o tambor é preenchido com apenas 30% de sua capacidade, caso contrário a mistura pode ser ineficiente;

 Leito fluidizado. Fornece uma contínua agitação através do ar forçado para evitar que as partículas de substratos se agreguem. Apesar da transferência de massa, aeração e mistura do substrato sejam aumentados, danos ao inóculo podem afetar o rendimento do produto final.

Outros tipos de biorreatores para BES vêm sendo propostos e pesquisados. Entre eles, cita-se o biorreator Zymotis, um biorreator de leito fixo e geometria retangular, com aeração forçada pelo fundo e que possui placas verticais inseridas no seu interior (para promover a transferência de calor horizontal por condução) (Durand, 2003; Mitchell e von Meien, 2000; Roussos et al., 1993). Outro biorreator proposto que mantém a ideia de um dispositivo interno de resfriamento é apresentado no trabalho de Chinn e Nokes (2003). Este biorreator, de geometria cilíndrica, é semelhante ao biorreator convencional de leito fixo, mas possui no seu interior uma serpentina helicoidal para auxiliar no resfriamento do leito (juntamente com aeração).

Também há citações do biorreator de imersão, que consiste em um recipiente de vidro cilíndrico, encamisado, com fundo arredondado. Várias cestas de

malha de arame são preenchidas com o suporte colonizado pelo fungo e colocadas dentro do biorreator. As cestas se movimentam para cima e para baixo por meio de um sistema pneumático, permanecendo mais tempo fora do que dentro do meio (Couto e Sanromán, 2005).

As vantagens e desvantagens de vários biorreatores foram apresentadas por Bellon-Maurel et al. (2003), de acordo com a Tabela 2.

Reator	Vantagens	Desvantagens
Reator de leito empacotado	Baixo custo, fácil regulação da vazão de ar, sondas compatíveis	Baixa remoção do calor
Reator de bandeja	Boa aeração, sem acúmulo de calor	Sem agitação, trabalho manual intenso
Reator de tambor	Condições assépticas possíveis, mistura suave, possível automatização	Aglomeração do substrato sólido, pobre remoção de calor
Reator fluidizado	Excelente aeração, remoção efetiva do calor metabólico	Alto custo
Zymotis	Boa remoção do calor e aeração, fácil aumento de escala	Sem agitação

Tabela 2: Vantagens e desvantagens dos principais reatores de BES.

Fonte: Bellon-Maurel et al. (2003).

1.3.2. Modelagem matemática aplicada em biorreatores de BES de leito empacotado

Modelos matemáticos são ferramentas importantes para otimização do *design* e operação de bioprocessos em estado sólido (Sahir et al., 2007; Mitchell et al., 2003). Tais modelos devem descrever os fenômenos de transporte no leito de substrato e trocas de massa e de energia entre o leito e outros subsistemas do biorreator, tais como a parede do biorreator e fluido (Mitchell et al., 2003).

Os modelos matemáticos representativos de biorreatores em BES devem ser capazes de descrever como seu desempenho é afetado pelas várias variáveis operacionais, que, por sua vez, podem ser manipuladas em uma tentativa de controlar o processo. Por exemplo, um modelo matemático habilita predições de como a taxa de escoamento, umidade e temperatura do ar de entrada afetarão a temperatura e conteúdo de água do leito de substrato, e por sua vez, como estas variáveis de sistema afetarão crescimento microbiano e formação de produto. Então, modelos de biorreatores podem ser considerados como dois submodelos: o submodelo cinético e o submodelo de balanço/transporte. O submodelo de balanço/transporte descreve a transferência de massa e de calor dentro e entre as várias fases do biorreator, enquanto o submodelo cinético descreve como a taxa de crescimento do microrganismo depende das variáveis ambientais locais (Mitchell et al., 2003, Mitchell et al., 2004).

Os modelos matemáticos de bioprocessos em estado sólido já publicados contemplam o balanço de energia (Ashley et al., 1999; Hasan et al., 1998; Sangsurasak et al., 1995; Sangsurasak et al., 1995b; Saucedo-Castañeda et al., 1990), ou este acrescido do balanço de massa (balanço de água) (Weber et al., 2002; Oostra et al., 2000; Smits et al., 1999; Weber et al., 1999).

A Figura 1 apresenta um esquema dos processos de transferência de calor dentro de um biorreator de leito fixo.



Figura 1: Processo de transferência de calor em biorreator de leito fixo.

Segundo Mitchell et al. (2003), em biorreatores de leito empacotado, não é necessário modelar o consumo de oxigênio, pois a aeração forçada promoveria

oxigenação suficiente (oxigênio não limitante). Esta consideração, entretanto, deve ser considerada com cuidado, pois situações como elevada formação micelial, baixas velocidades no interior do leito e forma do biorreator podem levar à falta de oxigenação e à necessidade do balanço de oxigênio.

O balanço de água torna-se necessário no modelo matemático para casos em que a evaporação da água durante o cultivo diminua significativamente a atividade de água do substrato. Não é prático adicionar água ao leito poroso durante o cultivo em reator de leito empacotado. Infelizmente, é impossível evitar a evaporação mesmo que ar saturado seja usado na alimentação, pois o gradiente axial de temperatura aumenta a capacidade do ar de carregar água. Na ausência de adição de água, é possível que o substrato possa secar suficientemente para causar limitação de umidade para o crescimento. Modelos que incluem balanço de água são essenciais para predizer o grau de secagem do leito. Entretanto, biorreatores com menores gradientes axiais minimizam a evaporação, diminuindo os problemas de secagem do substrato durante o cultivo (Mitchell et al., 2003).

O balanço de energia para biorreatores de coluna de leito fixo, onde r representa a direção radial e z a axial, é representada pela Equação 1.

$$\rho_{b}Cp_{b}\left(\frac{\partial T}{\partial t}\right) + \rho_{f}\left(Cp_{f} + f\lambda\right)v_{z}\left(\frac{\partial T}{\partial z}\right) = \left[\frac{k_{b}}{r}\left(\frac{\partial T}{\partial r}\right) + k_{b}\frac{\partial^{2}T}{\partial r^{2}}\right] + k_{b}\left(\frac{\partial^{2}T}{\partial z^{2}}\right) + S$$
(1)

onde Cp_b é o calor específico aparente do leito, ρ_b a massa específica aparente do leito, Cp_f o calor específico aparente do ar úmido, ρ_f a massa específica do ar e v_z a velocidade superficial do ar.

No lado direito da Equação 1, o termo dentro dos colchetes descreve a condução radial, enquanto o segundo termo descreve a condução axial. Porém, o termo que merece atenção é o segundo termo do lado esquerdo da equação, que descreve a remoção de calor convectiva e evaporativa. A combinação f λ vem da consideração de que o ar permanece saturado enquanto flui através do leito: a evaporação da água para manter a saturação dá ao ar maior calor específico aparente (Mitchell et al., 2003).

Esta consideração, entretanto, não foi observada por Weber et al. (2002). Estes autores verificaram que, em certos cultivos, havia limitação da taxa evaporativa, oriunda da dificuldade de transferência de massa de água do sólido para o ar. Para estes casos torna-se necessária a inclusão de cinéticas de massa (sólido para fluido) para a água. Foram relatadas limitações na taxa evaporativa, em níveis de velocidades 0,011 m s⁻¹ para leito composto por aveia e 0,021 m s⁻¹ para leito composto de cânhamo.

Em estudos de laboratório, geralmente reatores de poucos centímetros de diâmetro são usados. Nestes biorreatores, o resfriamento condutivo pelas paredes pode contribuir para a remoção do calor. Entretanto, em maiores escalas, os reatores são largos o suficiente de maneira que a transferência de calor pelas paredes tem uma contribuição desprezível, logo o resfriamento condutivo será insuficiente (Weber et al., 2002; Weber et al., 1999).

O balanço de energia sem o resfriamento pelas paredes foi usado por Ashley et al. (1999) e por Mitchell et al. (1999) e está apresentado pela Equação 2.

$$\rho_{b}Cp_{b}\left(\frac{\partial T}{\partial t}\right) + \rho_{f}\left(Cp_{f} + f\lambda\right) v_{z}\left(\frac{\partial T}{\partial z}\right) = k_{b}\left(\frac{\partial^{2}T}{\partial z^{2}}\right) + S$$
⁽²⁾

O balanço de quantidade de movimento não foi estudado anteriormente, pois os biorreatores de coluna convencionais têm área transversal constante, proporcionando que o fluido escoe à velocidade constante pelo leito. Entretanto, a ideia de novos designs para os biorreatores de BES pode exigir este tipo de balanço.

O balanço de quantidade de movimento pode ser representado pela Equação 3.

$$\frac{\partial \left(\epsilon \rho \vec{v}\right)}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho \vec{v} \vec{v}\right) = -\nabla P + \nabla \cdot \left(\vec{\tau}\right) + \rho \vec{g} - \frac{\mu}{K} \vec{v}$$
(3)

onde P é a pressão estática, $\rho \vec{g}$ representa a força gravitacional e o último termo representa perda viscosa devido ao meio poroso (proveniente da Lei de Darcy).

Than et al. (2008) relatam que a maioria dos modelos matemáticos só podem ser resolvidos analiticamente para casos simples. Segundo os autores, os métodos numéricos são úteis para estimativa do comportamento térmico de alimentos sob complexas, porém realísticas, condições, como variação na temperatura inicial, propriedades térmicas não-lineares ou anisotrópicas, corpos de forma irregular e condições de contorno dependentes do tempo. Para resolver tais modelos, os métodos das diferenças finitas e dos elementos finitos são largamente utilizados. Porém, recentemente, o método dos volumes finitos tem sido o principal método numérico usado em pacotes comerciais de programas computacionais de CFD (*computational fluid dynamics*). CFD é uma ferramenta de simulação, que usa um computador e a matemática aplicada para modelar o escoamento de fluidos, para predizer da transferência de calor, massa e quantidade de movimento, e, assim, definir os projetos ótimos de processos industriais, para analisar o escoamento de

comportamento complexo, a distribuição de temperatura em salas de estocagem, na indústria de alimentos,...

Atualmente existem diversos tipos de programas computacionais CFD que possibilitam a simulação do processo de uma forma bem completa e precisa.

A experimentação numérica (simulação numérica) praticamente não apresenta restrições, podendo resolver problemas complexos com condições de contorno gerais, definidos em geometrias complexas, e apresentando resultados com muita rapidez. O que deve ser praticado na engenharia é, portanto, a associação adequada da simulação numérica com experiências selecionadas em laboratório. A união dessas técnicas resultará em um projeto melhor e mais barato (Maliska, 2004).

1.3.2.1. Cinética de crescimento do microrganismo

O termo de geração de calor encontrado no balanço de energia (Equação 1) é diretamente proporcional ao crescimento do microrganismo. Portanto, o conhecimento da cinética do crescimento é essencial para o controle do bioprocesso e para a modelagem dos fenômenos de transporte (Hamidi-Esfahani et al., 2007).

Um dos primeiros relatos de uma curva de crescimento de microrganismos foi publicado em 1949 por Monod. As fases de crescimento, apresentadas na Figura 2, foram definidas de acordo com a velocidade de crescimento e podem ser divididas em:

1. fase lag: a velocidade global de crescimento é nula;

 fase de aceleração: a velocidade global de crescimento começa a aumentar;

3. fase exponencial: a velocidade global de crescimento é constante;

4. fase de desaceleração: a velocidade global de crescimento começa a diminuir;

5. fase estacionária: a velocidade global de crescimento é nula, uma vez que a velocidade de crescimento é igual à velocidade de morte do microrganismo;

6. fase de declínio: a velocidade global de crescimento negativa.



Figura 2: Fases de crescimento dos microrganismos. Fonte: Monod (1949).

Para verificar a velocidade de crescimento, normalmente, necessita-se de dados de concentração de biomassa. Entretanto, para BES, a determinação direta de biomassa é muito difícil devido à dificuldade em separar a biomassa do substrato sólido (Carvalho et al., 2006; Mitchell et al., 2004; Raimbault, 1998), especialmente em bioprocessos envolvendo fungos, porque as hifas fúngicas penetram e se ligam fortemente ao substrato (Raimbault, 1998).

A biomassa pode ser medida indiretamente pela determinação de componentes celulares, como a glicosamina (na verdade, em quitina, um componente da parede celular fúngica), ergosterol (presente na membrana celular) ou proteínas e ácidos nucléicos (Carvalho et al., 2006; Bellon-Maurel et al., 2003). Também é possível estimar a biomassa produzida no cultivo através do consumo de O₂ ou produção de CO₂ (respirometria) ou queda de pressão devido ao crescimento do micélio para fungos filamentosos (Bellon-Maurel et al., 2003).

Diversos modelos cinéticos já foram relatados em BES, incluindo o linear, o exponencial, o logístico e o de "rápida aceleração/lenta desaceleração" (Mitchell et al., 2004). A Tabela 3 apresenta estes modelos matemáticos, que não incluem o efeito da concentração de nutrientes no crescimento. Estas equações empíricas foram obtidas através de regressões não-lineares para ajuste dos perfis experimentais de crescimento. Os perfis típicos destas equações estão mostrados na Figura 3.

T I I A		<i>,</i> .				
1 00010 21	N/IOdoloc	ampiriaac	noroo	orocomonto	AO	microragniemoe
Tabela 5.	IVIOUEIUS	ennonicos	Dala U	CIESCILIELIIO	ue	IIIICIOIUAIIISIIIUS.
		•	p 00. 0			

Perfil	Equação diferencial					
Linear	$\frac{dX}{dt} = K$	(5)				
Exponencial	$\frac{dX}{dt} = \mu X$	(6)				
Logística	$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_{max}} \right)$	(7)				
Duas fases	$\frac{dX_1}{dt} = \mu X, \qquad t < t_a$	(8)				
	$\frac{dX_2}{dt} = [\mu Le^{-k(t-t_a)}]X, \qquad t \ge t_a (\text{Ikasari e Mitchell, 2000*})$	(8a)				
	ou $\frac{dX_2}{dt} = \mu_2 X_2 \left(1 - \frac{X_2}{X_{max}} \right), \frac{dX_2}{dt} > \frac{dX_1}{dt} \text{(HEsfahani et al., 2007)}$	(8b)				
	onde ta é o tempo ao final da fase exponencial (h)					

*citado por Mitchell et al. (2004).



Figura 3: Perfis cinéticos empíricos descritos em BES: (A) exponencial, (B) logístico, (C) linear, (D) rápida aceleração/lenta desaceleração.

Fonte: Mitchell et al. (2004).
O modelo mais utilizado na literatura para o estudo de BES é o logístico (Hamidi-Esfahani et al., 2007; van de Lagemaat e Pyle, 2005; Lenz et al., 2004; Mitchell et al., 2004; von Meien et al., 2004; von Meien et al., 2002; Weber et al., 2002; Ashley et al., 1999; Mitchell et al., 1999; Hasan et al. 1998; Saucedo-Catañeda et al., 1990). A opção por este perfil cinético se deve principalmente à simplicidade matemática, pois muitas vezes a equação logística pode, em uma única equação, dar uma adequada aproximação de toda a curva de crescimento, incluindo a fase "lag" e a cessação de crescimento nas últimas fases da fermentação. Com os outros modelos cinéticos, a curva de crescimento deve ser separada em várias fases, com uma equação diferente para cada fase (Mitchell et al., 2004).

Saucedo-Castañeda et al. (1990) foram um dos grupos pioneiros na aplicação do perfil logístico de crescimento do microrganismo. Os autores relataram que o bioprocesso em estado sólido é um processo de contato, limitado pela área superficial disponível, relacionada com a densidade de empacotamento máxima de biomassa (X_{max}).

O grupo de Saucedo-Castañeda (1990) determinou para o cultivo de *Aspergillus niger* em farinha de mandioca, a máxima concentração do microrganismo, através de um polinômio em função da temperatura, conforme mostra a Equação 9.

$$[X]_{max} = 0,0000473T^{4} - 0,00403T^{3} - 0,016T^{2} + 7,95T - 127,08$$
⁽⁹⁾

O efeito da temperatura na velocidade de reações químicas usualmente segue a Lei de Arrhenius. No entanto, a equação de Arrhenius não consegue descrever o comportamento de organismos vivos dependentes da temperatura quando a temperatura ultrapassa a temperatura ótima. Esener et al. (1981) (citado por Bongochgetsakul e Ishida, 2008; Saucedo-Castañeda et. al., 1990) propuseram a hipótese que as enzimas envolvidas em reações limitantes do crescimento podem existir em duas configurações possíveis, uma forma ativa e inativa, em equilíbrio entre si. O efeito da temperatura na atividade enzimática pode ser avaliado considerando as reações de ativação e inativação. Uma vez que somente a fração da enzima ativa influencia o crescimento dos microrganismos, a equação original de Arrhenius pode então ser modificada, como na Equação 10:

$$\mu = \frac{A.e^{(-E_1/RT)}}{1 + B.e^{(-E_2/RT)}}$$
(10)

Saucedo-Castañeda et al. (1990) também definiram os parâmetros para a equação de Esener, sendo A= 7,48 X 10⁷ s⁻¹, E₁ = 70.225 J gmol⁻¹, B = 1,3 X 10⁴⁷, E₂ = 283.356 J gmol⁻¹. A Figura 4 apresenta graficamente os perfis de X_{max} e μ_{max} obtidos experimentalmente.



Figura 4: Perfil de X_{max} (- - -) e μ_{max} (----) em função da temperatura. Fonte: Saucedo-Castañeda et al. (1990).

O perfil cinético de duas fases foi desenvolvido mais recentemente. Neste modelo, uma fase exponencial é seguida pela fase de desaceleração, que se inicia no instante t_a. O termo entre colchetes na Equação 8 (a) representa a velocidade específica de crescimento durante a fase de desaceleração, sendo o parâmetro L a razão entre a velocidade específica de crescimento no início da fase de desaceleração e a velocidade específica de crescimento na fase exponencial anterior (Mitchell et al., 2004). Devido a dificuldades em medir a massa seca de biomassa durantes as fases iniciais de crescimento, poucos pontos experimentais foram avaliados durante essa fase e com um erro relativamente grande. Portanto, talvez seja difícil determinar os parâmetros para a fase exponencial de forma precisa.

Hamidi-Esfahani et al. (2007) também defendem o perfil cinético de duas fases. Segundo os autores, a equação logística é adequada, muito embora não seja perfeita, principalmente na fase inicial da curva de crescimento. Além disso, o modelo logístico é simétrico ao redor do ponto de inflexão e, por conseguinte, as taxas de aceleração e desaceleração são idênticas.

O modelo proposto pelos autores recém-citados consiste nos modelos exponencial e logístico com duas diferentes velocidades específica de crescimento dependentes da temperatura para cada fase. Segundo os autores, o modelo é capaz de predizer o perfil inteiro de velocidade de crescimento em várias temperaturas, especialmente em temperaturas inferiores do que condição ótima, onde a velocidade de crescimento não apresenta um pico nítido.

A Figura 5 apresenta os dados experimentais de Hamidi-Esfahani et al. (2007) para o crescimento de *A. oryzae* em substrato composto por trigo integral, obtidos experimentalmente e através de modelos matemáticos.



Figura 5: Perfis de velocidade de consumo de oxigênio (OUR - *oxygen uptake rate*) de *A. orizae* cultivado em trigo integral. Dados experimentais a diferentes temperaturas 33,9 °C (\bullet) e 39,5 °C (\bullet) e dados numéricos através dos modelos: logístico (....), Ikasari e Mitchell (– –), e o de duas fases (—).

Fonte: Hamidi-Esfahani et al. (2007).

1.4. Variáveis de controle operacional em BES

O objetivo principal de um sistema de controle para biorreatores de BES é, normalmente, controlar, a temperatura e o teor de água do leito em valores ótimos para o crescimento e formação do produto (Mitchell et al., 2003; Raghavarao et al., 2003).

As variáveis operacionais, que podem ser manipuladas para controlar a temperatura e o teor de água do leito, dependerão do projeto do biorreator e incluem a vazão e a temperatura do ar de admissão (Mitchell et al., 2003; Raghavarao et al., 2003). Em casos particulares, como, por exemplo, biorreatores com sistema de agitação, variáveis como a frequência e intensidade de agitação podem ser

manipuladas para promover uma melhor dissipação do calor. Em biorreatores com encamisamento, a manipulação da temperatura e vazão da água que flui pelo encamisamento ou trocadores de calor também é possível (Raghavarao et al., 2003).

Entretanto, o controle da temperatura em biorreator de leito fixo é normalmente realizado pelo ajuste da taxa de aeração. Se a temperatura está muito alta, o aumento a taxa de aeração promove o resfriamento do leito. Esta estratégia, entretanto, pode levar à perda de umidade do substrato, que afetará no desenvolvimento do microrganismo (Raghavarao et al., 2003; Weber et al., 2002; Oostra et al., 2000). Existe, então, certa limitação quanto à vazão do ar de alimentação, a fim de evitar a perda de umidade a ponto de comprometer o desenvolvimento do microrganismo. Não esquecendo que a morfologia do fungo também pode limitar a velocidade do ar de entrada devido a tensões de cisalhamento nas hifas (Gasiorek, 2008), comprometendo o seu crescimento.

A estratégia de usar baixas temperaturas do ar de entrada para resfriamento do biorreator também deve ser empregada com cautela. Mitchell et al. (1999) relatam que existem limites práticos de quão baixa pode ser a temperatura do ar de entrada. Ela deve ser suficientemente alta para permitir velocidades de crescimento razoáveis, já que a região da base da coluna será mantida próxima à temperatura do ar através da alimentação constante.

2. Teoria Constructal

Melhorar a configuração dos sistemas para se obter melhor desempenho é o principal objetivo da engenharia. No passado, os conhecimentos técnico-científicos combinados com a prática e a intuição guiaram os engenheiros no projeto de sistemas. Pouco depois, o advento das ferramentas computacionais permitiu simular e avaliar arquiteturas de fluxo com vários graus de liberdade. No entanto, enquanto o desempenho do sistema era analisado e avaliado em base científica, o projeto, o design do sistema não evoluiu da mesma maneira (Reis, 2006).

A Teoria Constructal estabelece que as estruturas espaciais e temporais exibidas na natureza sejam resultado de um processo global de otimização, sujeito a restrições (constantes) globais e locais. Este princípio dita que um sistema heterogêneo de tamanho finito se sujeitará a mudanças na forma e estrutura, de maneira a proporcionar acessos mais fáceis (caminhos de resistência reduzida) para suas correntes internas (Bejan, 2000).

Dependendo da finalidade e complexidade do sistema, as correntes podem transportar fluidos, calor, eletricidade e espécies químicas (Bejan e Lorente, 2004; Bejan, 2006; Bejan e Lorente, 2007). As resistências a estas correntes (ou fluxo) são inerentes a qualquer sistema e inevitáveis, devido às restrições de tamanho (espaço) que definem o sistema (Bejan e Lorente, 2004).

O fluxo das correntes pode ser facilitado variando (Bejan e Lorente, 2004):

- a configuração do fluxo, ou seja, a geometria do espaço onde ocorre o fluxo;

- o tamanho externo global, ou área abrangida (comprimento);

- o tamanho interno global, ou volume do duto.

2.1. Princípios da Teoria Constructal

O primeiro princípio Constructal estabelece que:

"Para um sistema de fluxo aberto e de tamanho finito persistir no tempo (viver), ele deve evoluir de tal modo que ofereça acessos mais fáceis às correntes que fluem através dele." (Bejan, 2000; Bejan e Lorente, 2004; Bejan e Lorente, 2007).

Se as estruturas de fluxo são livres para mudar (livre para aproximar-se da base do plano na Figura 6 (a)), elas se moverão em constante comprimento do sistema (*L*) e constante volume de escoamento (*V*), na direção da menor resistência global ao escoamento (*R*) progressivamente. Se a configuração inicial é representado por ponto 1 na Figura 6 (b), então uma configuração mais recente é representada pelo ponto 2. A relação entre as duas configurações é: $R_2 \leq R_1$ (*L* e *V* constantes). Se a liberdade para mudar persistir, então a estrutura de fluxo irá continuar na direção de menores valores de *R*. Qualquer mudança desse tipo é caracterizada por:

$$dR \le 0 \ (L \ e \ V \ constantes) \tag{11}$$



Figura 6: Representação gráfica da aplicação do princípio Constructal para estruturas de fluxo com comprimento global (*L*) definido.

Fontes: Bejan e Lorente (2004) e Bejan e Lorente (2006).

O final desta migração é o equilíbrio da estrutura de fluxo (ponto e), onde a geometria do fluxo desfruta total liberdade. O equilíbrio é caracterizado pela mínima resistência global de fluxo (R) com comprimento (L) e volume (V) constantes. Nas vizinhanças do ponto de equilíbrio tem-se:

$$dR = 0 e d^2R > 0 (L e V constantes)$$
(12)

A curva R(V) apresentada na Figura 6 (b) é o contorno do grande número de arquiteturas de fluxo possíveis com o mesmo comprimento global *L*. A curva tem inclinação negativa devido à física do fluxo: a resistência do fluxo sempre decresce quando os canais de fluxo ampliam-se:

$$\left(\frac{\partial R}{\partial V}\right)_{L} < 0 \tag{13}$$

O segundo princípio Constructal estabelece que:

"Para um sistema com comprimento global (L) e resistência global (R) fixos persistir no tempo (viver), este deve evoluir de tal forma que a sua estrutura de fluxo ocupe a menor fração de espaço (V) disponível."

Se livre para mudar, o sistema de fluxo com comprimento global (L) e resistência global ao escoamento (R) constantes irá evoluir a partir do ponto 1 para o

ponto 2', (Figura 6 (b)). No limite da liberdade total, a geometria alcançará outra configuração de equilíbrio, que é representada pelo ponto e', onde:

$$dV \le 0$$
 (*L* e *R* constantes) (14)

Para mudanças na estrutura nas imediações da estrutura do equilíbrio, pode-se constatar que:

$$dV = 0 e d^2 V > 0 (L e R \text{ constantes})$$
(15)

O princípio Constructal que abrange as estruturas de fluxo de volume (V) e resistência ao fluxo (R) constantes pode ser visualizado na Figura 7 e afirma que:

"Para que um sistema de fluxo com resistência global (*R*) e volume (*V*) fixos persistir no tempo, a arquitetura deve evoluir de tal forma que ela abranja um maior território progressivamente."



Figura 7: Representação gráfica da aplicação do princípio Constructal para estruturas de fluxo com volume (*V*) definido.

Fontes: Bejan e Lorente (2004) e Bejan e Lorente (2006).

A evolução natural da estrutura de fluxo de $R \in V$ constantes segue do ponto 1 para o ponto 2" (Figura 7 (b)). Tais mudanças significam que $dL \ge 0$ ($R \in V$ constantes) (16) O equilíbrio é alcançado no ponto e". As mudanças na estruturas de fluxo nas imediações da estrutura de equilíbrio são tais que o comprimento global no equilíbrio seja máxima (Bejan e Lorente, 2004),

$$dL = 0 e d^{2}L < 0 (R e V constantes)$$
(17)

A Figura 7 (b) é a projeção do espaço das possíveis arquiteturas de fluxo na base do plano *R*-*L*. A linha contínua representa o equilíbrio das estruturas de fluxo em constante *V*, chamada a curva R(L), onde

$$\left(\frac{\partial R}{\partial L}\right)_{V} > 0 \tag{18}$$

O fato de o declive ser positivo é da física do fluxo: a resistência ao fluxo sempre aumenta à medida que a distância que deve ser superada pelo fluxo aumenta.

De acordo com Equação 17, a Teoria Constructal estabelece que a estrutura de fluxo final com resistência global (R) e volume (V) fixos é a mais longa. Uma arquitetura de fluxo com R e V especificados tem um comprimento máximo, e este comprimento pertence à arquitetura de equilíbrio. Uma estrutura de fluxo maior do que essa não existe. Este princípio Constructal tem implicações na natureza, por exemplo, em deltas de rio sem acesso ao mar.

A Figura 7 (b) também reapresenta o caso de estruturas de fluxo com *V* e *L* constantes. A evolução é a partir de uma estrutura sub-ótima (ponto 1) para outra com menor resistência global (ponto 2). Se a geometria de fluxo continua mudando livremente, a estrutura se aproxima da configuração de equilíbrio (ponto e). Nas proximidades do ponto as mudanças nas estruturas de fluxo são caracterizadas pela Equação 12.

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Inicialmente, definiu-se o objetivo geral do trabalho: projetar biorreatores para bioprocessos em estado sólido com geometria otimizada. Para tanto, empregouse a modelagem matemática e a simulação numérica, buscando predizer o comportamento da temperatura dentro do biorreator. Com o dado da temperatura máxima do biorreator, estabeleceu-se que a geometria ótima do biorreator fosse aquela em que a temperatura máxima fosse igual a 35°C. Estas etapas do desenvolvimento deste trabalho estão apresentadas na Figura 1.



Figura 1: Esquema principal do presente trabalho.

A modelagem matemática do bioprocesso e a simulação numérica foram etapas fundamentais para o presente trabalho. Partindo da meta buscada na modelagem matemática: conhecer o perfil de temperatura e de velocidade dentro do biorreator, identificou-se o domínio a ser estudado (o leito poroso onde o cultivo se realiza) e definiu-se os modelos físicos (equações matemáticas a serem usadas), as propriedades dos materiais, as condições operacionais do bioprocesso, as condições de contorno e inicial, a convergência do modelo numérico. A seguir, o domínio foi discretizado, ou seja, transformado em um conjunto de volumes infinitesimais, com o auxílio do software Gambit (v. 2.3.16 - ANSYS, Inc. - USA). As equações matemáticas que constituem o bioprocesso (ou cultivo) foram resolvidas numericamente através do método dos volumes finitos empregado no software de fluidodinâmica Fluent (v. 6.3.26 - ANSYS, Inc. - USA). No presente trabalho, a modelagem matemática contemplou um termo transiente que representa o calor metabólico gerado pelos microrganismos, inserido no programa computacional Fluent através de uma função chamada UDF (apêndice A), programada em linguagem em C. Os resultados obtidos pelo modelo matemático foram comparados com dados experimentais, procedendo-se a validação do modelo. A validação foi realizada através de análise estatística. Se o modelo matemático não se mostrar representativo do bioprocesso, revisões devem ser feitas até a satisfação da condição de representatividade. A Figura 2 apresenta um esquema das etapas de modelagem matemática e simulação numérica desenvolvidas neste trabalho.



Figura 2: Fluxograma da metodologia empregada para modelagem e simulação do bioprocesso.

Assim, este trabalho foi dividido em três partes. Cada parte é apresentada como um artigo científico, sendo:

Artigo I: *Constructal Design*: uma nova metodologia para otimização geométrica de biorreatores.

Artigo II: Biorreator modular para bioprocessos em estado sólido.

Artigo III: Biorreator *hollow* – um novo projeto para bioprocessos em estado sólido.

Artigo I: *Constructal Design*: uma nova metodologia para otimização geométrica de biorreatores

CONSTRUCTAL DESIGN: UMA NOVA METODOLOGIA PARA OTIMIZAÇÃO GEOMÉTRICA DE BIORREATORES

Resumo

Uma nova metodologia, Constructal Design, que provou ser totalmente versátil e interdisciplinar, foi usada para projetar um biorreator de coluna e leito fixo, com paredes isoladas. No projeto foi aplicada a otimização geométrica. A geometria ótima foi considerada aquela em que a temperatura máxima do biorreator fosse 35 ºC. Um modelo matemático para representar o bioprocesso em estado sólido com Aspergillus validado usado estudar *niaer* foi е para 0 biorreator de volume 0,52 X 10⁻³ m³. O modelo foi resolvido numericamente através de um software de computational fluid dynamics. A ótima razão entre diâmetro e o comprimento do biorreator foi calculada para várias velocidades, vazões e temperaturas do ar de admissão. O trabalho mostrou a importância da geometria do biorreator para minimizar a resistência global ao fluxo de calor dentro do biorreator. Uma vez que a geometria do biorreator afeta o seu desempenho, essa deve ser considerada com a mesma importância que as condições operacionais no projeto de biorreatores.

Palavras-chave: *Aspergillus niger*, biorreator, *Constructal Design*, estado sólido, otimização, transferência de calor.

Abstract

A new methodology, Constructal Design, that proved to be fully versatile and interdisciplinary, was applied to design a column fixed bed bioreactor, with insulated walls. To design, geometric optimization was applied. The optimal geometry was considered those that the maximum temperature was 35 °C. A mathematical model to represent the solid state bioprocess by *Aspergillus niger* was validated and used to study the bioreactor with volume equal to 0.52 X 10⁻³ m³. The model was solved numerically by computational fluid dynamics software. The optimal ratio between the diameter and the length of the bioreactor was calculated for several inlet velocities, volumetric flow rates and inlet air temperatures. This work highlighted the importance of the bioreactor geometry to minimize the global resistance to the heat flux inside the bioreactor. Since the bioreactor geometry will certainly affect its performance it must

also be considered, with the same importance that the operating conditions, in the design of bioreactors.

Keywords: *Aspergillus niger*; bioreactor, Constructal Design, heat transfer, optimization, solid-state.

1. Introdução

Bioprocesso em estado sólido (BES) caracteriza-se pelo cultivo de microrganismos em leito de partículas sólidas, na ausência de água livre nos espaços inter-partículas e tendo um gás como fase contínua (Rahardjo et al., 2006; Viccini et al., 2001; Pandey et al., 2000).

A partir da década de 90, retornou o interesse em BES devido às vantagens potenciais deste bioprocesso em comparação com o cultivo submerso (Hamidi-Esfahani et al., 2004), como volumes menores de biorreatores, custos de processos de *downstream* reduzidos e produtividade superior (Couto e Sanromán, 2006; Chen et al., 2005; Hölker et al., 2004; Raimbault, 1998). Entretanto, as maiores desvantagens são as dificuldades em monitorar e controlar as variáveis-chave do processo em valores ótimos para o crescimento e formação do produto, principalmente a temperatura e o teor de água (Dalsenter et al., 2005; Hamidi-Esfahani et al., 2004).

O calor gerado pelas atividades metabólicas dos microrganismos causa um aumento na temperatura do meio de cultivo (Couto e Sanromán, 2006; Hamidi-Esfahani et al., 2004). A falta de água livre e a baixa condutividade das partículas sólidas podem levar a gradientes de temperatura em BES (Hamidi-Esfahani et al., 2004). Apesar de a agitação aumentar significativamente a remoção de calor pela parede do reator, a mesma não é pode ser usada em todos os reatores de BES, pois nem todos os fungos e substratos sólidos podem tolerar as força de cisalhamento e de colisão que resultam da agitação (Dalsenter et al., 2005; Hamidi-Esfahani et al., 2004).

Por outro lado, a dificuldade em controlar a temperatura em BES promove a necessidade de desenvolver novas configurações de biorreatores ou modificar as já existentes.

A otimização geométrica mereceu uma importância especial depois do aparecimento da Teoria Constructal (Bejan, 2000; Bejan, 1997): "a forma e estrutura na natureza e engenharia podem ser deduzidas do princípio da maximização do desempenho global para aquela delimitação". Uma importante aplicação desta teoria está no fluxo de um fluido entre um volume finito e um ponto, onde a permeabilidade exerce um papel significante. Se um sistema é ocupado por um meio poroso não-homogêneo composto de um material de baixa permeabilidade K_0 e outro de permeabilidade bem maior K_1 (fissuras, correntes), pode ser deduzido que a estrutura com a forma de árvore é a que minimiza a resistência de fluxo global de "volume a ponto" (Bejan, 2000).

Uma ferramenta útil baseada na Teoria *Constructal*, que pode ser aplicada para otimizar a configuração do biorreator, é o método *Constructal Design*: a forma do reator é livre para mudar em busca de um melhor desempenho, para aquela limitação de volume. A metodologia *Constructal Design* tem sido aplicada em diferentes sistemas termofluídicos com sucesso (Biserni et al., 2007; Rocha et al., 2006; Rocha et al., 2005; Bejan, 2004). Este método provou ser totalmente versátil e interdisciplinar. Por exemplo, foi aplicado no tratamento de câncer por hipertermia: o problema crucial é manter a temperatura do tecido normal em torno do tumor abaixo de certo limite, de modo que o campo de temperatura tem de ser controlado (Wang et al. 2007).

O objetivo deste trabalho foi projetar um biorreator de coluna e leito fixo com paredes isoladas, de volume 0,52 X 10⁻³ m³, para BES, utilizando o método *Constructal Design*. Para isto, foi usada a experimentação numérica. O projeto visou obter a geometria ótima, (D/L)_{opt}, na qual a temperatura máxima do biorrreator não excedesse 35 °C (temperatura considerada ótima para o crescimento do *Aspergillus sp.* segundo Mitchell et al., (2004b) e Parra et al. (2004)).

2. Material e Métodos

Aspergillus niger foi cultivado em biorreator de coluna de vidro com leito fixo, que possui um encamisamento externo para controle da temperatura. O substrato utilizado foi farelo de arroz desengordurado (150 g) com adição de uréia (4,80 g), CaCO₃ (0,75 g), K₂SO₄ (6,00 g), (NH₄)₂HPO₄ (10,5 g) e casca de arroz (22,50 g) como suporte. O meio foi ajustado em 50% de umidade e pH em 5,0 pela adição de HCl 0,4 M. A esterilização da mistura foi realizada a 121 °C por 15 minutos. O substrato foi inoculado com 4 X 10⁶ esporos/ g de meio e foi carregado vagamente no biorreator até a altura do leito alcançar 0,3 m (310 g de meio aproximadamente).

Os cultivos foram conduzidos durante 120 h, em um biorreator de 0,047 m de diâmetro interno e 0,3 m de altura, conforme mostrado na Figura 1. Foi usada água no encamisamento externo para manter as paredes do biorreator em 29,5 - 30,5 °C. Para manter a umidade apropriada do substrato, o ar foi alimentado por uma bomba de diafragma, filtrado em um filtro de algodão esterilizado e, após, introduzido em umidificador e, finalmente, em um separador de gotículas. A vazão do ar entrando no biorreator de coluna (estabelecida em 0,003 m s⁻¹) foi controlada por uma válvula de entrada no fundo do biorreator. A Tabela 2 indica as coordenadas (r, z) no biorreator onde a temperatura foi monitorada por termopares tipo J (Cobre-Constantan) com precisão de 0,1 °C.



Figura 1: Aparato experimental: 1) Banho termostatizado, 2) Bomba, 3) Filtro de ar, 4) Rotâmetro, 5) Umidificador, 6) Separador de gotas, 7) Biorreator de coluna de leito fixo.

3. Modelo matemático e método numérico

O domínio computacional foi definido como o biorreator de coluna com leito fixo, de diâmetro D e comprimento L como mostrado na Figura 2. O ar saturado flui através do leito poroso. Considera-se que a aeração forçada possibilita o suprimento suficiente de oxigênio.



Figura 2: Domínio computacional e condições de contorno.

As seguintes hipóteses foram admitidas para a definição do modelo matemático:

- Domínio axissimétrico (solução em duas dimensões, logo componente da velocidade rotacional - v_{θ} – nula)

- Regime transiente,
- Fluxo laminar e incompressível,
- Dissipação viscosa desprezível,
- Propriedades físicas (p, µ, Cp, k) constantes,
- Geração interna de calor.

Assim, a equação conservativa de massa pode ser escrita como

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho \vec{v} \right) = 0 \tag{1}$$

A equação da quantidade de movimento pode ser dada por

$$\frac{\partial(\rho_{f}\vec{v})}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho_{f}\vec{v}\vec{v}\right) = -\nabla P + \nabla \cdot \left(\vec{\tau}\right) + \rho \vec{g} - \frac{\mu}{K}\vec{v}$$
(2)

onde o último termo representa a dificuldade ao escoamento do fluido imposta pelo meio poroso. Este termo é derivado da relação entre a velocidade do fluido e o gradiente de pressão expressa pela Lei de Darcy.

A equação da energia é dada por

$$\frac{\partial(\epsilon\rho_{f}e_{f} + (1 - \epsilon)\rho_{s}e_{s})}{\partial t} + \nabla \cdot [(\vec{v}(\rho_{f}e_{f})] = k_{ef}\nabla^{2}T + S$$
(3)

onde e é a energia total específica (definida pela Equação 4) e \vec{v} é a velocidade superficial (ver Equação 5).

$$e = h - \frac{p}{\rho} + \frac{v^2}{2} \tag{4}$$

$$\vec{v} = (\epsilon)\vec{v}_{\text{intersticial}}$$
 (5)

A entalpia específica (h), citada na Equação 4, é calculada, para o meio sólido, através da Equação 6 e, para o fluido, através da Equação 7.

$$h = \int_{25}^{T} Cp \ dT$$
 (6)

$$h_{f} = \int_{25}^{T} (Cp_{f} + f\lambda) dT$$
(7)

Para calcular a entalpia específica do fluido (Equação 7), o fator f λ é adicionado ao termo Cp_f. Este procedimento já foi adotado por vários pesquisadores (Sangsurasak e Mitchell, 1998; Ashley et al., 1999; Mitchell et al., 1999; Mitchell et al., 2000). A combinação f λ leva em consideração que o ar permanece saturado enquanto flui através do leito: a evaporação da água para manter a saturação dá ao ar maior calor específico efetivo (Mitchell et al., 2003). Deve ser observado que Weber et al. (2002) não seguiram esta hipótese. Eles verificaram que havia limitação da taxa evaporativa, oriunda de dificuldade de transferência de massa da água do sólido para o ar. Nestes casos, torna-se necessária a inclusão de cinéticas de transferência de massa de água sólidos-para-gás. Foram relatadas limitações na taxa evaporativa em níveis de velocidades de 0,011 m s⁻¹ para leito composto de aveia e em 0,021 m s⁻¹ para leito composto de cânhamo (Weber et al., 2002). Para satisfazer a condição de ar saturado ao longo do leito foram definidas duas condições: pequena diferença de temperatura dentro do biorreator (T_{max} - T_{in}) e baixas velocidades de alimentação do ar (0,003 - 0,006 m s⁻¹).

O termo fonte de energia considera o calor gerado pelo microrganismo, como definido pela Equação 8.

$$S = (1 - \varepsilon)\rho_{ss}(-\Delta H)R_{CO2}$$
(8)

onde R_{CO2} é definido como

$$R_{CO2} = \frac{d[CO_2]}{dt} = Y_{CO_2}R_s$$
 em t = 0; $[CO_2] = 0$ (9)

e R_s é dado por

$$R_{s} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}}R_{x} + m[X] \qquad \text{em } t = 0; [S] = [S_{0}]$$
(10)

onde

$$R_{x} = \frac{d[X]}{dt} = \mu_{max}[X] \left(1 - \frac{[X]}{[X]_{max}} \right) \quad \text{em } t = 0; [X] = [X_{0}]$$
(11)

е

$$\mu_{\max} = \frac{Ae^{[-E_{a1}/R(T+273)]}}{1 + Be^{[-E_{a2}/R(T+273)]}}$$
(12)

A máxima concentração do microrganismo em substrato composto por farinha de mandioca é dada para o *Aspergillus niger* (Saucedo-Castañeda et al., 1990) como

$$[X]_{max} = 0,0000473T^{4} - 0,00403T^{3} - 0,016T^{2} + 7,95T - 127,08$$
(13)

As condições iniciais são dadas por

t = 0
$$T = T_0; [X] = [X_0]; v_z = v_r = 0$$
 (14)

e as condições de contorno estão apresentadas na Figura 2.

A condutividade térmica do meio de fermentação composto de farelo de arroz (k) foi determinada usando um modelo empírico (Costa et al., 1998) (Equação 15), o qual é uma função do empacotamento do leito (ρ) e umidade (M).

$$k = 47,5080 + 0,0115\rho + 0,1295M - 6,0737 \ln \rho - 5,5555 \ln M$$
(15)

Uma vez que a condutividade térmica efetiva é igual a media das propriedades do ar e do substrato, a condutividade térmica do sólido foi obtida por

$$k_{s} = \frac{k - \varepsilon k_{f}}{1 - \varepsilon}$$
(16)

O domínio foi discretizado em uma malha com elementos quadriláteros usando um software de geração de malha (Gambit v. 2.3.16 - ANSYS, Inc. - USA). A malha foi exportada para o software CFD (Fluent v. 6.3.26 - ANSYS, Inc. - USA), onde o modelo matemático, descrito pelas Equações (1 -16) foi resolvido numericamente.

A validação do modelo numérico foi realizada através de análises estatísticas. Foram analisados os coeficientes de correlação, o erro do modelo na predição da temperatura máxima durante o cultivo e a análise de variância (ANOVA) do modelo numérico. Os coeficientes de correlação foram determinados considerando as temperaturas monitoradas, ao longo do cultivo, nos diferentes pontos do biorreator e a temperatura obtida numericamente nestes pontos. A avaliação do erro do modelo na predição da temperatura máxima no biorreator foi obtida através da Equação 17, para cada posição de temperatura monitorada.

$$Err = 100 \frac{\left| T_{experiment al} - T_{simulada} \right|}{T_{experiment al}}$$
(17)

A análise de variância, usada para avaliar numericamente a qualidade do ajuste do modelo numérico, foi apresentada através dos valores da distribuição F e do nível de significância para cada ponto monitorado.

4. Otimização geométrica através do método Constructal Design

Nesta secção o biorreator de parede isolada, ou seja, o biorreator sem o encamisamento externo de resfriamento, foi otimizado de acordo com o método *Constructal Design*. Foi usado o mesmo modelo matemático e propriedades físicas empregadas para o biorreator com encamisamento, exceto para uma nova condição de contorno na parede isolada que foi

em r = R,
$$\frac{\partial T}{\partial r} = 0$$
; $v_z = 0$; $v_r = 0$; $v_{\theta} = 0$ (18)

A temperatura inicial foi definida em 29,5 °C para todas as simulações.

(A - -)

A otimização geométrica foi realizada para obter a razão ótima (D/L) para diferentes velocidades de admissão (v_{in}), vazões (Q) e temperaturas do ar de alimentação (T_{in}).

De acordo com o método *Constructal Design*, o volume do biorreator é uma constante global (restrição)

$$V = \frac{\pi D^2 L}{4}$$
(19)

e foi definido em 0,52 X 10⁻³ m³ que é o volume dos biorreatores disponíveis no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande.

O indicador de desempenho é a temperatura máxima, a qual não deve exceder a temperatura ótima para o crescimento de *Aspergillus sp.* (35 °C) (Mitchell et al., 2004b, Parra et al., 2004). O procedimento para otimização é o seguinte: manter o volume constante, variar a razão (D/L) para calcular a geometria do biorreator e resolver o modelo numérico para obter a temperatura máxima, independente de onde se localize no biorreator. Este procedimento foi repetido para várias configurações para obter a razão ótima (D/L)_{opt} que corresponde a temperatura máxima minimizada, $T_{max,m} = 35$ °C.

5. Resultados e discussão

Esta secção apresenta a validação do modelo matemático e a otimização geométrica do biorreator de paredes isoladas sem encamisamento externo de resfriamento usando o modelo validado.

5.1. Validação do modelo matemático

A validação do modelo foi realizada através da comparação dos dados numéricos de temperatura em diferentes posições do biorreator com os dados experimentais obtidos por Hasan (1998).

O cultivo E2 foi realizado usando condições semelhantes às referentes ao cultivo E1. Entretanto, alguns parâmetros apresentaram pequenas diferenças: a temperatura do ar de admissão (29,0 °C para E1 e 30,0 °C para E2), a temperatura da água do encamisamento (29,5 °C para E1 e 30,5 °C para E2) e a temperatura inicial (26,0 °C para E1 e 27,0 °C para E2).

As propriedades físicas foram assumidas constantes e seus valores estão apresentados na Tabela 1. Esta tabela também indica os parâmetros usados durante as simulações e as referências onde estes valores foram usados.

A malha foi refinada pela redução do tamanho dos elementos até que a independência da malha fosse verificada.

Constante	Valor	Referência
	7 40 V 40 ⁷ c ⁻¹	
A	7,48 X 10 S	Saucedo-Castaneda et al. (1990)
В	1,3 X 1047	Saucedo-Castañeda et al. (1990)
Bi ^[a]	0,8	Valor estimado
Cp _f	1.006 J kg⁻¹ ºC⁻¹	Bejan (2004)
Cps	2.500 J kg ⁻¹ ⁰C ⁻¹	Sangsurasak e Mitchell (1995); Sangsurasak e Mitchell (1995b) Sangsurasak e Mitchell (1998)
D	0,0235 m	Hasan (1998)
E _{a1}	70.225 J gmol ⁻¹	Saucedo-Castañeda et al. (1990)
E_{a2}	283.356 J gmol ⁻¹	Saucedo-Castañeda et al. (1990)
f	0,00246 kg kg ⁻¹ °C ⁻¹	Sangsurasak e Mitchell (1998)
K	1,0 X 10 ⁻⁸ m ²	Richard et al. (2004)
k f	0,0242 W m ⁻¹ ⁰C ⁻¹	Fluent database
k _g	0,7 W m ⁻¹ °C ⁻¹	Bejan (2004)
k _s	0,4139 W m ⁻¹ ⁰C ⁻¹	Valor estimado
L	0,30 m	Hasan (1998)
М	50 g (100 g) ⁻¹	Hasan (1998)
Y _{X/S}	0,55 kg kg⁻¹	Saucedo-Castañeda et al. (1990)
ΔH	8,86 J g⁻¹	Liley et al. (1999)
3	0,30	Hasan et al. (1998)
λ	2.414.300 J kg ⁻¹	Sangsurasak e Mitchell (1998)
μ _f	1,84 X 10 ⁻⁵ kg m ⁻¹ s ⁻¹	Bejan (2004)
ρ	600 kg m ⁻³	Valor estimado
ρ_{ss}	713,27 kg m ⁻³	Valor estimado
ρ _f	1,181 kg m⁻³	Bejan (2004)]

Tabola 1: Parâmetros o propriedados usadas na simulação

^[a]Número de Biot usado de acordo com Hasan et al. (1998)

A Figura 3 mostra a comparação entre os resultados experimentais e os obtidos pela solução numérica dos perfis de temperatura nas seguintes posições do biorreator (r, z): (0, 0,15) (a), (0, 0,20) (b), (0, 0,25) (c) e (0, 0,30) (d). Os resultados para as duas corridas E1 e E2 são apresentadas nesta figura. Estas posições no biorreator foram escolhidas, pois apresentam temperaturas mais elevadas.



Figura 3: Perfis de temperatura em função do tempo nas posições (r,z) (0, 0,15) (a), (0, 0,20) (b), (0, 0,25) (c) e (0, 0,30) (d) durante BES. Dados experimentais caracterizados por símbolos e dados numéricos dados por linhas contínuas e/ou semicontínuas.

Os perfis de temperatura calculados através do modelo matemático são consistentes com os resultados encontrados por outros autores (Ashley et al., 1999; Hasan et al., 1998; Sangsurasak et al., 1995b; Ghyldyal et al., 1994). O perfil apresenta uma temperatura máxima devido à acumulação de calor durante a fase exponencial de crescimento do microrganismo. Note que o modelo está baseado na hipótese que o calor gerado (Equação 8) é diretamente proporcional ao crescimento do microrganismo, de acordo com a curva logística (Mitchell et al., 2004).

A Tabela 2 mostra as correlações estatísticas entre as temperaturas experimentais e as obtidas através do modelo para várias posições do biorreator, ao longo do cultivo, para as corridas E1 e E2. Os coeficientes de correlação, exceto por

uma posição, apresentaram-se superiores a 0,88. Resultados semelhantes foram obtidos por Hasan e colegas (1998). Também foi calculado o erro percentual entre as temperaturas máximas experimental e simulada em diferentes posições do biorreator. A Tabela 2 mostra que os resultados concordam dentro de 8,8%.

Posição	Coordenadas	Coeficiente c	Erro Percentual		
	(r,z)	E1	E2	E1	E2
1	(0, 0,05)	0,7841	0,8855	8,2 %	8,8 %
2	(0, 0,10)	0,9453	0,8835	6,4 %	6,7 %
3	(0, 0,15)	0,9600	0,9049	2,9 %	0,3 %

0,9532

0,9528

0,9324

0,9794

0,9700

0,9049

1,1 %

3,4 %

8,0 %

3,5 %

4,5 %

4,3 %

0,9155

0,9128

0,8958

0,9028

0,8776

0,8841

2,6 %

1,3 %

5,9 %

3,1 %

4,0 %

5,0 %

4

5

6

7

8

9

(0, 0, 20)

(0, 0, 25)

(0, 0, 30)

(0,008, 0,15)

(0,016,0,15)

(0,0235,0,15)

Tabela 2: Posição e coordenadas dos pontos de monitoramento da temperatura, coeficiente de correlação e erro percentual entre as temperaturas máximas experimental e numérica.

A Tabela 3 apresenta a análise de variância entre as temperaturas experimentais e numéricas em diferentes posições do biorreator, ao longo de todo o cultivo. Verifica-se que o modelo numérico apresentado neste trabalho é preditivo e significativo ao nível de significância de 5%, uma vez que os valores de F mostraramse bem superiores ao valor de F tabelado (F tabelado = 4,28) (Barros Neto et al., 2003). Os baixos valores de p também indicam o bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Posição	F		р		
	E1	E2	E1	E2	
1	36,72692	83,551	0,000004	<0,000001	
2	193,0363	81,846	<0,00001	<0,000001	
3	270,0856	103,906	<0,00001	<0,00001	
4	228,4766	119,168	<0,00001	<0,00001	
5	226,3908	114,949	<0,00001	<0,00001	
6	153,0944	93,428	<0,00001	<0,00001	
7	540,6748	101,342	<0,00001	<0,000001	
8	365,9585	77,045	<0,00001	<0,000001	
9	103,9748	82,331	<0,000001	<0,00001	

Tabela 3: Análise de variância entre as temperaturas experimentais e numéricas para cada posição de temperatura monitorada ao longo do cultivo.

O modelo numérico também se mostrou capaz de predizer o tempo de cultivo no qual a máxima temperatura foi verificada para ambas as corridas experimentais (E1 e E2). No experimento E1, o pico de temperatura foi observado entre 34,5 e 39 h de cultivo, semelhante ao tempo de 37 h predito pelo modelo numérico. O experimento E2 apresentou o pico de temperatura entre 34 e 38,5 h de cultivo enquanto o modelo numérico indicou 34 h.

A Figura 4 mostra os campos de temperatura para vários tempos dos experimentos E1 (Figura 4 (a-c)) e E2 (Figura 4 (d-f)) obtidos numericamente. As figuras mostram o efeito da transferência de calor através das paredes, produzindo a forma parabólica dos perfis de temperatura.



Figura 4: Perfis de temperatura dos experimentos E1 (a-c) e E2 (d-f) para vários tempos.

5.2 Otimização geométrica do biorreator de paredes isoladas

Considerando agora o biorreator mostrado na Figura 2, mas sem o encamisamento externo de resfriamento. Se a mesma geometria, materiais e condições de operação são usados no cultivo, a temperatura máxima no leito será maior que a temperatura máxima no biorreator com resfriamento, e o bioprocesso pode entrar em colapso. Entretanto, se o parâmetro (D/L) receber um valor apropriado, a aeração poderia ser capaz de resfriar o leito adequadamente sem o uso de um equipamento externo de resfriamento, como o encamisamento. A temperatura máxima que mantém o sistema operando adequadamente é considerada 35 °C.

A ideia de propor biorreatores com paredes isoladas não é nova (Ashley et al., 1999; Mitchell et al., 1999). O resfriamento do leito de substrato poderia ser através da manipulação da vazão do ar (ou velocidade de admissão) e/ou usando mudanças dinâmicas do ar (incluindo pressão pulsante do ar e circulação reversa do ar). É

apropriado mencionar que ambas as soluções de resfriamento devem ser usadas com cuidado, pois, em certos níveis, podem diminuir o crescimento do microrganismo ou a produção/estabilidade do metabólito.

O indicador de desempenho definido neste trabalho é semelhante ao utilizado por Ashley et al. (1999) e Mitchel et al. (1999). Esses pesquisadores assumiram que era indesejável que qualquer parte do biorreator atingisse 5 °C acima da temperatura ótima de crescimento. Eles se referiram a esta temperatura como temperatura crítica para o crescimento. De acordo com os autores, na fermentação real, a temperatura crítica pode corresponder à temperatura na qual se desencadeia a esporulação ou que tenham efeitos adversos sobre a formação do produto.

Um exemplo de como o campo de temperatura evolui no tempo em um biorreator isolado pode ser visto na Figura 5 (a), (b) e (c). Esta figura mostra o campo de temperatura do biorreator para vários intervalos de tempo ($v_{in} = 0,006 \text{ m s}^{-1}$, $T_{in} = 29,5 \text{ °C}$ e (D/L) = 1). O perfil de temperatura apresenta gradientes axiais, mas gradiente radial de temperatura desprezível (isolação perfeita). Logo, o resfriamento do leito se dará pela transferência de calor convectiva e evaporativa.

A Figura 5 (d), (e) e (f), por outro lado, aponta para o efeito que a razão (D/L) exerce sobre a temperatura máxima do biorreator. Esta figura apresenta a distribuição da temperatura para várias razões (D/L) ($v_{in} = 0,006 \text{ m s}^{-1} \text{ e T}_{in} = 29,5 \text{ °C}$), incluindo a razão ótima (D/L)_{opt} = 1 (t = 36 h) de acordo com nosso critério de otimização.



Figura 5: Perfis de temperatura do biorreator de geometria otimizada em vários tempos (a-c) e perfis de temperatura de 3 diferentes razões (D/L) do biorreator isolado (e-f).

A Figura 6 (a) mostra o comportamento da temperatura máxima do biorreator em função da geometria (D/L) quando a temperatura do ar de admissão, T_{in}, foi definida em 29,5 °C. Esta figura mostra que, quando a mesma T_{in} é usada, a temperatura máxima diminui quando a razão (D/L) aumenta. Se a velocidade de admissão é mantida constante, o aumento do diâmetro irá aumentar a vazão no biorreator, promovendo maior resfriamento, logo menor temperatura máxima. Para uma velocidade de admissão do ar entre 0,003 e 0,006 m s⁻¹, o biorreator deve ter uma razão (D/L) entre 1,0 e 2,4 para manter a temperatura interna máxima de 35°C (geometria ótima). Os níveis mais baixos (0,003 m s⁻¹) e mais altos (0,006 m s⁻¹) da velocidade foram escolhidos baseados em resultados experimentais (Martins et al., 2006).

Ainda se verifica que, se a razão (D/L) for fixada, a temperatura máxima diminui com o aumento da velocidade de admissão, uma vez que há o aumento na vazão de ar. As configurações ótimas ((D/L)_{opt}) variam entre 2,2 e 2,6 quando operando sob vazões de ar entre 3,3 e 3,5 10^{-5} m³ s⁻¹.



Figura 6: Otimização da razão (D/L) do biorreator isolado para várias velocidades (a) e vazões de alimentação de ar (b).

A razão ótima (D/L)_{opt} obtida na Figura 6 (a) pode ser entendida como a razão que corresponde a mínima vazão volumétrica capaz de reduzir a temperatura máxima a 35 °C.

O procedimento usado na Figura 6 (a) foi repetido na Figura 6 (b), mas agora para várias vazões. As razões ótimas variaram entre 2,2 e 2,6 para o biorreator operar sob vazões de ar entre 3,3 e 3,5 10⁻⁵ m³ s⁻¹ e temperatura de admissão do ar igual a 29,5 °C. A temperatura máxima diminui com o aumento da vazão.

As temperaturas máximas ótimas ocorreram no intervalo de 36-39 h de cultivo para todas as simulações mostradas na Figura 6.

O efeito da temperatura do ar de entrada sobre a otimização geométrica do biorreator é apresentada na Figura 7. Os resultados indicam que temperaturas do ar de entrada mais baixas possibilitam o uso de menores vazões para resfriamento do biorreator. Entretanto, apesar das temperaturas mais baixas do ar diminuir a temperatura máxima dentro do biorreator, existem limites práticos em quão baixa T_{in} pode ser. Ela deve ser suficientemente alta para proporcionar velocidades específica de crescimento razoáveis, uma vez a região de entrada será mantida próxima a T_{in} pela alimentação de ar (Mitchell et al., 1999).



Figura 7: (D/L)_{opt} do biorreator isolado em função da temperatura de alimentação do ar.

6. Conclusão

Uma nova metodologia, *Constructal Design*, foi usada para projetar o biorreator de coluna e leito fixo com paredes isoladas, de volume 0,52 X 10⁻³ m³. As geometrias ótimas, àquelas em que a temperatura máxima do biorreator era 35 °C, foram definidas para várias velocidades, vazões e temperaturas de admissão do ar. Para uma temperatura do ar de admissão de 29,5 °C, as configurações ótimas $((D/L)_{opt})$ variaram entre 1,0 e 2,4 para uma faixa de velocidade de admissão do ar entre 0,003 e 0,006 m s⁻¹. Relacionando com vazão, as razões mostraram-se ótimas entre 2,2 \leq (D/L) \leq 2,6 quando operando sob 3,3 a 3,5 10⁻⁵ m³ s⁻¹. Em geral, as temperaturas máximas ótimas ocorreram no intervalo de 36 - 39 h de cultivo para todas as simulações.

Este trabalho mostrou a importância da geometria do biorreator para minimizar a resistência global ao fluxo de calor dentro do biorreator. A geometria do biorreator deve ser considerada com a mesma importância que as condições operacionais no projeto de biorreatores, uma vez que pode beneficiar o seu desempenho. Artigo II: Biorreator modular para bioprocessos em estado sólido

BIOREATOR MODULAR PARA BIOPROCESSOS EM ESTADO SÓLIDO

Resumo

O projeto de um biorreator modular para fermentação em estado sólido é um desenvolvimento promissor, pois mantém a homogeneidade do leito em níveis ótimos. Este estudo determina a geometria ótima de módulos elementares de biorreatores, sujeito a volume constante. Os biorreatores têm secção quadrada e não necessitam de sistema externo de resfriamento, já que a otimização limita a temperatura do leito em 35 °C. A otimização geométrica seguiu o princípio *Constructal* de mínima resistência ao calor. As simulações numéricas levam em consideração os seguintes parâmetros: temperatura e velocidade do ar de alimentação e volume do módulo. Uma vez selecionado o módulo elementar, uma combinação de módulos elementares pode ser utilizada para que seja obtido o volume total do reator a ser empregado. O volume máximo do módulo sem resfriamento externo é 5 L, sendo necessário uma alimentação de ar com velocidade acima de 0,0045 m s⁻¹ e temperatura inferior ou igual 29,0 °C.

Palavras-chave: biorreator, Constructal, módulo elementar, simulação numérica.

Abstract

The design of a modular bioreactor for solid state fermentation is a promising development because it keeps the homogeneity of the bed at optimal levels. This study determines the optimum geometry of elementary modules of bioreactors subjected to constant volume. The bioreactors have a square section and do not need an external cooling system, because the optimization limits the temperature of the bed to 35 °C. The geometric optimization followed the Constructal principle of minimum heat resistance. The numerical simulations take into account the following parameters: inlet air temperature and velocity, and module volume. Once the elementary module has been selected, the total volume of the bioreactor can be calculated. The maximum volume of the module without external cooling is 5 L, being necessary inlet air with velocity above 0.0045 m s⁻¹ and temperature lower or equal to 29.0 °C.

Keywords: bioreactor, Constructal, elementary module, numerical simulation.

Introdução

Os bioprocessos em estado sólido (BES) envolvem o cultivo de microrganismos em substratos sólidos úmidos sem água livre nos espaços interpartículas e tendo como fase contínua um gás (Rahardjo et al., 2006; Dalsenter et al., 2005; Raghavarao et al., 2003; Mitchell et al., 2000). Esses processos podem ser aplicados para a produção de enzimas, pesticidas, alimentos, rações, entre outros (Soccol e Vandenberghe, 2003; Smits et al., 1999). Os BES apresentam numerosas vantagens sobre bioprocessos submersos, como baixo custo e alta produtividade (Couto e Sanromán, 2006).

Apesar deste potencial, poucos BES que são estudados em laboratório fazem a transição para escala de produção. O motivo está na dificuldade em controlar as variáveis-chave (temperatura e atividade de água) do processo em grandes biorreatores nos valores ótimos para crescimento e formação do produto (Dalsenter et al., 2005). Também há a dificuldade em manter essas variáveis homogêneas em todo o biorreator (Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007).

O conceito de modularidade oferece novas perspectivas na forma de gerenciar eficazmente o desenvolvimento de produtos. É uma clássica metodologia de decompor um sistema complexo em pequenas porções (ou subsistemas), para simplificar a operação e a gestão. Subsistemas sensíveis às condições de oferta e demanda são bons candidatos para formar um módulo porque permitem rápida adaptação a mudanças de produção (Leung et al., 2005). Um reator subdividido em módulos menores de geometria adequada poderia facilitar o controle das variáveischave do bioprocesso dentro do biorreator. Além disso, através da otimização geométrica dos módulos é possível manter a temperatura do leito sob determinado limite, sem a necessidade de um equipamento para o resfriamento. A possibilidade de dispensar equipamentos mostra como a otimização geométrica pode ser usada como ferramenta para o gerenciamento ecologicamente correto da energia. A otimização geométrica proposta baseia-se no princípio Constructal de minimização da resistência ao calor, sob restrição de volume constante (Bejan e Lorente, 2004). A forma hexaédrica dos módulos, uma novidade para biorreatores, possui, ainda, a vantagem de facilitar a montagem e o armazenamento do conjunto de módulos.

Este trabalho propôs um biorreator modular para BES, com geometria otimizada para diferentes condições operacionais. A geometria otimizada proporcionou que o biorreator operasse sem um sistema de resfriamento externo. O ar de admissão

possuiu a função de prover oxigênio ao sistema e resfriá-lo. Visando reduzir o tempo e o custo do projeto de um novo equipamento, simulação numérica foi utilizada (Maliska, 2004) através de um pacote computacional para resolução de um modelo matemático representativo do bioprocesso.

Material e Métodos

Considerou-se o cultivo do fungo *Aspergillus niger* em substrato formado por uma mistura de farelo (85%) e casca (15%) de arroz, umidade 50% e concentração inicial de inóculo $[X_0]$ 4 X 10⁶ esporos/g de meio, conforme descrito por Hasan (1998).

Modelo matemático

O bioprocesso foi representado através de um modelo matemático que considera as equações conservativas de massa, quantidade de movimento e energia, apresentadas nas Equações 1-3.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho \vec{v} \right) = 0 \tag{1}$$

onde ρ é a massa específica do ar, t é o tempo e \vec{v} é o seu vetor velocidade do ar através do leito.

$$\frac{\partial (\rho_{f} \vec{v})}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho_{f} \vec{v} \vec{v}) = -\nabla P + \nabla \cdot \left(\vec{\tau}\right) - \frac{\mu}{K} \vec{v}$$
⁽²⁾

sendo P, pressão, τ , a tensão cisalhante e ($\mu \vec{v} / K$), o termo que representa a dificuldade ao escoamento do fluido imposto pelo meio poroso (onde μ é a viscosidade absoluta do fluido (μ = 1,84 X 10⁻⁵ kg m⁻¹ s⁻¹) e K, a permeabilidade do leito (K = 10⁻⁸ m²).

$$\frac{\partial(\epsilon\rho Cp_{f}T + (1-\epsilon)\rho_{s}Cp_{s}T)}{\partial t} + \nabla \cdot [(\vec{v}(\rho_{f}Cp_{f}T)] = k_{ef}\nabla^{2}T + S$$
(3)

onde os subscritos f e s dos termos Cp fazem referência ao fluido e sólido respectivamente (Cp_f = 1006 J kg⁻¹ °C⁻¹ e Cp_s = 2500 J kg⁻¹ °C⁻¹), T é a temperatura, k_{ef} é a média ponderada entre a condutividade térmica do sólido e do ar (k_{ef} = 0,297) e S é o termo fonte de energia devido ao calor gerado pelas atividades metabólicas do microrganismo.

No presente modelo matemático, as propriedades massa específica (ρ) e umidade do leito (M) foram assumidas constantes, conforme trabalhos publicados anteriormente (Ashley et al., 1999; Mitchell et al., 1999; Mitchell et al., 2000; Sangsurasak et al., 1995; Sangsurasak et al., 1995b; Sangsurasak et al., 1998). A evaporação do leito foi considerada desprezível, uma vez que tal hipótese foi verificada experimentalmente em trabalho de Hasan et al. (1998), no qual são utilizadas velocidade do ar de admissão (v_{in}) e gradientes de temperatura semelhantes a deste trabalho. Entretanto, tanto a remoção de calor por convecção como pela evaporação foram consideradas na equação conservativa de energia (segundo termo do lado esquerdo da Equação 3). Para isso, foi adicionado ao termo Cp_f o fator f λ , onde f é a capacidade do ar de absorver água e λ é a entalpia de vaporização. Este fator considera que o ar permanece saturado enquanto flui através do leito: a evaporação da água para manter a saturação dá ao ar maior calor específico efetivo (Mitchell et al., 2003).

Na Equação 3, o termo de geração de calor S é diretamente proporcional à formação do CO₂ e se encontra definido na Equação 4.

$$S = (1 - \varepsilon)\rho_{ss}(-\Delta H)R_{CO_2}$$
(4)

onde ϵ é a porosidade do leito, ρ_{ss} é a massa específica do sólido seco, (- Δ H) é o calor de formação do CO₂ e R_{CO2} é a sua velocidade de formação de CO₂.

R_{CO2} é definido como:

$$R_{CO_2} = \frac{d[CO_2]}{dt} = Y_{CO_2}R_s$$
⁽⁵⁾

sendo Y_{CO2} o fator de conversão substrato-CO₂ e R_s a velocidade de consumo do substrato.

R_s é dado por (Lareo et al., 2006; Saucedo-Castañeda et al., 1990):

(-)
$$R_{s} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}}R_{X} + m[X]$$
⁽⁶⁾

onde $Y_{X/S}$ é o fator de conversão substrato-biomassa, R_x é a velocidade de crescimento do microrganismo, m é o coeficiente de manutenção da biomassa e [X] é a concentração de biomassa.

 R_x segue o perfil cinético logístico (Lareo et al. 2006; Mitchell et al. 2004; Saucedo-Castañeda et al. 1990):

$$R_{x} = \frac{d[X]}{dt} = \mu_{max} [X] \left(1 - \frac{[X]}{[X]_{max}} \right) \qquad \text{em } t = 0, \ [X] = [X_{0}] = 0,012 \text{ g} (100 \text{ g})^{-1}$$
(7)

sendo μ_{max} , a velocidade específica máxima de crescimento e [X]_{max}, a concentração celular máxima. Estas variáveis foram verificadas experimentalmente para o *Aspergillus niger* em farinha de mandioca umidificada (Saucedo-Castañeda et al., 1990), conforme Equações 8 e 9, respectivamente.

$$\mu_{\text{max}} = \frac{2,694 \times 10^{11} e^{(-70225/8,314(T+273))}}{1+1,3 \times 10^{47} e^{(-283356/8,314(T+273))}}$$
(8)

$$[X]_{max} = 0,0000473 T^{4} - 0,00403 T^{3} - 0,016 T^{2} + 7,95 T - 127,08$$
(9)

Simulação computacional e otimização geométrica

O modelo matemático apresentado anteriormente foi aplicado em um biorreator composto de módulos com paredes isoladas e aberturas na face frontal e traseira, por onde flui o ar, conforme mostrado no esquema da Figura 1. O acoplamento dos módulos elementares, correspondente à produção desejada, irá formar o biorreator modular.



Figura 1: Esquema do biorreator modular.

As condições de contorno e iniciais para o domínio computacional mostrado na Figura 1 são:

em x = 0, 0 < y < L₁, 0 < z < L₁ e t > 0 T=T_{in},
$$v_x = v_{in}$$
, $v_y = 0$, $v_z = 0$ (10)

$$x = L_2, 0 < y < L_1, 0 < z < L_1 et > 0$$
 $\frac{\partial T}{\partial x} = 0, \frac{\partial v_x}{\partial x} = 0, v_y = v_z = 0$ (11)

$$y = L_1 e y = 0, \ 0 \le x \le L_2, \ 0 \le z \le L_1 e t > 0$$
 $\frac{\partial T}{\partial y} = 0, \frac{\partial v_y}{\partial y} = 0, v_x = v_z = 0$ (12)

$$z = L_1 e z = 0, \quad 0 \le x \le L_2, \quad 0 \le z \le L_1 \quad e t > 0 \qquad \frac{\partial T}{\partial z} = 0, \\ \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0, \quad v_x = v_y = 0$$
(13)

em t=0,
$$0 < x < L_2$$
, $0 < y < L_1$, $0 < z < L_1$ (14)

 $T=T_{in}$, $v_x=0$, $v_y=0$, $v_z=0$, $[X]=[X_0]$, $[CO_2] = 0$, $[S] = [S_0]$

Com o auxílio dos programas computacionais Gambit (v. 2.3.16 - ANSYS, Inc. - EUA) para discretização do domínio e geração da malha e do Fluent (v. 6.3.26 -ANSYS, Inc. - EUA) para resolução numérica tridimensional do modelo matemático, foram realizadas as simulações computacionais.

Em trabalho anterior foi demonstrado que as soluções são independentes da malha e do passo de tempo, e que a metodologia numérica foi validada através do bom ajuste dos resultados numéricos com dados experimentais. Foram desenvolvidas simulações variando a razão entre a largura e o comprimento (L₁/L₂) do reator para determinadas velocidades (v_{in}) e temperaturas do ar de admissão (T_{in}), porém considerando sempre o volume do reator (V) constante. Para cada simulação foi calculado o perfil de temperatura do reator e verificada sua máxima temperatura. A geometria ótima do reator foi considerada aquela cuja temperatura máxima fosse igual a 35 °C, sem a utilização de nenhum sistema de resfriamento externo (encamisamento). Esta temperatura é tida como ótima para o crescimento do fungo *Aspergillus* (Mitchell et al., 2004b; Parra et al., 2004).

As simulações foram realizadas para velocidades de admissão do ar entre 0,002 e 0,006 m s⁻¹. Este parâmetro é importante para o processo, uma vez que o ar de admissão fornece oxigênio ao sistema, porém também afeta a temperatura e a umidade do leito. Velocidades muito baixas podem implicar em oxigenação insuficiente no leito e velocidades altas podem comprometer a produção e/ou estabilidade do metabólito desejado. O intervalo de velocidade do ar de admissão definida neste trabalho foi anteriormente utilizado com sucesso para o mesmo tipo de substrato (Hasan et al., 1998; Martins et al., 2006).

Resultados e Discussão

A Figura 2 apresenta os perfis de temperatura, em vários tempos de cultivo, para um módulo de 0,52 L, razão (L_1/L_2) 0,72, velocidade do ar de admissão (v_{in}) 0,003 m s⁻¹ e temperatura do ar de admissão (T_{in}) 29,0° C. A geometria apresentada nesta figura não se encontra otimizada, podendo ser observada temperaturas acima de 35 °C durante o cultivo.



Figura 2: Perfil de temperatura de um módulo de 0,52 L, $(L_1/L_2) = 0,72$, $v_{in} = 0,003$ m s⁻¹ e T_{in} = 29,0° C em 12 h (a), 24 h (b), 37 h (c) e 60 h (d) de cultivo.

No início do cultivo, como apresenta a Figura 2 (a), a temperatura do reator é uniforme, uma vez que a geração de calor é pequena, pois o microrganismo encontra-se na fase *lag* de crescimento. A seguir, o microrganismo entra na fase exponencial de crescimento, onde aumenta a geração de calor. A temperatura do reator aumenta como mostra a Figura 2 (b). A Figura 2 (c) apresenta o perfil de temperatura no qual é observado o pico máximo de temperatura. Após esse momento, a temperatura do reator decresce, uma vez que a geração de calor diminui devido à entrada do microrganismo na fase estacionária de crescimento e o ar de admissão resfria o reator, como mostra a Figura 2 (d).

A influência da velocidade do ar de admissão sobre a temperatura máxima do reator é apresentada na Figura 3. A temperatura máxima do reator decresce tanto com o aumento da velocidade do ar de admissão, quanto com o aumento da razão entre a largura e o comprimento do reator (L₁/L₂), porque o aumento desses parâmetros ocasiona o aumento da vazão de ar e, conseqüentemente, o melhor resfriamento do leito. Tal comportamento também é verificado no estudo do biorreator de coluna (artigo I).



Figura 3: Relação entre temperatura máxima do reator e razão (L_1/L_2) para diferentes velocidades de admissão do ar $(T_{in} = 29,0^{\circ} \text{ C})$.

Se o processo de produção for adequado para pequenos módulos (V = 0,52 L), a Figura 3 possibilita, a partir da velocidade de admissão do ar, definir qual razão (L₁/L₂) que deverá ser usada. Para manter a temperatura máxima não superior a 35 °C, a configuração, (L₁/L₂)_{opt}, deve estar entre 0,8 e 1,4 para uma velocidade de admissão do ar entre 0,003 e 0,006 m s⁻¹. A otimização geométrica deste biorreator (V = 0,52 L) para outras temperaturas do ar de admissão (T_{in}) encontra-se apresentada na Figura 4 (a).

As Figuras 4 (b-f) mostram a configuração ótima para módulos de diferentes volumes em função da velocidade e da temperatura do ar de admissão.



Figura 4: Razão (L_1/L_2) ótima em função de diferentes temperaturas do ar de admissão para um módulo de volume 0,52 L (a), 1,0 L (b), 1,5 L (c), 2,5 L (d), 4 L (e) e 5 L (f).

A Figura 4 indica a dificuldade de aumento de escala para o reator modular para bioprocessos em estado sólido. Menores volumes possibilitam o uso de menores velocidades do ar de admissão e menores razões (L₁/L₂), logo menores vazões volumétricas. Maiores volumes, por outro lado, além de exigirem maiores vazões volumétricas para manter a temperatura limite de 35° C, também necessitam de temperaturas mais baixas do ar de admissão. Entretanto, há um limite para o uso de temperaturas baixas no ar de admissão, porque temperaturas mais baixas têm como conseqüência manter parte do reator sob esta condição, que não é favorável para o desenvolvimento do microrganismo (Mitchell et al., 1999; Raghavarao et al., 2003).

Os resultados apresentados na Figura 4 permitem a seleção de um módulo elementar, com geometria ótima $((L_1/L_2)_{opt})$ em função dos parâmetros temperatura do ar de admissão, velocidade do ar e volume dos módulos. Uma vez selecionado o módulo elementar, uma combinação de módulos elementares pode ser utilizada para que seja obtido o volume total do reator a ser empregado.

A Figura 4 (f) mostra que o volume máximo possível de um módulo sem resfriamento externo é 5 L. O limite máximo aceitável de velocidade do ar dentro do módulo ($v_{max} = 0,006 \text{ m s}^{-1}$) restringe o aumento de escala. Um limite de velocidade mais alto permitiria o uso de maiores vazões volumétricas, que, por sua vez, seria capaz de resfriar biorreatores maiores.

Para o módulo de máximo volume (5 L) operar sob 35 °C é necessária uma alimentação de ar com velocidade acima de 0,0045 m s⁻¹ e temperatura inferior ou igual 29,0 °C.

Conclusões

Neste trabalho, foi proposto um reator modular para BES sem nenhum sistema externo de resfriamento. Os módulos que compõe o biorreator modular, de geometria retangular e seção quadrada, são adaptáveis a diferentes escalas de produção e de fácil montagem. Os resultados foram apresentados na forma da razão ótima entre a largura e o comprimento do reator, (L₁/L₂)_{opt}, em função dos parâmetros temperatura do ar de admissão, velocidade do ar e volume dos módulos. Uma vez selecionado o módulo elementar, uma combinação de módulos elementares pode ser utilizada para que seja obtido o volume total do reator a ser empregado.

O volume máximo do módulo sem resfriamento externo é 5 L, sendo necessário uma alimentação de ar com velocidade acima de 0,0045 m s⁻¹ e temperatura inferior ou igual 29,0 °C.

Artigo III: Biorreator *hollow* – um novo projeto para bioprocessos em estado sólido

BIORREATOR HOLLOW – UM NOVO PROJETO PARA BIOPROCESSOS EM ESTADO SÓLIDO

Resumo

Vários produtos são obtidos através de bioprocessos em estado sólido, tais como antibióticos e enzimas. Este tipo de bioprocesso, no qual microrganismos são cultivados em substrato sólido, apresenta como principal problema operacional a dificuldade em dissipar o calor metabólico gerado, que ocasiona temperaturas indesejáveis no leito sólido. Este trabalho propôs um novo tipo de biorreator, o biorreator *hollow*, que consiste num biorreator tipo coluna com um duto interno pelo qual o ar é admitido. A otimização geométrica foi realizada de acordo com o método *Constructal:* o volume do biorreator é mantido constante, mas suas dimensões podem mudar, de maneira que a temperatura máxima do leito não deve exceda 35 °C. O biorreator não utiliza nenhum tipo de equipamento externo de resfriamento. As ótimas configurações foram apresentadas em função dos seguintes parâmetros: fração de volume do duto interno, vazão e temperatura do ar de alimentação e razão entre os diâmetros de entrada e saída do duto interno.

Palavras-chave: biorreator, estado sólido, *hollow*, otimização, simulação numérica.

Abstract

Several products are obtained by solid state bioprocesses, such as antibiotics and enzymes. This type of bioprocess, in which microorganisms are grown on solid substrate, presents as the main operational problem the difficulty to dissipate the metabolic heat generated, causing undesirable temperatures in the solid bed. This paper proposed a new type of bioreactor, the "hollow" bioreactor, which consists a column bioreactor with an internal duct that supplies the air to the system. The geometric optimization was performed according to Constructal Design: the bioreactor volume is kept constant but its dimensions can vary while the maximal temperature of the bed does not exceed 35 °C. The bioreactor does not use any kind of external cooling apparatus. The optimal configurations were presented as a function of the following parameters: the volume fraction of the internal duct, airflow rate and temperature of inlet air and ratio between the inlet and exit diameters of internal duct.

Keywords: bioreactor, hollow, numerical simulation, optimization, solid state.

1. Introdução

O cultivo de microrganismos em substratos sólidos faz parte da história da Humanidade (Fernández-Fernández e Pérez-Correa, 2007; Rahardjo et al., 2006), principalmente na preparação de alimentos tradicionais como o *shoyu* e o *miso* nos países orientais e o pão e o queijo nos países ocidentais (Bellon-Maurel et al., 2003). Os bioprocessos em estado sólido (BES) consistem no crescimento de microrganismos em substrato sólido úmido, no qual há umidade suficiente para manter o crescimento e o metabolismo microbiano e tendo o ar como fase contínua (Rahardjo et al., 2006; Dalsenter et al., 2005; Raghavarao et al., 2003; Mitchell e von Meien, 2000).

Todos os biorreatores devem promover um ambiente adequado para o crescimento e atividade do microrganismo (Couto e Sanromán, 2005). Melhores condições ambientais para o microrganismo podem incrementar a produtividade do bioprocesso, seja em termos de biomassa ou do metabólito desejado.

Uma das variáveis mais importantes em bioprocessos em estado sólido é a temperatura do leito, principalmente devido ao seu difícil controle em biorreatores de maior escala (Dalsenter et al., 2005; Weber et al., 2002; Ghildyal et al., 1994). A geração de calor proveniente das atividades metabólicas do microrganismo pode levar a zonas de temperaturas elevadas, que, normalmente, afetam adversamente a produtividade (Weber et al., 2002; Ghildyal et al., 1994). A dissipação do calor gerado não pode ser efetuada através de agitação contínua, uma vez que muitos bioprocessos em estado sólido envolvem fungos filamentosos (Lareo et al., 2006), os quais podem sofrer danos com este artifício (Dalsenter et al., 2005).

O tempo e o custo do projeto de um novo equipamento podem ser sensivelmente reduzidos com o uso da simulação numérica. As ferramentas de CFD (*computacional fluid dynamics*) vêm se tornando cada vez mais robustas e capazes de resolver modelos matemáticos complexos, que descrevem de forma precisa a física do problema em estudo, permitindo que se chegue praticamente ao projeto final do equipamento, deixando-se para o laboratório as experiências finais de ajuste e teste do equipamento (Maliska, 2004).

Este trabalho propôs um novo tipo de biorreator (o biorreator *hollow*), que dispensa equipamento de resfriamento externo e apresenta um sistema diferenciado de aeração, pelo qual o ar é alimentado através de um duto interno. O projeto contemplou a otimização geométrica do biorreator através da minimização da máxima temperatura do leito, que não deve exceder a temperatura limite de 35 °C, enquanto o seu volume foi mantido constante. Simulações computacionais para a otimização do design foram realizadas através de um pacote computacional de CFD (*computational fluid dynamics*). A geometria ótima do biorreator foi apresentada em função da fração de volume do duto interno (ϕ), da razão entre os diâmetros de entrada e saída do duto interno (D_{in}/D_{out}) e sob diferentes condições operacionais (vazão (Q) e temperatura do ar de alimentação (T_{in})).

2. Material e Métodos

2.1. Biorreator

O biorreator proposto é do tipo coluna, com um sistema de aeração pelo qual o ar é alimentado através de um duto interno. Para permitir que o ar penetre no meio poroso, o duto interno tem inúmeros furos perpendiculares às suas paredes, mas a sua saída é isolada. A Figura 1 apresenta o esquema do biorreator e o domínio estudado (axissimétrico).



Figura 1: Esquema do biorreator *hollow* e domínio computacional.

O biorreator *hollow* tem dois graus de liberdade: a razão entre o diâmetro e a altura do biorreator (D/L) e a razão entre os diâmetros do duto interno na sua entrada e na sua saída (D_{in}/D_{out}). Tais parâmetros são estudados, assim como a fração de volume ocupada pelo duto interno (ϕ), que é dado pela Equação 1.

$$\varphi = \frac{V_d}{V}$$
(1)

onde V_d é o volume do duto interno (definido pela Equação 2) e V é o volume total do biorreator.

$$V_{d} = \frac{\pi}{12} L(D_{in} + D_{out})^{2}$$
⁽²⁾

2.2. Modelo Matemático

O modelo matemático, representativo do bioprocesso, contempla as equações conservativas de massa, quantidade de movimento e energia, mostrado nas Equações 3-5.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho \vec{v} \right) = 0 \tag{3}$$

$$\frac{\partial \left(\rho_{f} \vec{v}\right)}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho_{f} \vec{v} \vec{v}\right) = -\nabla P + \nabla \cdot \begin{pmatrix} = \\ \tau \end{pmatrix} - \frac{\mu}{K} \vec{v}$$
(4)

$$\frac{\partial(\epsilon\rho_{f}C_{p_{f}}T + (1-\epsilon)\rho_{s}C_{p_{s}}T)}{\partial t} + \nabla \cdot [(\vec{v}(\rho_{f}C_{p_{f}}T)] = k_{ef}\nabla^{2}T + S$$
(5)

Na equação da quantidade de movimento (Equação 4), é incluído o termo de força ($\mu \vec{v} / K$), que representa a dificuldade ao escoamento do fluido imposta pelo meio poroso. Este termo é obtido a partir da relação entre a velocidade do fluido e o gradiente de pressões expresso pela Lei de Darcy.

As propriedades massa específica e umidade do leito são assumidas constantes conforme trabalhos publicados anteriormente (Mitchell e von Meien, 2000; Ashley et al., 1999; Mitchell et al., 1999). A evaporação da umidade do leito é considerada desprezível, uma vez que tal hipótese foi verificada experimentalmente em trabalho de Hasan et al. (1998), no qual foi utilizada velocidade do ar de admissão e gradientes de temperatura semelhantes às deste trabalho. Tanto a remoção de calor por convecção como pela evaporação foram consideradas na equação conservativa de energia (segundo termo do lado esquerdo da Equação 5). Ao termo Cp do fluido foi adicionado o fator f λ , que leva em consideração que o ar permanece saturado enquanto flui através do leito: a evaporação da água para manter a saturação dá ao ar maior calor específico efetivo (Mitchell et al., 2003). Esta consideração pode ser assumida, uma vez que não há limitação da evaporação da água (transferência de massa do sólido para o fluido) com o uso de baixas velocidades do ar e baixos gradientes de temperatura.

Na Equação 5 foi considerado como termo fonte o calor gerado pelas atividades metabólicas do microrganismo durante o seu crescimento. Este termo encontra-se definido na Equação 6.

$$S = (1 - \varepsilon)\rho_{ss}(-\Delta H)R_{CO_2}$$
(6)

onde R_{CO2} é definido como:

$$R_{CO_2} = \frac{d[CO_2]}{dt} = Y_{CO_2}R_s$$
⁽⁷⁾

e R_s é dado por (Lareo et al., 2006; Saucedo-Castañeda et al., 1990):

$$R_{s} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}}R_{X} + m[X]$$
⁽⁸⁾

e R_x segue o perfil cinético logístico (Lareo et al., 2006; Mitchell et al., 2004; Saucedo-Castañeda et al., 1990):

$$R_{x} = \frac{d[X]}{dt} = \mu_{max} [X] \left(1 - \frac{[X]}{[X]_{max}} \right) \qquad \text{em } t = 0, [X] = [X_{0}]$$
(9)

A velocidade específica máxima de crescimento (μ_{max}) e a concentração celular máxima ([X]_{max}) foram verificadas experimentalmente para o *Aspergillus niger* em farinha de mandioca úmida (Saucedo-Castañeda et al., 1990), conforme Equações 10 e 11, respectivamente.

$$\mu_{max} = \frac{2,694 \times 10^{11} e^{(-70225/8,314(T+273))}}{1+1,3 \times 10^{47} e^{(-283356/8,314(T+273))}}$$
(10)

$$[X]_{max} = 0,0000473 T^{4} - 0,00403 T^{3} - 0,016 T^{2} + 7,95 T - 127,08$$
(11)

As condições de contorno e iniciais para o domínio computacional (mostrado na Figura 1) são:

em A
$$\frac{\partial T}{\partial z} = 0$$
, $v_r = 0$, $v_z = 0$ (12)

em C
$$\frac{\partial T}{\partial z} = 0, \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0, v_r = 0$$
 (13)

em B
$$\frac{\partial T}{\partial r} = 0$$
, $v_r = 0$, $v_z = 0$ (14)

em D
$$T=T_{in}, v_r = v_{in}, v_z = 0$$
 (15)

em t=0, T=T_{in},
$$v_z$$
=0, v_r =0, [X]=[X₀], [CO₂] = 0, [S] = [S₀] (16)

As soluções do modelo matemático foram previamente testadas. Essas mostraram-se independentes da malha e do passo de tempo e foram validadas através da comparação dos resultados numéricos com dados experimentais. Os resultados numéricos e experimentais indicaram que o modelo matemático é preditivo e significativo ao nível de confiança de 95%, sendo o erro máximo na predição da temperatura máxima não superior a 8,8%.

2.3. Simulação Numérica e Otimização Geométrica

O domínio computacional que representa o biorreator foi gerado e discretizado através do *software* Gambit (v. 2.3.16 - ANSYS, Inc. - USA) usando elementos tetraédricos. Essas malhas foram exportadas para o *software* Fluent (v. 6.3.26 - ANSYS, Inc. - USA) para resolução numérica do modelo matemático através do método dos volumes finitos.

Foram realizadas simulações a fim de analisar os campos de temperatura e de velocidade dentro do leito para duas configurações diferentes do biorreator: com duto interno de alimentação de ar de secção transversal constante ($(D_{in}/D_{out}) = 1$) e com duto de secção transversal não constante ($(D_{in}/D_{out}) \neq 1$).

A otimização geométrica do biorreator possibilita que o projeto do biorreator *hollow* dispense o equipamento externo de resfriamento do leito, uma vez que minimiza a temperatura máxima do biorreator (função objetivo) através do princípio *Constructal.* A temperatura máxima foi fixada em 35 °C por ser considerada ótima para o crescimento do fungo *Aspergillus* (Mitchell et al., 2004b; Parra et al., 2004). Mantendo constante o volume total do biorreator (V), o modelo numérico é resolvido para diferentes razões (D/L) até a obtenção da geometria ótima ((D/L)_{opt}), que corresponde à temperatura máxima minimizada, $T_{max,m} = 35$ °C. Esse procedimento é repetido considerando diferentes frações de volume do duto interno (ϕ), razões entre os diâmetros de entrada e saída do duto interno (D_{in}/D_{out}), vazões (Q) e temperaturas do ar de entrada (T_{in}).

3. Resultados e Discussão

A Figura 2 mostra o campo de temperaturas para o biorreator de duto interno com secção transversal constante. Como a configuração não está otimizada geometricamente, pode ser observada (Figura 2 (d)) temperaturas acima do nível ótimo estabelecido no trabalho (35 °C).



Figura 2: Campo de temperaturas do domínio computacional em 20 h (a), 30 h (b), 35 h (c) e 40 h (d) de cultivo ((D/L) = 0,5, ϕ = 0,1, (D_{in}/D_{out}) = 1,T_{in} = 29 °C e Q = 3 X 10⁻⁷ m³ s⁻¹).

Até 20 h de cultivo (Figura 2 (a)), observa-se que o aumento lento da temperatura do leito poroso, indicando que o microrganismo encontra-se na fase *lag* de crescimento. Após 20 h de cultivo (Figura 2 (b)), a fase *lag* de crescimento foi superada e a concentração de microrganismos começa a aumentar, promovendo um pequeno gradiente radial de temperatura. Em 35 e 40 h (Figura 2 (c-d)), verifica-se que a temperatura do leito sobe rapidamente, caracterizando a fase exponencial de crescimento, onde ocorre rápida geração de calor.

A Figura 2 também mostra que o biorreator *hollow* com secção transversal do duto interno constante apresenta gradientes de temperatura radiais e constantes ao longo do biorreator. Esse perfil se deve a um conjunto de fatores composto pela constante secção transversal do duto interno, pelas paredes externas do biorreator isoladas e pela alimentação do ar na direção r. Biorreatores de coluna convencionais, ao contrário do *hollow*, apresentam gradientes axiais de temperatura ao decorrer do cultivo (Mitchell et al., 2003).

A temperatura máxima do biorreator *hollow* no tempo 35 e 40 h (aproximadamente 36 °C) é baixa quando comparada com a temperatura máxima do biorreator convencional de coluna sob as mesmas configurações e condições operacionais. Utilizando-se o modelo matemático descrito pelas Equações 1 - 16, o biorreator convencional alcançaria temperaturas superiores a 50 °C neste intervalo de tempo. Portanto, o sistema de aeração do *hollow* mostra-se eficiente para resfriar o meio poroso.

A Figura 3 mostra os perfis de temperatura de dois casos em que a secção transversal do duto interno não é constante $((D_{in}/D_{out}) \neq 1)$. Estes exemplos contemplam duas situações: uma situação em que $(D_{in}/D_{out}) < 1$ e outra em que $(D_{in}/D_{out}) > 1$.



Figura 3: Perfis de temperatura do biorreator *hollow* com razão $(D_{in}/D_{out}) = 0.5$ (a) e com $(D_{in}/D_{out}) = 1.5$ (b) em 40 h de cultivo $((D/L) = 0.5, \phi = 0.1, T_{in} = 29 \text{ °C e} Q = 3 \times 10^{-7} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}).$

Diferentemente do perfil de temperatura do biorreator *hollow* com secção transversal do duto interno constante (Figura 2), os biorreatores com $(D_{in}/D_{out}) \neq 1$ (Figura 3) não apresentam gradientes radiais de temperatura constantes ao longo do comprimento (direção z).

Observa-se também que, apesar de ambos os exemplos apresentados na Figura 3 terem a mesma razão (D/L), a mesma fração de volume do duto interno (φ), a mesma vazão (Q) e temperatura do ar de alimentação (T_{in}), os perfis de temperatura são diferentes, devido às diferenças nas relações (D_{in}/D_{out}). Verifica-se, através da Figura 3 (a), que, no caso em que (D_{in}/D_{out}) < 1, a região na qual se observa a temperatura máxima do biorreator localiza-se próxima à parede ao redor do início do duto interno. Ao contrário, quando (D_{in}/D_{out}) > 1 (Figura 3 (b)), verifica-se a máxima temperatura próxima a área de saída do biorreator. O valor da temperatura máxima difere entre os dois casos. O emprego de uma razão (D_{in}/D_{out}) > 1 proporciona uma temperatura máxima menor quando comparada à temperatura máxima do biorreator com (D_{in}/D_{out}) < 1 sob as mesmas condições. Porém, se comparada com a temperatura máxima para o caso onde (D_{in}/D_{out}) = 1 (que tem o perfil de temperatura mostrado na Figura 2 (d) sob as mesmas configurações e condições operacionais), verifica-se que a temperatura máxima mínima encontra-se na configuração de biorreator com duto interno de secção constante.

Em relação à velocidade do fluido no meio poroso (Figura 4), observa-se que o uso de biorreatores com relação (D_{in}/D_{out}) > 1 (Figura 4 (c)) proporciona uma melhor distribuição da velocidade do ar ao longo do biorreator e reduz as áreas de pouco aeração (localizadas próximas à parede ao redor do início do duto interno). Uma vez que o fluxo de ar converge para a saída do biorreator, verifica-se, nesta área, a velocidade máxima do fluido.



Figura 4: Perfis de velocidade no biorreator *hollow* com $(D_{in}/D_{out}) = 1$ (a), $(D_{in}/D_{out}) = 0.5$ (b) e $(D_{in}/D_{out}) = 1.5$ (c) ((D/L) = 0.5, $\phi = 0.1$, $T_{in} = 29$ °C e $Q = 3 \times 10^{-7} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$).

Definindo o biorreator com secção transversal do duto interno constante $((D_{in}/D_{out}) = 1)$, foram testadas diferentes frações de volume do duto interno (ϕ) a fim de verificar seu efeito sobre a temperatura máxima do biorreator, conforme mostra a Figura 5.



Figura 5: Temperatura máxima do biorreator em função de (D/L) para vários φ (Q = 3 X 10⁻⁶ m³ s⁻¹, T_{in}= 29 °C, (D_{in}/D_{out}) = 1).

Observa-se que à medida que a fração de volume do duto interno aumenta são necessárias maiores razões (D/L) para manter a temperatura máxima em 35 °C. Maiores frações de volume do duto interno (ϕ) diminuem a capacidade útil do biorreator, logo reduzem também a geração de calor volumétrica. Tornam-se, então, necessárias maiores razões (D/L), pois o perfil de temperatura do biorreator *hollow* com (D_{in}/D_{out}) = 1 se caracteriza pelo gradiente radial de temperatura. Em outras palavras, biorreatores com maiores ϕ têm menor geração de calor e, portanto, podem ser mais largos (maior razão (D/L)).

Também se verifica que, para uma mesma fração de volume do duto interno (ϕ), há um aumento na temperatura máxima do biorreator com o aumento a razão (D/L), sendo este aumento mais pronunciado em menores valores de ϕ . O aumento da temperatura máxima em razões (D/L) maiores também pode ser explicado pelo gradiente radial de temperatura característico do biorreator *hollow* com (D_{in}/D_{out}) = 1.

Observado o efeito da fração de volume ϕ sobre a temperatura máxima do biorreator, foi realizada a otimização geométrica do mesmo em função da razão (D_{in}/D_{out}). A Figura 6 (a) mostra as configurações do biorreator ((D/L)_{opt}) para diferentes (D_{in}/D_{out}) e ϕ , sob as condições operacionais de T_{in} = 29 °C e Q = 3 X 10⁻⁶ m³ s⁻¹.



Figura 6: Otimização geométrica do biorreator *hollow* em função de (D_{in}/D_{out}) para diferentes φ (T_{in} = 29 °C e Q = 3 X 10⁻⁶ m³ s⁻¹) (a) e a velocidade do fluido correspondente para cada otimização (b).

A configuração ótima do biorreator depende da fração de volume do duto interno (ϕ) (Figura 6 (a)). Biorreatores com baixos valores de ϕ , independentemente da relação (D_{in}/D_{out}), apresentam configurações mais longas ((D/L)_{opt} menores), quando comparado a biorreatores de maior ϕ .

Observa-se também que as curvas apresentadas na Figura 6 (a) não são simétricas em relação a $(D_{in}/D_{out}) = 1$. Biorreatores com $(D_{in}/D_{out}) > 1$ apresentam temperatura máxima próxima à saída do biorreator (Figura 3 (b)), onde também se verifica a velocidade máxima do ar no biorreator (Figura 4 (c)). Essa região de maior aeração sofre maior resfriamento, afetando assim a $(D/L)_{opt}$.

Biorreatores com φ menores (e consequentemente maior geração de calor) tem áreas superficiais do duto interno menores quando comparado a biorreatores de φ maiores, logo proporcionando ao leito poroso menor contato com a temperatura (mais baixa) do ar de entrada (T_{in}). Isso sugere que esse não seja o principal mecanismo de resfriamento de tais biorreatores. A maior velocidade do ar de entrada nos casos de biorreatores de menores φ (Figura 6 (b)) indica que o resfriamento convectivo como o mecanismo principal no processo de troca térmica do biorreator (o resfriamento evaporativo tem pequena parcela no resfriamento do leito devido aos baixos gradientes de temperatura durante o cultivo).

As Figuras 6 (a - b) mostram pontos máximos, localizados em $(D_{in}/D_{out}) = 1$. Os pontos máximos da Figura 6 (a) indicam que o biorreator com duto interno de secção constante é a configuração com maior razão $(D/L)_{opt}$ para determinado valor de φ . Os pontos máximos da Figura 6 (b), por sua vez, justificam a maior razão $(D/L)_{opt}$ dos biorreatores com $(D_{in}/D_{out}) = 1$, pois nesta configuração têm-se as velocidades máximas de alimentação do ar, que incrementam o resfriamento do leito e, dessa forma, possibilitam que o biorreator apresente maior diâmetro e, consequentemente, maior razão (D/L) para a mesma vazão volumétrica.

A Figura 7 (a) mostra as configurações $(D/L)_{opt}$ do biorreator *hollow* com duto interno de secção constante em função de φ para diferentes vazões de alimentação de ar (Q). As vazões de alimentação foram definidas de forma a não exceder a velocidade máxima no leito de 0,006 m s⁻¹. Este nível de velocidade foi testado anteriormente com sucesso em cultivos com o fungo *Aspergillus* utilizando o mesmo leito de substrato (Martins et al., 2006).



Figura 7: Otimização geométrica do biorreator *hollow* para diferentes Q $(T_{in} = 29 \ ^{\circ}C)$. (a): em função de ϕ , sendo $(D_{in}/D_{out}) = 1$. (b): em função de (D_{in}/D_{out}) sendo $\phi = 0.05$.

Dentro do intervalo de vazão estudado, verifica-se que a vazão de ar (Q) apresenta efeito mais pronunciado na configuração $(D/L)_{opt}$ dos biorreatores com maiores frações de volume do duto interno (φ). Biorreatores com pequenas frações de volume do duto interno ($\varphi \le 0.04$) têm configuração $(D/L)_{opt}$ quase independente da vazão de ar. Por outro lado, $(D/L)_{opt}$ aumenta com o valor de φ e com o aumento da vazão.

Através da Figura 7 (b), observa-se que, independentemente da relação (D_{in}/D_{out}) , o incremento da vazão de ar (Q) proporciona configurações com $(D/L)_{opt}$ maiores quando ϕ é mantido constante.

A observação geral do efeito da vazão de ar sobre (D/L)_{opt} ressalta a importância de dados experimentais sobre a velocidade máxima aceitável do ar dentro do leito poroso que não seja prejudicial para o crescimento do fungo. Este parâmetro é importante e há escassez sobre os limites práticos deste dado (Mitchell et al., 2003).

A otimização geométrica do biorreator para diferentes temperaturas do ar de alimentação (T_{in}) também é apresentada, conforme Figura 8.



Figura 8: Otimização geométrica do biorreator *hollow* para diferentes T_{in} (Q = 3 X 10⁻⁶ m³ s⁻¹). (a): em função de ϕ , sendo (D_{in}/D_{out}) = 1. (b): em função de (D_{in}/D_{out}), sendo $\phi = 0.05$.

A temperatura do ar de alimentação apresenta forte efeito na configuração ((D/L)_{opt}) do biorreator *hollow*. Mitchell et al. (1999) também observaram o efeito de T_{in} na otimização do biorreator de coluna convencional. Os autores relatam que T_{in} deve ser definida com cuidado, uma vez que esta deve ser suficientemente alta para proporcionar velocidades de crescimento razoáveis, principalmente na região de entrada do biorreator convencional, que é mantida próxima a T_{in}.

O efeito de T_{in} na geometria $(D/L)_{opt}$ do biorreator *hollow* é mais pronunciado em maiores frações de volume do duto interno (ϕ) (Figura 8 (a)). Para um biorreator com mesmo ϕ , o uso de temperaturas mais baixas estabelece configurações com maiores razões $(D/L)_{opt}$ para operar sob temperatura de 35 °C. O maior resfriamento proporcionado pela temperatura mais baixa é refletido no aumento diâmetro do biorreator e, portanto, em maiores razões (D/L)_{opt}.

A Figura 8 (b) mostra a otimização do biorreator *hollow* em função da razão (D_{in}/D_{out}). A figura confirma que o emprego de T_{in} mais baixas proporciona (D/L)_{opt} maiores, independentemente da razão (D_{in}/D_{out}).

4. Conclusão

O presente trabalho apresenta um novo tipo de biorreator para BES: o biorreator *hollow*. O projeto contempla a otimização geométrica do biorreator, que possibilita que o bioprocesso ocorra sob a temperatura de 35 °C, sem o uso de equipamento externo de resfriamento.

O biorreator *hollow* apresenta temperatura máxima mais baixa que a temperatura máxima observada em biorreator de coluna convencional de mesmas configurações e sob mesmas condições operacionais, demonstrando que o projeto é eficiente para resfriar o meio poroso.

A relação entre os diâmetros de entrada e de saída do duto interno (D_{in}/D_{out}) do biorreator *hollow* influencia a temperatura máxima observada durante o bioprocesso. Biorreatores com relação $(D_{in}/D_{out}) > 1$ exibem temperatura máxima menor que a temperatura máxima dos biorreatores com $(D_{in}/D_{out}) < 1$ (sob as mesmas condições operacionais e configurações do biorreator). Além disso, proporcionam melhor distribuição da velocidade do ar ao longo do biorreator, reduzindo, assim, as áreas menos favorecidas de aeração.

A configuração do biorreator *hollow* - ((D/L)_{opt}) - depende da fração de volume do duto interno (φ). Biorreatores com maiores frações de volume do duto interno apresentam menor capacidade útil e, consequentemente, menor geração de calor, o que se reflete em configurações do biorreator mais largas (maior razão (D/L)_{opt}) quando comparado aos biorreatores de menores frações de volume do duto interno.

A vazão de admissão de ar (Q) também afeta a configuração $(D/L)_{opt}$ do biorreator, exceto em biorreatores com pequenas frações de volume do duto interno ($\phi \le 0,04$), que têm configuração $(D/L)_{opt}$ quase independente da vazão de ar.

O emprego de temperaturas mais baixas do ar de alimentação (T_{in}) conduz a configurações do biorreator com razões maiores de $(D/L)_{opt}$, independentemente da fração de volume do duto interno e da relação (D_{in}/D_{out}) aplicada no biorreator.

CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES

Conclusões Gerais

A aplicação da modelagem matemática e simulação numérica no projeto de biorreatores de leito fixo mostrou-se apropriada, pois possibilita a análise de diferentes configurações de biorreator com apenas o uso de programas computacionais, diminuindo, assim, o tempo e o custo do projeto.

A otimização geométrica dos biorreatores de leito fixo através do princípio *Constructal* possibilitou projetos de reatores que, mesmo dispensando o equipamento externo de resfriamento, evitam o aquecimento excessivo do leito poroso durante o bioprocesso.

A otimização geométrica depende das condições operacionais, portanto foi apresentada em função da velocidade, da vazão e da temperatura do ar de alimentação.

O presente trabalho apresentou novos projetos de biorreatores para BES: o biorreator modular e o biorreator *hollow*.

O biorreator modular, composto de módulos elementares de geometria otimizada e forma hexaédrica com secção quadrada, apresenta a vantagem de ser facilmente adaptável a diferentes escalas de produção.

O biorreator *hollow*, que possui um duto interno oco inserido nele pelo qual é realizada a alimentação de ar, mostrou-se muito eficiente para o resfriamento do leito sólido. A análise da geometria do biorreator indicou que é mais adequado emprego do biorreator com configuração de duto $(D_{in}/D_{out}) \ge 1$, pois esta configuração exibe temperatura máxima menor quando comparada à temperatura máxima do biorreator com $(D_{in}/D_{out}) < 1$ (sob as mesmas condições); além de proporcionar melhor distribuição da velocidade do ar ao longo do biorreator, reduzindo, assim, as áreas menos favorecidas de aeração.

O presente trabalho mostrou, através de simulação computacional, a importância da geometria do biorreator para minimizar a resistência global ao fluxo de calor através do meio poroso. A geometria do biorreator deve ser considerada com a mesma importância que as condições operacionais nos projetos de construção de biorreatores, podendo beneficiar o desempenho do bioprocesso de várias maneiras.

Sugestões

- Obter dados experimentais sobre a concentração máxima de biomassa (X_{max}) e velocidade específica de crescimento do *Aspergillus niger* no substrato composto por casca (15%) e farelo (85%) de arroz.

- Realizar análise paramétrica do modelo matemático em função da permeabilidade do leito;

- Levantar os perfis de temperatura usando o modelo de crescimento em duas fases (Hamidi-Estephani, 2007) e comparar os resultados com o presente estudo;

 Verificar experimentalmente o limite máximo da velocidade do ar que não seja prejudicial para a produção de biomassa e/ou produção do metabólito (por ex.: amiloglicosidade).

- Estender a aplicação da Lei *Constructal* aos biorreatores utilizados para o cultivo de microalgas.

REFERÊNCIAS

ARAYA, M. M.; ARRIETA, J. J.; PÉREZ-CORREA, J. R.; BIEGLER, L. T.; JORQUERA, H. Fast and reliable calibration of solid substrate fermentation kinetic models using advanced non-linear programming techniques. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 48–60, 2007.

ASHLEY, V. M.; MITCHELL, D. A.; HOWES, T. Evaluating strategies for overcoming overheating problems during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 3, p. 141–150, 1999.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos:** pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

BEJAN, A. Constructal-theory network of conducting paths for cooling a heat generating volume. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 40, p. 799–816, 1997.

BEJAN, A. **Shape and structure, from engineering to nature**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

BEJAN, A.; LORENTE, S. The constructal law and the thermodynamics of flow systems with configuration. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 47, p. 3203–3214, 2004.

BEJAN, A. Convection heat transfer. 3rd ed., New York: John Wiley & Sons, 2004.

BEJAN, A. Constructal theory of design in engineering and nature. **Thermal Science**, v. 10, n. 1, p. 9–18, 2006.

BEJAN, A.; LORENTE, S. Constructal theory of generation of configuration in nature and engineering. **Journal of Applied Physics**, v.100, p. 041301-1–041301-27, 2006.

BEJAN, A.; LORENTE, S. Constructal tree-shaped flow structures. **Applied Thermal Engineering**, v. 27, p. 755–761, 2007.

BELLON-MAUREL, V.; ORLIAC, O.; CHRISTEN, P. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 881–896, 2003.

BISERNI, C.; ROCHA, L. A. O.; STANESCU, G.; LORENZINI, E. Constructal H-shaped cavities according to Bejan's theory. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 50, p. 2132–2138, 2007.

BONGOCHGETSAKUL, N.; ISHIDA, T. A new analytical approach to optimizing the design of large-scale composting systems. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1630–1641, 2008.

CARVALHO, J. C.; PANDEY, A.; OISHI, B. O.; BRAND, D.; RODRIGUEZ-LÉON, J. A.; SOCCOL, C. R. Relation between growth, respirometric analysis and biopigments production from *Monascus* by solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 29, p. 262–269, 2006.

CHEN, H. Z.; XU, J.; LI, Z.H. Temperature control at different bed depths in a novel solid-state fermentation system with two dynamic changes of air. **Biochemical Engineering. Journal**, v. 23, p. 117–122, 2005.

CHINN, M. S.; NOKES, S. E. Temperature control of a solid substrate cultivation deep bed reactor using an internal heat exchanger. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, v. 46, n. 6, p. 1741–1749, 2003.

COSTA, J. A. V.; ALEGRE, R. M.; HASAN, S. D. M. Packing density and thermal conductivity determination for rice bran solid-state fermentation. **Biotechnology Techniques**, v.12, n. 10, p. 747–750, 1998.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 22, p. 211–219, 2005.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to food industry - A review. **Journal of Food Engineering**, 76, n. 3, p. 291–302, 2006.

DALSENTER, F. D. H.; VICCINI, G.; BARGA, M. C.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. A mathematical model describing the effect of temperature variations on the kinetics of microbial growth in solid-state culture. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 801–807, 2005.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; PÉREZ-CORREA, J. R. Realistic model of a solid substrate fermentation packed-bed pilot bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 224–234, 2007.

GASIOREK, E. Effect of operating conditions on biomass growth during citric acid production by solid-state fermentation. **Chemical Papers**, v. 62, n. 2, p. 141–146, 2008.

GERVAIS, P.; MOLIN, P. The role of water in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 85–101, 2003.

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

HAMIDI-ESFAHANI, Z.; SHOJAOSADATI, S. A.; RINZEMA, A. Modelling of simultaneous effect of moisture and temperature on *A. niger* growth in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 21, p. 265–272, 2004.

HAMIDI-ESFAHANI, Z.; HEJAZI, P.; SHOJAOSADATI, S. A.; HOOGSCHAGEN, M.; VASHEGHANI-FARAHANI, E.; RINZEMA, A. A two-phase kinetic model for fungal growth in solid-state cultivation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 36, p. 100–107, 2007.

HASAN, S. D. M. Modelagem e simulação da transferência de calor em fermentação semi-sólida de farelo de arroz. Rio Grande: FURG, 1998.

HASAN, S. D. M.; COSTA, J. A. V.; SANZO, A. V. L. Heat transfer simulation of solid state fermentation in packed-bed bioreactor. **Biotechnology Techniques**, v. 12, n. 10, p. 787–791, 1998.

HÖLKER, U.; LENZ, J. Solid-state fermentation - are there any biotechnological advantages? **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, p. 301–306, 2005.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, p. 175–186, 2004.

VAN DE LAGEMAAT, J.; PYLE, D.L. Modelling the uptake and growth kinetics of *Penicillium glabrum* in a tannic acid-containing solid-state fermentation for tannase production. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1773–1782, 2005.

LAREO, C.; SPOSITO, A. F.; BOSSIO, A. L.; VOLPE, D. C. Characterization of growth and sporulation of *Mucor bacilliformis* in solid state fermentation on an inert support. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, p. 391–399, 2006.

LENZ J.; HÖFER, M.; KRASENBRINK. J. B.; HÖLKER, U. A survey of computational and physical methods applied to solid-state fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, p. 9–17, 2004.

LEUNG, P.; ISHII, K.; BENSON, J. Modularization of work tasks for global engineering. **Proceedings of IMECE2005**; ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition, Orlando, EUA, 2005.

LILEY, P. E.; THOMSON, G. H.; FRIEND, D. G.; DAUBERT, T. E.; BUCK, E. Physical and Chemical Data. In: PERRY, R. H.; GREEN, D. W.; MALONEY, J. O. (Eds.). **Perry's chemical engineers' handbook**. 7th ed., New York: MacGraw-Hill Companies Inc., 1999, pp. 188.

MALISKA, C. R. **Transferência de calor e mecânica dos fluidos computacional**. 2^a. ed., Rio de Janeiro: LTC, 2004.

MARTINS, V. G.; KALIL, S. J.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Solid state biosurfactant production in a fixed-bed column bioreactor. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v. 61, n. 9–10, p. 721–726, 2006.

MITCHELL, D. A.; PANDEY, A.; SANGSURASAK, P.; KRIEGER, N.; Scale-up strategies for packed-bed bioreactors for solid-state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 167–178, 1999.

MITCHELL, D. A.; VON MEIEN, O. F. Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of Zymotis packed-bed bioreactor for solid-state fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 68, n. 2, p.127–135, 2000.

MITCHELL, D. A.; VON MEIEN, O. F.; KRIEGER, N. Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2–3, p. 137–147, 2003.

MITCHELL, D. A.; VON MEIEN, O. F.; KRIEGER, N.; DALSENTER, F. D. H. A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 17, p. 15–26, 2004.

MITCHELL, D.; PARRA, R.; ALDRED, D.; MAGAN, N. Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 439–445, 2004b.

MONOD, J. The growth of bacterial cultures. **Annual Reviews of Microbiology**, v. 3, p. 371–394, 1949.

OOSTRA, J.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Model-based bioreactor selection for largescale solid-state cultivation of *Coniothyrium minitans* spores on oats. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, p. 652–663, 2000.

PANDEY A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 1153–1169, 2000.

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

PARRA, R.; ALDRED, D.; ARCHER, D. B.; MAGAN, N. Water activity, solute and temperature modify growth and spore production of wild type and genetically engineered *Aspergillus niger* strains. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 232–237, 2004.

PÉREZ-GUERRA, N.; TORRADO-AGRASAR, A.; LÓPEZ-MACIAS, C.; PASTRANA, L. Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 343–350, 2003.

RAGHAVARAO, K. S. M. S.; RANGANATHAN, T. V.; KARANTH, N. G. Some engineering aspects of solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 127–135, 2003.

RAHARDJO, Y. S. P.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 161–179, 2006.

RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 174–188, 1998.

REIS, A. H. Book Review. International Journal of Heat and Mass Transfer, v. 49, p. 445, 2006.

RICHARD, T. L.; VEEKEN, A. H. M.; DE WILDE, V.; HAMELERS, H. V. M. Air-filled porosity and permeability relationships during solid-state fermentation. **Biotechnology Progress**, 20, p. 1372–1381, 2004.

ROCHA, L. A. O.; LORENZINI, E.; BISERNI, C. Geometric optimization of shapes on the basis of Bejan's Constructal Theory. International Communications in Heat and Mass Transfer, v. 32, n. 10, p. 1281–1288, 2005.

ROCHA, L. A. O.; LORENTE, S.; BEJAN, A. Conduction tree networks with loops for cooling a heat generating volume. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 49, n. 15–16, p. 2626–2635, 2006.

ROUSSOS, S.; RAIMBAULT, M.; PREBOIS, J. P.; LONSANE, B. K. *Zymotis*, a large scale solid state fermenter. Design and evaluation. **Applied Biochemistry and Biotecnology**, v. 42, p. 37–52, 1993.

SAHIR, A. H.; KUMAR, S.; KUMAR, S. Modelling of a packed bed solid-state fermentation bioreactor using the N-tanks in serie approach. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, p. 20–28, 2007.

SANGSURASAK, P.; MITCHELL, D. A. The investigation of transient multidimensional heat transfer in solid state fermentation. **The Chemical Engineering. Journal**, v. 60, p. 199–204, 1995.

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

SANGSURASAK, P.; MITCHELL, D. A. Validation of a model describing twodimensional heat transfer during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 60, n. 6, p. 739-749, 1998.

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

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 205–218, 2003.

SMITS, J. P.; VAN SONSBEEK, H. M.; TRAMPER, J.; KNOL, W.; GEELHOED, W.; PEETERS, M.; RINZEMA, A. Modelling fungal solid-state fermentation: the role of inactivation kinetics. **Bioprocess Engineering**, v. 20, p. 391–404, 1999.

THANH, V. T.; VRANKEN, E.; BERCKMANS, D. Data-based mechanistic modelling of three-dimensional temperature distribution in ventilated rooms filled with biological material. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 422–432, 2008.

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

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, n. 4, p. 416–428, 2002.

VON MEIEN, O. F.; LUZ JR., L. F.L.; MITCHELL, D. A.; PÉREZ-CORREA, J. R.; AGOSIN, E.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; ARCAS, J. A. Control strategies for intermittently mixed, forcefully aerated solid-state fermentation bioreactors based on the analysis of a distributed parameter model. **Chemical Engineering Science**, v. 59, p. 4493–4504, 2004.

WANG, H.; DAI, W.; BEJAN, A. Optimal temperature distribution in a 3D triple-layered skin structure embedded with artery and vein vasculature and induced by electromagnetic radiation. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 50, p. 1843–1854, 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. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 65, n. 4, p. 447–458, 1999.

WEBER, F. J.; OOSTRA, J.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Validation of a model for process development and scale-up of packed-bed solid-state bioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 77, n. 4, p. 381–393, 2002.

APÊNDICES

```
APÊNDICE A: UDF
```

#include "udf.h"

real delta_H = 8.8636e+3;

```
enum
{
X
};
```

```
DEFINE_SOURCE(uds_source, c, t, dS, eqn)
                                                         {
                                                                                                            real source;
                                                                                                            real mi_m;
                                                                                                            real x_m;
                                                                                                            mi_m = (7.483e+7 exp(-70225./(8.314C_T(c,t))))/(1.+
(1.3e+47 *exp(-283356./(8.314*C_T(c,t))));
                                                                                                            x_m = (-127.08 + 7.95^*(C_T(c,t)-273.15) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-275.15) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.016) - 0.01
273.15), 2) - 0.00403*pow((C_T(c,t)-273.15), 3) +0.0000473*pow((C_T(c,t)-273.15),
4));
                                                                                                            source = 0.3*1.181*mi_m*C_UDSI(c, t, X)*(1. - (C_UDSI(c, t,
X)/x_m));
                                                                                                            dS[eqn] = 0.3*1.181*mi_m*(1. - (2.*C_UDSI(c, t, X)/x_m));
                                                                                                            return source;
                                                         }
                                                         DEFINE_SOURCE(energy_source, c, t, dS, eqn)
                                                         {
```
real source;

real mi_m;

real x_m;

real rho =713.273*0.7;

 $\label{eq:mi_m} mi_m = (7.483e+7 \ ^exp(-70225./(8.314 \ ^c_T(c,t))))/(1.+ \ (1.3e+47 \ ^exp(-283356./(8.314 \ ^c_T(c,t)))));$

 $\begin{aligned} x_m &= (-127.08 + 7.95^*(C_T(c,t)-273.15) - 0.016^*pow((C_T(c,t)-273.15), \\ 2) &= 0.00403^*pow((C_T(c,t)-273.15), 3) + 0.0000473^*pow((C_T(c,t)-273.15), 4)); \\ source &= 0.3^*rho^*delta_H^*10^*0.29^*(1.818181^*mi_m^*C_UDSI(c, t, X)^*(1. - 10^*)) \\ \end{aligned}$

(C_UDSI(c, t, X)/x_m)) + 5.5555e-9*C_UDSI(c, t, X));

dS[eqn] =0.3*rho*delta_H*10*0.29*(1.818181*mi_m*(1. - (2.*C_UDSI(c, t, X)/x_m)) + 5.5555e-9);

return source;

}

ANEXOS

Anexo 1 (A – 1): Artigo II conforme enviado para publicação.

A – 1: HEXAHEDRAL MODULAR BIOREACTOR FOR SOLID STATE BIOPROCESSES

Daniele Colembergue da Cunha^a, Jeferson Avila Souza^b, Luiz Alberto Oliveira Rocha^b and Jorge Alberto Vieira Costa^{a,*}

^a College of Chemical and Food, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, RS, Brazil. *Corresponding author. Tel.: +55-53-3233 8653, fax: +55-53-3233 8745. E-mail address: jorge@pq.cnpq.br

^b College of Engineering, Federal University of Rio Grande, Rio Grande, RS, Brazil.

Abstract

The design of a modular bioreactor for solid state fermentation is a promising development because it keeps the homogeneity of the bed at optimal levels. This study determines the optimum geometry of elementary modules of hexahedral bioreactors subjected to constant volume. The bioreactors have a square section and do not need an external cooling system, because the optimization limits the temperature of the bed to 35 °C. The geometric optimization followed the Constructal principle of minimum heat resistance. The numerical simulations take into account the following parameters: inlet air temperature and velocity, and module volume. Once the elementary module has been selected, the total volume of the bioreactor can be calculated.

Keywords: elementary module, Constructal, hexahedral bioreactor, numerical simulation.

Abbreviations

- C_p : specific heat, J kg⁻¹ °C⁻¹
- (D/L): ratio of width and length of the modules, dimensionless
- f: air capacity to absorb water, (kg water) (kg air) °C⁻¹
- K: permeability, m²
- k: thermal conductivity, w m⁻¹ °C⁻¹
- m: coefficient of cell maintenance, kg substrate (kg⁻¹ biomass) s⁻¹
- p: pressure, Pa

 R_{CO2} : rate of CO₂ formation, g (100 g dry matter)⁻¹ s⁻¹

- R_s: rate of substrate consumption, g (100 g dry matter)⁻¹ s⁻¹
- R_x: rate of microorganism growth, g (100 g dry matter)⁻¹ s⁻¹
- S: term energy source, W m⁻³
- t: time, s
- T: temperature, °C
- \vec{v} : velocity, m s⁻¹
- V: volume, I
- [CO₂]: concentration of CO₂, g (100 g dry matter)⁻¹
- [S]: concentration of substrate, g (100 g dry matter)⁻¹
- [X]: concentration of microorganism, g (100 g dry matter)⁻¹
- Y_{CO2}: yield of substrate-CO₂, kg CO₂ (kg substrate)⁻¹
- Y_{X/S}: yield of substrate-biomass, kg biomass (kg substrate)⁻¹

Greek letters

- ε: porosity of the bed, dimensionless
- Δ H: heat of reaction, J kg⁻¹
- µ: absolute viscosity, Pa s

 μ_{max} : specific maximum velocity of growth, s⁻¹

 λ : enthalpy of vaporization, J (kg water)⁻¹

ρ: density, kg m⁻³

 τ : stress tensor, kg m⁻¹ s⁻²

Subscripts

ef: effective

in: admission of air

opt: optimal

out: exit of air

s: solid

ss: dry solid

x, y, z: directions of vector velocity

Introduction

Solid state bioprocesses (SSB) involve the culture of microorganisms on moist solid substrates with no free water in the inter-particle spaces and with a continuous gas phase (Dalsenter et al. 2005; Mitchell et al. 2000; Raghavarao et al. 2003; Rahardjo et al. 2006). These processes can be used in the production of enzymes, pesticides, food stuffs, animal feed, among others (Smits et al. 1999; Soccol and Vandenberghe 2003). Solid state bioprocesses have numerous advantages over submersed bioprocesses, such as low cost and high productivity (Couto and Sanromán 2006). Despite its potential, few SSB that are studied in laboratories actually make the transition to full-scale production. This is because it is difficult to control the key variables (temperature and water activity) under optimal conditions for the growth and formation of the product in large bioreactors (Dalsenter et al. 2005). It is also difficult to keep these variables homogeneous in the bioreactor (Fernández-Fernández and Pérez-Correa 2007).

The modularity concept offers new perspectives on how to efficiently manage product development. It is a classical methodology of splitting a complex system into small portions (or subsystems), in order to simplify the operation and management. Subsystems that are sensitive to the conditions of supply and demand are good candidates to form a module because they enable rapid adaptation to product changes (Leung et al. 2005). A bioreactor subdivided into smaller suitable geometric modules could facilitate the control of the key variables of the bioprocess inside the bioreactor. Furthermore, through the geometric optimization of the modules it is possible to maintain the bed temperature below a certain limit, without cooling equipment. The possibility of using less equipment shows how geometric optimization can be used as a tool for the ecologically correct management of energy. The proposal of geometric optimization is based upon the constructal principle of minimum heat resistance, under constant volume restriction (Bejan and Lorente 2004). The hexahedral shape of the modules, a novelty in bioreactors, has the extra advantage of facilitating the assembling and storing of the set of modules.

This study proposes a modular hexahedral reactor for SSB, with optimized geometry for different operational conditions. The optimized geometry allows the bioreactor to operate without the need for an external cooling system. The admission air provides oxygen to the system and cools it down. In order to reduce the time and the cost of the project of new equipment, numeric simulation is used (Maliska 2004)

through a computer package to solve a mathematical model that represents the bioprocess.

Materials and methods

The proposed bioreactor works in bioprocesses that cultivate *Aspergillus niger* fungi in a substrate of a mixture of rice meal (85%) and husk (15%), under 50% moisture and initial inoculum concentration $[X_0]$ 4×10⁶ spores/g medium, in line with previously described cultivations (Hasan et al. 1998; Martins et al. 2006). The thermal properties of the solid are: thermal conductivity (k) 0.4139 w m⁻¹ °C⁻¹ and specific heat (C_p) of 2500 J kg⁻¹ °C⁻¹. The bed, through which saturated air flows, is characterized by permeability (K) equal to 10⁻⁸ m².

Mathematical model

The bioprocess was represented by a mathematical model which considers the conservation of mass, momentum and energy equations, shown in Eq. 1-3.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \left(\rho \vec{v} \right) = 0 \tag{1}$$

where ρ is the density of the air, t is time e \vec{v} is its velocity through the bed.

$$\frac{\partial (\rho \vec{v})}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \vec{v} \vec{v}) = -\nabla p + \nabla \cdot \left(\vec{\tau}\right) - \frac{\mu}{K} \vec{v}$$
(2)

p is pressure, $\bar{\tau}$, the stress tensor and ($\mu \vec{v} / K$), the term of force, which represents the difficulty of flowing of the fluid imposed by the porous medium (μ is the absolute viscosity of the fluid).

$$\frac{\partial(\epsilon\rho C_{p_{f}}T + (1-\epsilon)\rho_{s}C_{p_{s}}T)}{\partial t} + \nabla \cdot [(\vec{v}(\rho C_{p_{f}}T + p)] = k_{ef}\nabla^{2}T + S$$
(3)

where the subscripts f and s of the terms C_p refer to the fluid and solid, respectively, T is the temperature, k_{ef} is the weighted mean between the thermal conductivity of the solid and of the air, and S is the term of the energy source due to the heat generated by the metabolic activities of the microorganism.

In this mathematical model, the density (ρ) and moisture of the bed (M) were assumed to be constant, as it was in previously published work (Ashley et al. 1999; Mitchell et al. 1999; Mitchell et al. 2000; Sangsurasak et al. 1995; Sangsurasak et al. 1995b; Sangsurasak et al. 1998). The evaporation of the bed was considered negligible, since such hypothesis was experimentally confirmed in work of Hasan et al. (1998), in which the velocity of the incoming air (v_{in}) and temperature gradients were used in a similar fashion as they were in this work. However, both the removal of heat by convection and evaporation were taken into consideration in the conservation of energy equation (second term on the left side of Eq 3). For this reason, the factor λ f was added to the term C_{pf} , where f is the ability of air to absorb water and λ is the enthalpy of vaporization. This factor considers that the air remains saturated while flowing through the bed: the evaporation of water to maintain saturation gives the air more effective specific heat (Mitchell et al. 2003).

In Eq. 3, the heat generation is directly proportional to CO₂ formation and is defined in Eq. 4.

$$S = (1 - \varepsilon)\rho_{ss}(-\Delta H)R_{CO_2}$$
(4)

where ϵ is the porosity of bed, ρ_{ss} is the density of dry solid, (- Δ H), the formation heat of CO₂ and R_{CO2}, the rate of CO₂ formation.

R_{CO2} is defined as:

$$\mathsf{R}_{\mathsf{CO}_2} = \frac{\mathsf{d}[\mathsf{CO}_2]}{\mathsf{d}t} = \mathsf{Y}_{\mathsf{CO}_2}\mathsf{R}_{\mathsf{s}} \tag{5}$$

where Y_{CO2} is the yield of substrate-CO_2 and $R_s,$ the rate of substrate consumption.

 R_s is calculated through (Lareo et al. 2006; Saucedo-Castañeda et al. 1990):

$$R_{s} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}}R_{X} + m[X]$$
(6)

where $Y_{X/S}$ is the yield of substrate-biomass, R_x is the rate of microorganism growth, m is the cell maintenance coefficient and [X] is the cell concentration.

 R_x follows the logistic kinetic profile (Lareo et al. 2006; Mitchell et al. 2004; Saucedo-Castañeda et al. 1990):

$$R_{x} = \frac{d[X]}{dt} = \mu_{max} [X] \left(1 - \frac{[X]}{[X]_{max}} \right) \qquad \text{at } t = 0, [X] = [X_{0}]$$
(7)

where μ_{max} , the maximum specific velocity growth and $[X]_{max}$, the maximum cell concentration. These variables were experimentally confirmed for the *Aspergillus niger* in moist cassava meal (Saucedo-Castañeda et al. 1990), according to Eq. 8 and 9, respectively.

$$\mu_{\text{max}} = \frac{2.694 \times 10^{11} e^{(-70225/8.314(T+273))}}{1+1.3 \times 10^{47} e^{(-283356/8.314(T+273))}}$$
(8)

$$[X]_{max} = 0.0000473 T^{4} - 0.00403 T^{3} - 0.016 T^{2} + 7.95 T - 127.08$$
(9)

Computer simulation and geometric optimization

The mathematical model previously presented was applied in a bioreactor made up of hexahedral modules with insulated walls and front and rear openings, through which the air flows, as shown in Fig. 1. The linking of the elementary modules, corresponding to the desired output, will make up the modular reactor.



Fig. 1 Schematics of the modular reactor

The boundary and initial conditions for the computer domain shown in Fig. 1 are: in x = 0, 0 < y < D, 0 < z < D and t > 0 T=T_{in}, v_x = v_{in}, v_y = 0, v_z = 0 (10) x = L, 0 < y < D, 0 < z < D and t > 0 $\frac{\partial T}{\partial x} = 0, \frac{\partial v_x}{\partial x} = 0, v_y = v_z = 0$ (11) y = D and y = 0, 0 ≤ x ≤ L, 0 ≤ z ≤ D and t > 0 $\frac{\partial T}{\partial y} = 0, \frac{\partial v_y}{\partial y} = 0, v_x = v_z = 0$ (12) z = D and z = 0, 0 ≤ x ≤ L, 0 ≤ z ≤ D and t > 0 $\frac{\partial T}{\partial z} = 0, \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0, v_x = v_y = 0$ (13)

at t = 0, 0 < x < L, 0 < y < D, 0 < z < D T =
$$T_{in}$$
, $v_x = v_y = v_z = 0$, [X] = [X₀],
[CO₂] = 0, [S] = [S₀] (14)

With the help of computer programs Gambit (see 2.3.16 - ANSYS, Inc. - U.S.) for discretization of the domain and grid generation, and Fluent (v. 6.3.26 -

ANSYS, Inc. - U.S.A.) for the numerical three-dimensional solving of the mathematical model, computer simulations were carried out.

In previous work, the present researchers showed that the solutions are independent of the grid and the step of time, and that the numerical methodology was validated through the proper adjustment of numerical results with experimental data.

Simulations were carried out by varying the ratio between the width and length (D/L) of the reactor for certain velocities (v_{in}) and temperatures of the inlet air (Tin), assuming a constant volume of the reactor (V). For each simulation, the temperature profile of the reactor was calculated and maximum temperature recorded. The optimum geometry of the reactor was considered one where the maximum temperature was equal to 35 °C without the use of any external cooling system. This temperature is considered optimum for growth of *Aspergillus* fungus (Mitchell et al. 2004b; Parra et al. 2004).

The simulations were carried out for air inlet velocity between 0.002 and 0.006 m s⁻¹. This parameter is important to the process, since the inlet air provides oxygen to the system, but also affects the temperature and moisture of the bed. Very low velocities may result in insufficient oxygenation in the bed, and high velocities could compromise the production and/or stability of the desired metabolite. The range of velocity of the inlet air defined in this study was previously used successfully for the same type of substrate (Hasan et al. 1998; Martins et al. 2006).

Results and Discussion

Figure 2 shows the profiles of temperature at various times of the bioprocess for a module of 0.52 l, ratio (D/L) 0.72, velocity of the inlet air (v_{in}) 0003 m s⁻¹ and temperature of the inlet air (T_{in}) 29.0 °C.



Fig. 2 Temperature profiles of a 0.52 I module, (D/L) = 0.72, v_{in} = 0.003 m s⁻¹ and T_{in} = 29.0 °C in 12 h (a), 24 h (b), 37 h (c) and 60 h (d) of bioprocess.

At the beginning of the bioprocess, as Fig. 2(a) shows, the temperature of the reactor is uniform, since the heat generation is low. That is because the microorganism is in the "lag" growth phase. Next, the organism enters the exponential phase of growth, which increases the heat generation. The temperature of the reactor increases as shown in Fig. 2 (b). Fig. 2 (c) presents a profile of temperature in which the peak temperature is observed. After that moment, the temperature of the reactor decreases, since the heat generation decreases due to the entrance of the microorganism in the stationary phase of growth and the admission of air cools the reactor, as shown in Fig. 2 (d).

The influence of the velocity of the inlet air on the maximum temperature of the reactor is shown in Fig. 3. The maximum temperature of the reactor decreases, both with the increase of the velocity the inlet air and with the increase in ratio between the width and length of the reactor (D/L). The increase in these parameters causes the

increase of flow of air and, consequently, the best cooling of the bed. Our research group found such behavior is also observed in a column bioreactor.



Fig. 3 Association between maximum reactor temperature and ratio (D/L) for different air inlet velocities ($T_{in} = 29.0$ °C)

If the production process is suitable for small modules (V = 0.52 I), Fig. 3 makes it possible, from the air inlet velocity, to define which ratio (D/L) should be used.

The optimal configuration $(D/L)_{opt}$ of the bioreactor, the one in which the maximum temperature is 35 °C, is shown in Fig. 4, which depends on the velocity (v_{in}) and temperature of the inlet air (T_{in}) . The geometric optimization is also presented for other reactors with different volumes in Fig. 4 (b - f).



Fig. 4 Optimum ratio (D/L) according to different air inlet temperatures for a 0.52 I (a), 1.0 I (b), 1.5 I (c), 2.5 I (d), 4 I (e) and 5 I (f) module.

Figure 4 shows the difficulty in scaling-up for the modular reactor for solid state bioprocesses. Smaller volumes allow the use of lower velocities of inlet air and

lower ratios (D/L), and consequently lower volumetric flow. Higher volumes, on the other hand, as well as demanding greater volumetric flow to maintain the temperature limit of 35 ° C, also need lower temperatures of inlet air. There is a limit, however, for the use of low temperatures of inlet air, because low temperatures keep part of the reactor under the same condition, which is not favorable for the microorganism's development (Mitchell et al. 1999; Raghavarao et al. 2003).

The results shown in Fig. 4 allow the selection of an elementary module, with excellent geometry $((D/L)_{opt})$ depending on the parameters: inlet air temperature, air velocity and volume of modules. Once the basic module has been selected, a combination of basic modules can be used to obtain the total volume of the reactor to be used.

Figure 4 (f) shows that the maximum possible volume of a hexahedral module without external cooling is 5 I. The maximum acceptable air velocity inside the module ($V_{max} = 0006 \text{ m s-1}$) restricts the increase of scale. A higher velocity limit would allow the use of higher volumetric flow, which in turn would be able to cool larger bioreactors.

For the module of maximum volume (5 I) to operate under 35 $^{\circ}$ C it needs an air flow with a velocity above 0.0045 m s⁻¹ and maximum temperature of 29.0 $^{\circ}$ C.

Conclusions

This work has proposed a modular reactor for solid state bioprocesses, which has no external cooling system. The modules, with a hexahedral geometry and square section, are adaptable to different production scales and easy to assemble. The results show the optimum configuration of the reactor, (D/L)_{opt} as a function of the

parameters of the inlet air temperature, air velocity and volume of modules. Once the basic module is selected, a combination of elementary modules can be used to obtain the total volume of the reactor to be employed.

The maximum volume of a hexahedral module without external cooling is 5 I, which means an air flow velocity above 0.0045 m s^{-1} and temperature of 29.0 °C or below are necessary.

References

Ashley V M, Mitchell D A, Howes T (1999) Evaluating strategies for overcoming overheating problems during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. Biochem Eng J 3: 141-150

Bejan A, Lorente S (2004) The constructal law and the thermodynamics of flow systems with configuration. Int J Heat Mass Transfer 47: 3203-3214

Couto S R, Sanromán M A (2006) Application of solid-state fermentation to food industry - A review. J. Food Eng 76(3): 291-302

Dalsenter F D H, Viccini G, Barga M C et al (2005) A mathematical model describing the effect of temperature variations on the kinetics of microbial growth in solid-state culture. Process Biochem 40: 801-807

Fernández-Fernández M, Pérez-Correa J R (2007) Realistic model of a solid substrate fermentation packed-bed pilot bioreactor. Process Biochem 42: 224-234

Hasan S D M, Costa J A V, Sanzo A V L (1998) Heat transfer simulation of solid state fermentation in packed-bed bioreactor. Biotechnol Tech 12: 787-791

Lareo C, Sposito A F, Bossio A L et al (2006) Characterization of growth and sporulation of *Mucor bacilliformis* in solid state fermentation on an inert support. Enzyme Microb Technol 38: 391-399

Leung P, Ishii K, Benson J (2005) Modularization of work tasks for global engineering. ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition, Orlando, EUA, ISBN 0-79183769

Maliska C R (2004) Transferência de Calor e Mecânica dos Fluidos Computacional. LTC, Rio de Janeiro

Martins V G, Kalil S J, Bertolin T E et al (2006) Solid state biosurfactant production in a fixed-bed column bioreactor. Z Naturforsch, C J Biosci 61(9-10): 721-726

Mitchell D A, Pandey A, Sangsurasak P et al (1999) Scale-up strategies for packedbed bioreactors for solid-state fermentation. Process Biochem 35:167-178

Mitchell D A, von Meien O F (2000) Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of Zymotis packed-bed bioreactor for solid-state fermentation. Biotechnol Bioeng 68(2): 127-135

Mitchell D A, von Meien O F, Krieger N (2003) Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. Biochem Eng J 13(2-3): 137-147

Mitchell D A, von Meien O F, Krieger N et al (2004) A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. Biochem Eng J 17: 15-26

Mitchell D, Parra R, Aldred D et al (2004b) Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. J Appl Microb 97: 439-445

Parra R, Aldred D, Archer D B et al (2004) Water activity, solute and temperature modify growth and spore production of wild type and genetically engineered *Aspergillus niger* strains. Enzyme Microb Technol 35: 232-237

Raghavarao K S M S, Ranganathan T V, Karanth N G (2003) Some engineering aspects of solid-state fermentation. Biochem Eng J 13: 127-135

Rahardjo Y S P, Tramper J, Rinzema A (2006) Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives. Biotechnol Adv 24: 161–179

Sangsurasak P, Mitchell D A (1995) The investigation of transient multidimensional heat transfer in solid state fermentation. Chem Eng J 60: 199-204

Sangsurasak P, Mitchell D A (1995b) Incorporation of death kinetics into a 2dimensional dynamic heat transfer model for solid state fermentation. J Chem Technol Biotechnol 64: 253-260 Sangsurasak P, Mitchell D A (1998) Validation of a model describing two-dimensional heat transfer during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. Biotechnol Bioeng 60(6): 739-749

Saucedo-Castañeda G, Gutiérrez-Rojas M, Bacquet G et al (1990) Heat transfer simulation in solid substrate fermentation. Biotechnol Bioeng 35: 802-808

Smits J P, van Sonsbeek H M, Tramper J et al (1999) Modelling fungal solid-state fermentation: the role of inactivation kinetics. Bioprocess Eng 20: 391-404

Soccol C R, Vandenberghe L P S (2003) Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. Biochem Eng J 13: 205-218