Modelagem, Análise Estatística e Simulação Computacional da Cinética de Produção de Biobutanol através de Fermentação ABE

Felipe Ramalho Moura

Orientadores

Prof. Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo

Prof. José Luiz de Medeiros

Março de 2018

Felipe Ramalho Moura

MODELAGEM, ANÁLISE ESTATÍSTICA E SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOBUTANOL ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO ABE

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores

Prof. Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo

Prof. José Luiz de Medeiros

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Março de 2018

MODELAGEM, ANÁLISE ESTATÍSTICA E SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOBUTANOL ATRAVÉS DE FERMENTAÇÃO ABE

Felipe Ramalho Moura

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovado por:

_____
Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo, Ph.D.

_____
Melissa Limoeiro Estrada Gutarra, D.Sc.

_____
Paulo Luiz de Andrade Coutinho, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Março de 2018

Moura, Felipe Ramalho

Modelagem, Análise Estatística e Simulação Computacional da Cinética de Produção de Biobutanol através de Fermentação ABE.

xvi, 100 p.; il.

(Dissertação) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2018. Orientadores: Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo e José Luiz de Medeiros.

1. Biobutanol. 2. Fermentação ABE. 3. Modelagem e Simulação de Processos. 4. Estimação de Parâmetros. 5. Tese (Dissertação – UFRJ/EQ). 6. Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo e José Luiz de Medeiros. I. Modelagem, Análise Estatística e Simulação Computacional da Cinética de Produção de Biobutanol através de Fermentação ABE.

“No meio da dificuldade, encontra-se a oportunidade. ”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Lúcia, Patrícia e Graça, mãe, irmã e segunda mãe, por me proporcionarem uma fundação tão sólida de educação e caráter que modelaram a pessoa que sou hoje.

À Bianca, minha noiva e eterna namorada, por ter me apoiado irrestritamente, estando ao meu lado nos bons momentos e nos mais difíceis.

Aos meus melhores amigos de infância, Serafim, Trindade, Rodrigo, Diego, Marília e Juan por terem estado comigo desde a época de colégio até hoje, compartilhando vitórias e sucessos ao longo desse tempo.

Aos meus orientadores, Prof. Ofélia e Prof. José Luiz, por toda a paciência e compartilhamento de conhecimento, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e de meu crescimento profissional.

Aos meus companheiros, colegas e amigos do ISI Biossintéticos por terem sempre acreditado em mim e no meu potencial para me superar e realizar sempre excelentes trabalhos. Em especial, fica aqui um agradecimento imenso ao Ariel, por todas as horas dispendidas para me ajudar, seja para quebrar a cabeça com os meus códigos, para implementar as equações em Aspen ou para jogar conversa fora para distrair a cabeça. Seu nome também faz parte deste trabalho.

Felipe Ramalho Moura

RESUMO

MOURA, Felipe Ramalho. **Modelagem, Análise Estatística e Simulação Computacional da Cinética de Produção de Biobutanol através da Fermentação ABE.** Orientadores: Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo e José Luiz de Medeiros. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ/EPQB, 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos)

O biobutanol vem ganhando destaque desde a década de 1990 em virtude das discussões acerca da diminuição da dependência de matéria-prima fóssil e redução de emissão de gases de efeito estufa. Contudo, devido a baixas produtividades e inibição microbiana pelo próprio produto gerado, a rota fermentativa ainda se apresenta inviável economicamente frente à rota petroquímica. Neste contexto, procedimentos de engenharia de processos, com recursos de modelagem e simulação, possibilitam otimização de condições operacionais visando viabilização econômica do processo fermentativo. Este trabalho avalia modelo cinético apropriado para descrever o processo de produção de biobutanol, com 17 parâmetros, obtendo-se versão reduzida visando diminuição do esforço experimental futuro na etapa de regressão desses parâmetros. Nesse sentido, o modelo foi avaliado, identificando-se 8 parâmetros insignificantes estatisticamente através do teste F de Fisher. Na sequência, foi proposta a utilização de modelos alternativos da função de inibição microbiana e a diminuição do número de respostas preditas pelo modelo, realizando-se uma análise de sensibilidade a variáveis de entrada, avaliando-se o erro de predição das saídas de interesse frente aos resultados preditos pelo modelo original. O baixo erro de predição do modelo de 9 parâmetros proposto corroborou o resultado da análise estatística e confirmou sua capacidade de predição frente a variações da concentração inicial de substrato na corrente de alimentação do biorreator. Este modelo com 9 parâmetros, por fim, foi implementado em ambiente Aspen Plus, que, por problemas estruturais em seu código, não foi capaz de representar a cinética por não ser capaz de manipular de forma correta a concentração de sólidos na corrente de processo. O suporte técnico do *software* foi contatado e foi confirmado o problema, culminando no futuro conserto em novas versões do programa.

ABSTRACT

MOURA, Felipe Ramalho. **Modeling, Statistical Analysis and Computational Simulation of Biobutanol Production Kinetics by ABE Fermentation.** Advisers: Ofélia de Queiroz Fernandes Araújo and José Luiz de Medeiros. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ/EPQB, 2018. Thesis (Master of Science in Chemical and Biochemical Process Engineering).

Biobutanol has been gaining prominence since the 1990s because of discussions about the decline in dependence on fossil fuels and reduction of greenhouse gas emissions. However, due to low productivities and microbial inhibition by the product itself, the fermentative route is still economically unfeasible when compared to the petrochemical route. In this context, process engineering procedures, with modeling and simulation capabilities, enable optimization of operational conditions aiming at economic feasibility of the fermentation process. This work evaluates the kinetic model appropriate to describe the biobutanol production process, with 17 parameters, obtaining a reduced version aiming to decrease the future experimental effort in the step of regression of these parameters. In this sense, the model was evaluated, identifying 8 insignificant parameters statistically through Fisher's F test. In the sequence, it was proposed the use of alternative models of the microbial inhibition function and the reduction of the number of responses predicted by the model, being carried out a sensitivity analysis to input variables, evaluating the error of prediction of the variables from the process compared to the results predicted by the original model. The low prediction error of the proposed 9-parameter model corroborated the results of the statistical analysis and confirmed its predictive capacity against variations of the initial substrate concentration in the feed stream of the bioreactor. This model with 9 parameters, finally, was implemented in Aspen Plus environment, which, due to structural problems in its code, was not able to represent the kinetics because it was not able to correctly handle the concentration of solids in the process stream. The technical support of the software was contacted and the problem was confirmed, culminating in the future repair of new versions of the program.

ÍNDICE

1. Introdução 1

2. Revisão Bibliográfica 3

2.1. n-Butanol: Produto e Mercado 3

2.2. Processo de Produção: Rota Petroquímica 4

2.3. Processo de Produção: Fermentação ABE 5

2.4. Modelagem de Processos Bioquímicos 12

2.4.1. Modelagem de Crescimento Microbiano 15

2.4.2. Modelagem de Consumo de Substrato 16

2.4.3. Modelagem de Geração de Produtos 18

2.5. Modelagem Matemática da Fermentação ABE 19

3. Modelagem e Validação da Fermentação ABE Contínua com Retenção Celular 24

3.1. Descrição do Modelo 24

3.2. Metodologia 29

3.2.1. Estimação dos Parâmetros 29

3.2.2. Análise Estatística dos Parâmetros Estimados 32

3.3. Resultados e Discussões 37

4. Análise de Sensibilidade de Variáveis de Entrada 54

4.1. Metodologia 54

4.2. Resultados e Discussões 58

5. Simulação da Fermentação ABE em Aspen Plus® 65

5.1. Metodologia 65

5.2. Resultados e Discussões 70

6. Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros 74

7. Referências Bibliográficas 76

Apêndice A – Modelo de Fermentação ABE com 9 parâmetros 82

Apêndice B – Matrizes de Variância-Covariância dos modelos analisados 84

Apêndice C – Configuração da Cinética em Aspen Plus 94

Apêndice D – Transcrição do Suporte da AspenTech 96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físicas de butanol e outros combustíveis. Fonte: BHARATHIRAJA et al, 2017 4
Tabela 2 - Performance da fermentação ABE de diferentes estudos....10
Tabela 3 - Desafios e possíveis soluções para a fermentação ABE (adaptado de GREEN, 2011) 11
Tabela 4 - Técnicas de recuperação de butanol do mosto fermentativo (adaptado de GOTTUMUKKALA et al, 2017)....13
Tabela 5 - Valores típicos de μ_{max} e K_S para diversos micro-organismos em condições ótimas de temperatura (Fonte: LIU, 2016) 16
Tabela 6 - Modelos cinéticos de crescimento microbiano (Fonte: SCHMIDELL et al, 2001) 17
Tabela 7 - Diferentes funções de inibição para a fermentação ABE utilizadas na literatura 22
Tabela 8 - Resultado da estimação dos parâmetros 38
Tabela 9 - Intervalo de confiança dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade....42
Tabela 10 - Resultado do teste de significância dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade....47
Tabela 11 - Resultado da estimação do Modelo Alternativo com 9 parâmetros 48
Tabela 12 - Intervalos de confiança do Modelo Alternativo com 9 parâmetros, com 95% de probabilidade....48
Tabela 13 – Resultado do teste de significância dos parâmetros estimados para Modelo Alternativo com 9 parâmetros, insignificantes com 95% de probabilidade ...53
Tabela 14 - Perturbações realizadas para comparação dos modelos....55
Tabela 15 - Resumo dos modelos considerados para comparação e coeficientes de correlação....59
Tabela 16 - Tabela de componentes utilizados para a simulação do reator ABE 66
Tabela 17 - Grupos de modelos termodinâmicos referenciados na árvore de decisão do pacote de propriedades termodinâmicas 68
Tabela 18 - Especificação do bloco RCSTR 68
Tabela 19 - Reações estequiométricas da fermentação ABE (Fonte: VAN DER MERWE, 2010) 69

Tabela 20 - Resultado da simulação com as taxas customizadas implementadas ... 72
Tabela 21 - Resultados da simulação removendo o termo de concentração de biomassa dos termos customizados. 73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aplicações globais de n-butanol em 2010 (adaptado de DE GUZMAN, 2011) 3
Figura 2 - Fluxograma de blocos do processo OXO (adaptado de BILLIG, 2000 e BILLIG e BRYANT, 2000) 6
Figura 3 - Rota metabólica de bactérias do gênero *Clostridium sp* (adaptado de TASHIRO et al, 2010). 8
Figura 4 - Classificação de modelos fenomenológicos para a cinética microbiana (adaptado de LIU, 2016) 14
Figura 5 - Esquema de diferentes modelos matemáticos para a fermentação ABE (adaptado de MAYANK et al, 2012) 20
Figura 6 - Otimização da função objetivo para estimação dos parâmetros 39
Figura 7 - Perfil de concentração de biomassa 39
Figura 8 - Perfis de concentração de substrato e ácido butírico 40
Figura 9 - Perfil de concentração de ácido acético 40
Figura 10 - Perfis de concentração de acetona, butanol e etanol 41
Figura 11 - Intervalo de confiança dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade. 41
Figura 12 - Perfil estimado de concentração de biomassa com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 43
Figura 13 - Perfil estimado de concentração de substrato com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 43
Figura 14 - Perfil estimado de concentração de ácido acético com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 44
Figura 15 - Perfil estimado de concentração de ácido butírico com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 44
Figura 16 – Perfil estimado de concentração de acetona com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 45
Figura 17 - Perfil estimado de concentração de butanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 45
Figura 18 - Perfil estimado de concentração de etanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade 46

Figura 19 - Intervalos de confiança dos parâmetros estimados do Modelo Alternativo com 9 parâmetros com 95% de probabilidade 49
Figura 20 - Perfil estimado de concentração de biomassa com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros 49
Figura 21 - Perfil estimado de concentração de substrato com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros 50
Figura 22 - Perfil estimado de concentração de ácido acético com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros...50
Figura 23 - Perfil estimado de concentração de ácido butírico com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros...51
Figura 24 - Perfil estimado de concentração de acetona com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros 51
Figura 25 - Perfil estimado de concentração de butanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros 52
Figura 26 - Perfil estimado de concentração de etanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros 52
Figura 27 - Representação das perturbações realizadas para comparação dos modelos.....55
Figura 28 - Variação do termo dependente de ácido acético ao longo do tempo. AA = Concentração de ácido acético em g/L. 57
Figura 29 - Variação do termo dependente de ácido butírico ao longo do tempo. BA = Concentração de ácido butírico em g/L. 57
Figura 30 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0.....59
Figura 31 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso +1/0.....60
Figura 32 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso -1/0.....60
Figura 33 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0/+1.....61
Figura 34 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0/-1.....61
Figura 35 - Previsão do perfil de ácido butírico e substrato do modelo com 13 parâmetros (Caso 0/+1). BA = Acido Butírico, S = Substrato. 62
Figura 36 - Previsão do perfil de ácido acético do modelo com 13 parâmetros (Caso 0/+1). AA = Ácido Acético. 62
Figura 37 - Comparação entre os tempos de processamento dos diferentes modelos 63
Figura 38 - Fluxograma da simulação da fermentação ABE 65

Figura 39 - Árvore de decisão para a escolha do pacote de propriedades termodinâmicas (adaptado de CARLSON, 1996) 67
Figura 40 - Perfil de concentração de biomassa do biorreator simulado 70
Figura 41 - Perfil de concentração de ácido butírico e substrato do biorreator simulado 71
Figura 42 - Perfil de concentração de ácido acético do biorreator simulado 71
Figura 43 - Perfil de concentração de acetona, butanol e etanol do biorreator simulado 71
Figura 44 - Matriz de variância-covariância dos parâmetros estimados 84
Figura 45 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de biomassa 85
Figura 46 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de substrato 85
Figura 47 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido acético 86
Figura 48 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido butírico 86
Figura 49 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de acetona 87
Figura 50 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de butanol 87
Figura 51 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de etanol 88
Figura 52 - Matriz de variância-covariância dos parâmetros estimados do modelo de 9 parâmetros 89
Figura 53 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de biomassa (modelo de 9 parâmetros) 90
Figura 54 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de substrato (modelo de 9 parâmetros) 90
Figura 55 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido acético (modelo de 9 parâmetros) 91
Figura 56 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido butírico (modelo de 9 parâmetros) 91
Figura 57 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de acetona (modelo de 9 parâmetros) 92
Figura 58 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de butanol (modelo de 9 parâmetros) 92
Figura 59 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de etanol (modelo de 9 parâmetros) 93
Figura 60 - *Inputs* do bloco RCSTR 94
Figura 61 - *Inputs* das reações estequiométricas 94

Figura 62 - *Input* da taxa de reação para ser representada pela taxa customizada..95
Figura 63 - Input dos parâmetros, declaração de variáveis e das equações customizadas 95

LISTA DE SÍMBOLOS

μ_{max}	Taxa de crescimento celular máxima (h^{-1})
K_S	Constante de afinidade com substrato (g/L)
X	Concentração de biomassa (g/L)
S	Concentração de substrato (g/L)
AA	Concentração de ácido acético (g/L)
BA	Concentração de ácido butírico (g/L)
A	Concentração de acetona (g/L)
B	Concentração de butanol (g/L)
E	Concentração de etanol (g/L)
$Y_{X/S}$	Rendimento de geração de células em relação a substrato (g/g)
$Y_{AA/S}$	Rendimento de produção de ácido acético em relação a substrato (g/g)
$Y_{BA/S}$	Rendimento de produção de ácido butírico em relação a substrato (g/g)
$Y_{A/S}$	Rendimento de produção de acetona em relação a substrato (g/g)
$Y_{B/S}$	Rendimento de produção de butanol em relação a substrato (g/g)
$Y_{E/S}$	Rendimento de produção de etanol em relação a substrato (g/g)
m	Coeficiente de manutenção energética (g/g.h)
D	Taxa de diluição (h^{-1})
β	Vetor de parâmetros do modelo matemático
W_n	Matriz jacobiana da resposta n
NR	Número de respostas do sistema
NP	Número total de parâmetros do modelo
NE	Número total de experimentos do sistema

1. INTRODUÇÃO

Discussões sobre a diminuição da dependência de produtos químicos provenientes de matéria-prima fóssil, proteção ambiental e diminuição da emissão de gases de efeito estufa aumentaram nas últimas duas décadas. Isto fez com que pesquisas relacionadas a tecnologias sustentáveis de produção de produtos químicos aumentasse consideravelmente (LEVASSEUR et al, 2017). Além do desenvolvimento tecnológico, estudos de viabilidade técnico-econômicas são de extrema importância para a avaliação e identificação de oportunidades de desenvolvimento de processos fermentativos, de forma que se tornem economicamente competitivos em relação às rotas petroquímicas.

O n-butanol, também conhecido como biobutanol quando produzido através de rota fermentativa, é um álcool amplamente utilizado na produção de acrilatos e acetatos e utilizado, principalmente, como solvente na indústria química (DE GUZMAN, 2011). Suas propriedades físico-químicas superiores ao do etanol o torna potencial candidato a biocombustível (BHARATHIRAJA et al., 2017).

A fermentação ABE (acetona-butanol-etanol), rota de produção biotecnológica de butanol, foi sua principal forma de produção na década de 1950 (NDABA; CHIYANZU; MARX, 2015). Com o desenvolvimento da rota petroquímica, que utiliza matérias-primas mais baratas e possui consumos de utilidades bastante inferiores, a rota fermentativa se tornou economicamente inviável. Extensos esforços vêm sendo realizados para que esta rota se torne economicamente competitiva novamente, que vão desde estudos de manipulação metabólica (JIANG et al, 2009) a ensaios de remoção *in situ* (EZEJI et al, 2004 e CHEN et al, 2014) e, por isso, estudos de viabilidade técnico-econômica são de suma importância para a identificação de oportunidades de investimento e metas de desenvolvimento.

Estudos de viabilidade técnico-econômica de processos químicos e bioquímicos são realizados com o auxílio de modelagem matemática para simulação rigorosa de seus balanços de massa e energia, principalmente quando estes dados em larga escala ainda não estão disponíveis. Estas simulações são realizadas com o auxílio de simuladores de processo, sendo o Aspen Plus® um dos mais utilizados do mercado. Estes simuladores, entretanto, foram projetados com maior foco em processos petroquímicos, sendo limitados, portanto, na representação de bioprocessos.

A modelagem matemática da cinética de processos fermentativos é um ponto de dificuldade devido à sua baixa reprodutibilidade, característica inerente ao metabolismo dos micro-organismos (GOLDRICK et al, 2014). Em especial, a fermentação ABE possui diversos fatores a serem considerados em sua modelagem, como a inibição de crescimento por butanol e a transformação de metabólitos intermediários nos produtos finais, e, por isso, sua representação matemática se torna objeto de bastante estudo.

Desta forma, este trabalho tem o objetivo de identificar os principais modelos matemáticos da cinética da fermentação ABE existentes na literatura, selecionando e avaliando o mais adequado para descrever o comportamento das principais respostas do processo (e.g., MULCHANDANI e VOLESKY, 1986; SHINTO et al, 2007; BUEHLER e MESBAH, 2016). Visando a utilização do modelo selecionado em simulador Aspen Plus para futura avaliação de etapas a jusantes à fermentação e de aplicação em estratégias de controle, o trabalho aborda a estratégia de redução de estados (respostas preditas pelo modelo) e de parâmetros envolvidos.

Com esse objetivo, a dissertação está estruturada em seis capítulos. O Capítulo 1 introduz e contextualiza o presente estudo. O Capítulo 2 apresenta uma revisão da literatura referente ao produto de interesse, o biobutanol, sua rota de produção fermentativa e as estratégias de modelagem matemática do processo de fermentação ABE. O Capítulo 3 faz uso da revisão bibliográfica para a escolha de um modelo adequado para implementação em Aspen Plus, utilizando dados fermentativos provenientes da literatura para a estimação dos parâmetros do modelo e realizando uma análise estatística para avaliar o intervalo de confiança e significância dos parâmetros estimados. O Capítulo 4 propõe novas estruturas para o modelo selecionado, e realiza uma análise de sensibilidade às condições de entrada para avaliar sua capacidade de predição e tempo de processamento frente ao modelo original. O Capítulo 5 apresenta a implementação do modelo estudado em ambiente Aspen Plus. Por fim, o Capítulo 6 mostra as conclusões deste estudo e sugestões para trabalhos futuros.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. N-BUTANOL: PRODUTO E MERCADO

O n-butanol é um álcool de 4 carbonos de cadeia linear e saturada usado majoritariamente para a fabricação de acetatos e acrilatos. O mercado mundial de n-butanol é avaliado em mais de USD 6 bilhões e com mercados de seus derivados avaliados em mais de USD 40 bilhões, que incluem, além dos acetatos e acrilatos, éteres glicólicos e ésteres butílicos. Estes derivados são utilizados, principalmente, em cosméticos, shampoos, detergentes, sabões e para aprimorar fragrâncias e perfumes (DE GUZMAN, 2011).

A Figura 1 mostra a demanda por aplicações de butanol em 2010.

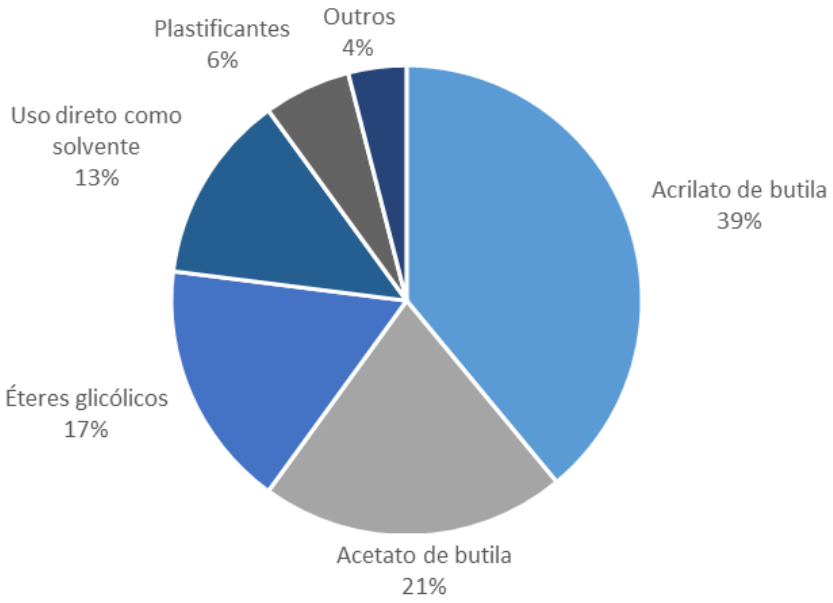


Figura 1 - Aplicações globais de n-butanol em 2010 (adaptado de DE GUZMAN, 2011)

Como um biocombustível, o n-butanol aumenta a tolerância a contaminação por água, é capaz de ser utilizado em misturas de combustíveis sem alterações aos motores atuais de veículos e possui alta densidade energética (TRINDADE e SANTOS, 2017). Como aditivo, o butanol quando misturado a outro combustível e utilizado em motores de combustão interna, gera apenas dióxido de carbono, fazendo com que seja um biocombustível mais amigável ambientalmente (BHARATHIRAJA et al., 2017). Em relação ao etanol, possui propriedades superiores como valores mais altos de capacidade calorifica, menor pressão de vapor, menos volátil e menos

corrosivo (BHARATHIRAJA et al., 2017). A Tabela 1 compara propriedades típicas do butanol em relação aos combustíveis tradicionais.

Tabela 1 - Propriedades físicas de butanol e outros combustíveis. Fonte: BHARATHIRAJA et al, 2017

Propriedades	Gasolina	Etanol	Butanol
Ponto de fusão (°C)	-57,1 a -56,6	-114	-89,3
Ponto de ebulição (°C)	27-221	78	117-118
Peso específico	0,713	0,79	0,811
Viscosidade (10^{-3} Pa.s)	0,24-0,32	1,078	2,593
Pressão crítica (bar)	-	63	45
Temperatura crítica (°C)	241	239,85	287
Densidade a 20 °C (g/mL)	0,7-0,8	0,79	0,81
Solubilidade em água	Imiscível	Miscível	Imiscível
Pressão de vapor (kPa a 20 °C)	7,0-7,8	5,95	0,5
Temperatura de ignição (°C)	422,7	276-456	35-37
Temperatura de auto-ignição (°C)	246-280	422	343-345
Ponto de fulgor (°C)	13	12,77	25-29
Limite inferior de explosividade (%)	1,4	3,3	1,4
Limite superior de explosividade (%)	7,6	19	11,3
Densidade energética (MJ/L)	32	19,6	27-29,2
Capacidade calorífica em condições padrão (kJ/(kmol.K)	160-300	112,3	178
Número de octano MON	81-89	90	85
Número de octano RON	91-99	109	98

2.2. PROCESSO DE PRODUÇÃO: ROTA PETROQUÍMICA

O butanol produzido, entre os anos 1910 e 1950, era proveniente majoritariamente como subproduto da produção da acetona, que era produzida a partir de melaços através da fermentação e possuía grande demanda para a produção de explosivos para as primeira e segunda guerras mundiais. A partir dos anos 50, entretanto, a grande variabilidade do processo fermentativo e o aumento do preço dos

melaços aliados à diminuição dos preços do petróleo alavancaram o processo de produção petroquímica de butanol (NDABA; CHIYANZU; MARX, 2015).

A rota petroquímica de produção de butanol é conhecida como processo OXO ou síntese OXO e é realizada em duas etapas. A primeira consiste na hidroformilação de propeno com gás de síntese para a produção de n-butiraldeído, que é posteriormente hidrogenado para formar n-butanol na segunda etapa (HAHN et al., 2000).

Na primeira etapa, propeno e gás de síntese são reagidos na presença de catalisadores de ródio ou cobalto para formar uma mistura isomérica entre n-butiraldeído e iso-butiraldeído. O processo com catalisador de ródio solúvel em água chega a razões entre os respectivos aldeídos de 20:1, com a separação sendo realizada através de destilação. Condições de operação chegam a 90 °C e 1,4 MPa (BILLIG, 2000). Já na segunda etapa, o n-butiraldeído obtido é hidrogenado em presença de catalisador de cobalto a n-butanol (BILLIG e BRYANT, 2000).

A Figura 2 mostra um fluxograma de blocos do processo OXO.

2.3. PROCESSO DE PRODUÇÃO: FERMENTAÇÃO ABE

A fermentação ABE tem a denominação devida à produção simultânea dos compostos acetona, butanol e etanol por bactérias do gênero *Clostridium*. Este processo foi utilizado em larga escala no início do século XX devido à grande demanda de acetona para a fabricação de cordite, que era utilizado como alternativa à pólvora, na Primeira Guerra Mundial (NDABA, CHIYANZU e MARX, 2015). Nesta época, foi realizado o primeiro registro de patente deste processo, pelo inglês Charles Weizmann (WEIZMANN, 1919).

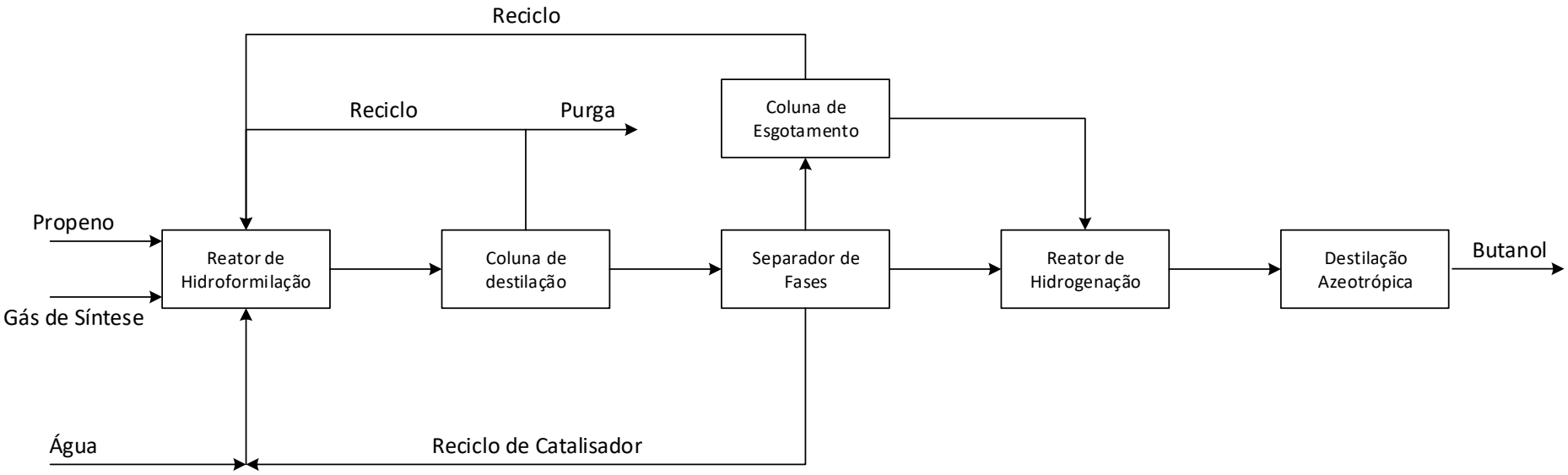


Figura 2 - Fluxograma de blocos do processo OXO (adaptado de BILLIG, 2000 e BILLIG e BRYANT, 2000)

~~A~~ partir dos anos 1950 a rota petroquímica diminuiu custos com matéria-prima e consumo de utilidades. Isto fez com que a rota fermentativa se tornasse inviável economicamente, resultando em que até os anos 80 já não houvesse mais unidade industrial que utilizasse esta rota (NDABA, CHIYANZU e MARX, 2015). Desde os anos 2000, o apelo para a sustentabilidade, diminuição da dependência da produção de químicos a partir do petróleo e utilização de matéria-prima renovável para produção de compostos químicos e biocombustíveis aumentou consideravelmente. Com isto, o interesse na fermentação ABE foi renovado e diversos estudos e pesquisas vem sendo realizados visando a viabilização e aumento da competitividade econômica desta rota frente à rota de produção petroquímica (TAO et al, 2014).

A fermentação ABE é realizada por bactérias do gênero *Clostridium,* células gram-positivas, formadoras de esporos e, tipicamente, estritamente anaeróbicas. Estas bactérias são capazes de utilizar uma larga gama de monossacarídeos como fonte de carbono, incluindo a maioria de pentoses e hexoses (LEE et al., 2008). As espécies mais utilizadas para este processo são *C. acetobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. saccharobutylicum* e *C. saccharoperbutylacetonicum* (TASHIRO e SONOMOTO, 2010).

O metabolismo destas bactérias pode ser dividido em duas fases distintas: a fase acidogênica, caracterizada pela formação de ácidos e consequente diminuição do pH, e a fase solventogênica, na qual acetona, butanol e etanol são produzidos. Durante a fase acidogênica, os ácidos acético e butírico são via coenzimas acetil-CoA e butiril-CoA, respectivamente. Quando o pH diminui, a fase solventogênica se inicia com a reassimilação e redução destes ácidos a acetona e butanol, com a produção simultânea de etanol. Além dos ácidos, o micro-organismo também gera gases hidrogênio e dióxido de carbono. Esta etapa ocorre durante sua fase estacionária de crescimento e a produção de butanol não é considerada associada ao crescimento celular (TASHIRO e SONOMOTO, 2010). A Figura 3 ilustra a rota metabólica das espécies *Clostridium.*

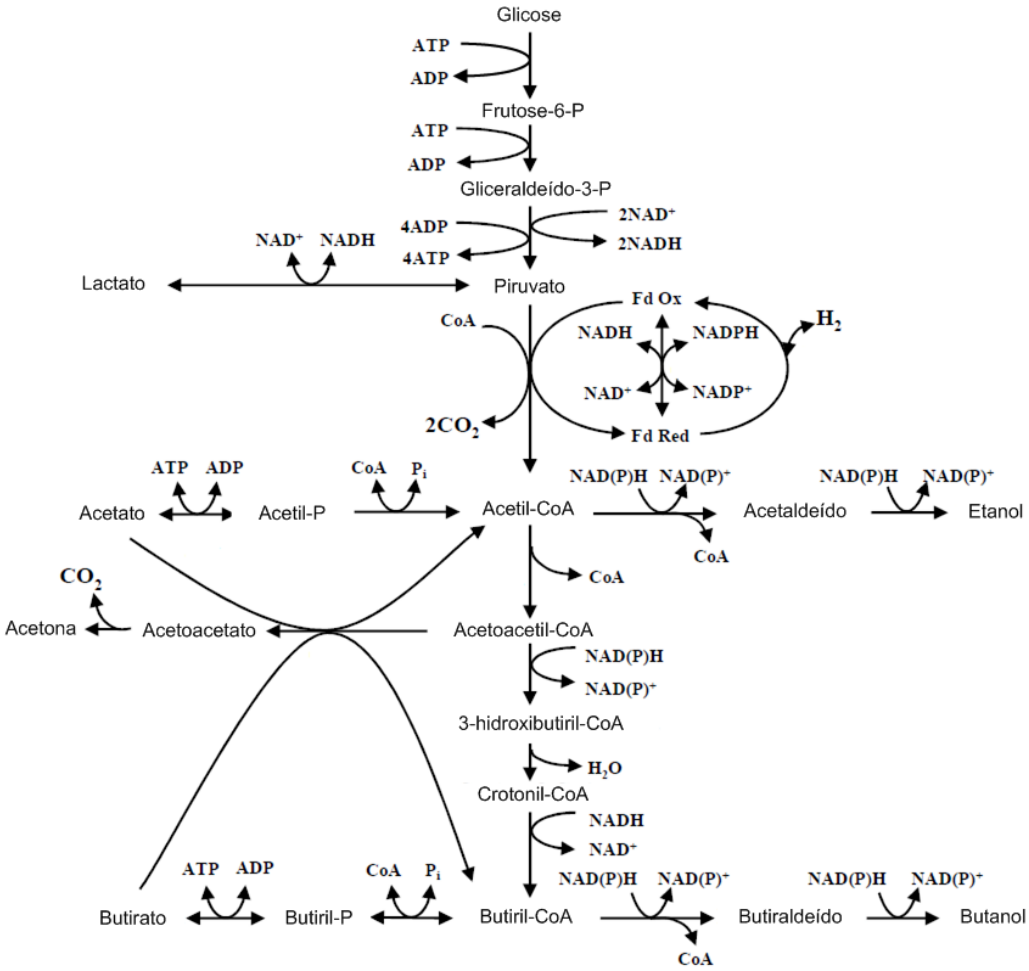


Figura 3 - Rota metabólica de bactérias do gênero *Clostridium sp* (adaptado de TASHIRO et al, 2010).

Tradicionalmente, o processo fermentativo ABE em escala industrial é realizado em batelada e sofre com baixas produtividades e inibições por substrato e pelo próprio butanol produzido (SAUER, 2016). Alternativas para conduzir o processo incluem os modos de operação em batelada alimentada e contínuo. Reatores em batelada são os mais simples e convencionais, embora sofram com desvantagens devido a longas fases de adaptação, tempo de preparação (como alimentação, descarregamento, limpeza e esterilização) e inibição por produto e substrato. No caso da fermentação ABE, o ácido butírico é conhecido por inibir o crescimento celular, mas, ao mesmo tempo, sua presença no mosto fermentativo é necessária para induzir a troca da fase acidogênica para a fase solventogênica do metabolismo do micro-organismo. No caso de inibição por substrato, o modo de batelada alimentada vem como solução para minimizá-la (BHARATHIRAJA et al., 2017).

As desvantagens dos biorreatores em batelada, como o alto tempo de preparação e grandes fases *lag*, podem ser contornadas pelos reatores contínuos. Estes reatores têm como principal característica a alimentação contínua da fonte de carbono e uma retirada contínua de produto e células, com o objetivo de manter o interior do biorreator com concentrações constantes tanto de biomassa, quanto de substrato e produto. As células removidas junto com a corrente de produto são separadas, normalmente por decantação, filtração, centrifugação ou uma combinação destas. Estas células podem ser reutilizadas ou então descartadas total ou parcialmente dependendo da técnica empregada. Biorreatores contínuos de menores tamanhos são especialmente eficientes por serem capazes de manter boa mistura em seu interior. Esta característica pode fazer com que o processo se torne mais flexível para os produtores, já que parâmetros como tempo de residência e taxa de diluição podem ser facilmente ajustados. No entanto, em particular para a fermentação ABE, o estabelecimento de um estado estacionário é um grande desafio operacional, devido a problemas como a manutenção das condições estritamente anaeróbicas e a degradação celular após longos tempos de operação, que culmina na diminuição de rendimentos e produtividades (BHARATHIRAJA et al., 2017).

Em escala industrial, o modo de operação contínua é reportado como principal modo utilizado em unidades na Rússia e na China, na década de 1980. Zverlov et al (2006) afirma que na Rússia, apesar de ser dito contínuo, o processo era realizado em baterias de até oito fermentadores em batelada em série, com volumes úteis de 225 a 275 m^3 cada. Esta configuração, apesar de não ser verdadeiramente contínua, permitiu a preparação contínua do substrato e a destilação contínua para recuperação e purificação dos produtos (ZVERLOV et al., 2006). Já Ni e Sun (2009) afirmam que unidades de produção chinesas utilizaram baterias de biorreatores de 200 a 500 m^3 de volume útil com alimentação e retirada contínua de material, se caracterizando como um processo verdadeiramente contínuo. Uma integração com os tanques de inóculo garantem que as células no interior do biorreator sempre estejam viáveis. Isto fez com que o processo fosse operado de forma estável por até 480 h sem esterilização ou limpezas (NI e SUN, 2009).

A Tabela 2 mostra a performance de principais estudos da fermentação ABE.

Tabela 2 - Performance da fermentação ABE de diferentes estudos

Modo	Tempo (h)	Concentração (g/L)		Produtividade (g/(L.h))		Rendimento (g/g)		Referência
		Butanol	ABE	Butanol	ABE	Butanol	ABE	
Batelada	47	12,8	18,9	0,28	0,40	0,24	0,35	Raganati et al, 2015
Batelada	175	12,0	18,5	0,07	0,11	0,21	0,31	Raganati et al, 2015
Batelada	174	12,0	18,0	0,07	0,11	0,19	0,30	Raganati et al, 2015
Batelada	172	12,4	17,3	0,07	0,10	0,24	0,34	Raganati et al, 2015
Batelada	120	9,1	11,0	0,08	0,09	0,15	0,19	Shao e Chen, 2015
Batelada	144	9,1	11,0	0,08	0,09	0,15	0,19	Shao e Chen, 2015
Batelada	144	9,1	11,0	0,08	0,07	0,15	0,20	Shao e Chen, 2015
Batelada	54	20,8	30,8	0,43	0,66	0,22	0,33	Jiang et al, 2014[1]
Batelada	74	15,0	26,5	0,25	0,42	0,21	0,36	Jiang et al, 2014[1]
Batelada	74	18,5	28,5	0,26	0,40	0,20	0,31	Jiang et al, 2014[1]
Batelada	64	11,7	19,4	0,18	0,30	0,21	0,35	Wu et al, 2013[2]
Batelada	96	25,7	37,0	0,29	0,39	-	-	Lépiz-Aguilar et al, 2013[3]
Batelada	108	12,9	17,3	0,12	0,16	0,24	0,32	Lehmann et al, 2012
Batelada	96	6,5	9,3	0,07	0,10	0,10	0,15	Lehmann et al, 2012
Batelada	96	11,9	20,8	0,12	0,22	0,20	0,35	Lehmann et al, 2012
Batelada	38	10,5	14,9	0,28	0,39	0,17	0,24	Li et al, 2011a
Batelada	38	11,0	14,5	0,37	0,52	0,23	0,32	Li et al, 2011b
Batelada	72	12,8	19,2	0,18	0,27	0,19	0,29	Qureshi et al, 2001
Batelada alimentada	80	13,3	21,1	0,17	0,26	0,19	0,30	Ventura et al, 2013
Batelada alimentada	96	12,4	20,5	0,13	0,21	0,15	0,25	Lehmann et al, 2012
Contínuo	50	9,5	14,6	0,38	0,58	0,16	0,24	Setlhaku et al. 2012
Contínuo	200	12,0	19,5	0,92	1,47	0,20	0,33	Setlhaku et al. 2012
Contínuo	504	6,46	9,32	0,19	0,28	-	-	Ezeji et al, 2007
Contínuo	228 (60)	1,31 (5,89)	1,82 (8,98)	0,03 (0,18)	0,05 (0,27)	-	-	Ezeji et al, 2007[2,*]

Estudos realizados com *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824, exceto onde especificado:
[1] *C. acetobutylicum* JB200
[2] *C. acetobutylicum* L7
[3] *C. beijerinckii* BA101
* O experimento conduzido por 228 h teve os máximos de concentrações de solvente no tempo de 60 h. Os valores entre parênteses mostram os parâmetros neste tempo.

Muitos desafios relacionados à produção de biobutanol ainda persistem necessitando de desenvolvimento tecnológico. A toxicidade dos metabólitos produzidos pelo micro-organismo se configura como o principal fator para a inviabilidade do processo, já que as concentrações finais de butanol não passam de 20 g/L (NDABA, CHIYANZU e MARX, 2015). Além disso, Yang e Tsao (1994) mostraram através de um planejamento de experimentos que não só o butanol, mas também os ácidos acéticos e butíricos inibem o crescimento da *Clostridium*, apesar de autores como Rochón et al (2017) desconsiderarem esta inibição dos ácidos em modelagens matemáticas. Visando contornar tais limitações, soluções alternativas variam desde a adaptação metabólica e engenharia genética das cepas produtoras de butanol para melhorar sua tolerância aos compostos inibitórios até o desenvolvimento tecnológico das operações de separação e purificação do álcool com o objetivo de diminuir os custos operacionais de energia (XUE et al., 2017). Green (2011) resume os principais desafios referentes à fermentação ABE e suas possíveis soluções, mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Desafios e possíveis soluções para a fermentação ABE (adaptado de GREEN, 2011)

Desafio	Possíveis soluções
Alto custo de matéria-prima que podem aumentar significativamente os custos operacionais.	Utilização de matérias-primas mais baratas e sustentáveis como resíduos agroindustriais.
Baixas concentrações de butanol que aumentam custos de recuperação e utilização de água	Desenvolvimento de micro-organismos geneticamente modificados com maiores produtividades e tolerância a butanol e desenvolvimento de métodos para recuperação *in situ* para aliviar a inibição microbiana.
Baixas rendimentos de produção de butanol que aumentam o custo com matéria-prima	Desenvolvimento de micro-organismos com altos rendimentos de butanol e/ou altas razões de butanol em relação aos outros compostos produzidos.
Baixas produtividades volumétricas que podem aumentar custos de capital e operacionais	Desenvolvimento de processos de fermentação ABE contínuos que podem diminuir o tempo de residência e aumentar, assim, a produtividade volumétrica.
A recuperação dos solventes utilizando destilação convencional é intensiva em energia e possui alto custo.	Desenvolvimento de novos métodos visando a diminuição de energia necessária para a recuperação e purificação dos produtos.
Alta utilização de água faz com que o processo não seja sustentável e aumenta o custo com tratamento de efluente	Recirculação de água para a etapa fermentativa

A biologia sintética procura alterar características fenotípicas do micro-organismo que tenham impacto diretamente em parâmetros de performance e operação do processo fermentativo. A título de exemplo, estudos como o de Jiang et al (2009) procuraram diminuir os efeitos dos genes produtores de acetona da *Clostridium acetobutylicum* para aumentar a concentração final e a produtividade de butanol. O estudo resultou em um aumento de rendimento de butanol de 57% para 70,8%.

Já os desenvolvimentos tecnológicos para a recuperação de butanol do mosto fermentativo são realizados com dois principais objetivos: diminuir o custo operacional com energia, que se torna bastante impactante devido a baixas concentrações de butanol no mosto fermentativo (até 20 g/L de solventes totais) e remover butanol do mosto enquanto a fermentação ocorre, que representa uma oportunidade de diminuir a inibição do micro-organismo e, consequentemente, aumentar sua produtividade. As vantagens e desvantagens das principais técnicas de remoção simultânea de butanol do mosto fermentativo foram mapeadas por Gottumukkala et al (2017) e são apresentadas na Tabela 4

2.4. MODELAGEM DE PROCESSOS BIOQUÍMICOS

A modelagem de processos químicos e bioquímicos visa a representação por meio de equações matemáticas dos fenômenos que ocorrem em suas operações unitárias. Esta representação matemática é de extrema importância para a prática da engenharia de processos, sendo fundamental para a predição de estados estacionários da unidade produtiva, determinação dos balanços de massa e energia do processo, dimensionamento de equipamentos, análises de sensibilidade e controle dinâmico da unidade (REHM e REED, 1996).

Tabela 4 - Técnicas de recuperação de butanol do mosto fermentativo (adaptado de GOTTUMUKKALA et al, 2017)

Técnica de recuperação	Descrição da técnica	Variáveis do processo	Vantagens	Desvantagens
Gas stripping	Solventes do meio fermentativos são arrastados por nitrogênio ou pelos gases de fermentação e condensados a temperaturas menores que 10 °C.	Temperatura de *stripping*, temperatura de condensação, taxa de recirculação do gás, tamanho de bolhas e quantidade de antiespumante	Não há *fouling*, facilidade de operação, não é tóxico ao micro-organismo	Baixa seletividade ao butanol e baixa eficiência
Fermentação a *flash*	O meio fermentativo é circulado a um tanque flash, no qual os produtos são recuperados a baixa pressão e posteriormente condensados.	Pressão do tanque de *flash*, vazão de permeado, concentração do produto.	Fermentação ocorre a pressão ambiente e não há dano ao micro-organismo	Baixa seletividade e custos associados ao tanque de *flash*
Fermentação à vácuo (contínua ou intermitente)	Fermentação é conduzida sob vácuo contínuo e intermitente para remoção dos vapores dos produtos.	Pressão no biorreator, concentração de produto, tipo de vácuo	Não necessita de um vaso adicional para condicionar o mosto a baixas pressões	Necessita de alto consumo de energia
Adsorção	O meio fermentativo passa por um leito de resina adsorvente para remoção seletiva dos produtos.	Tipo de adsorvente, coeficientes de adsorção e dessorção dos produtos	Adsorventes podem ser regenerados e reutilizados	Requer alta concentração de solventes para uma adsorção eficiente.
Extração líquido-líquido	Uma fase extrativa com alto coeficiente de partição com os produtos é mantida em contato com o mosto para realizar a separação.	Razão de mosto/extrativo, seletividade da fase extrativa, toxicidade da fase extrativa para a fermentação	Simples operação e alta seletividade.	Perda de extrativo devido a formação de emulsões e toxicidade ao micro-organismo.
Extração por membranas	Baseada na extração líquido-líquido, uma membrana atua como interface entre o mosto fermentativo e a fase orgânica.	Seletividade da fase extrativa, seletividade da membrana, eficiência da transferência de massa	Por causa da separação física entre as fases aquosa e orgânica, há a diminuição de toxicidade ao micro-organismo	Limitação de transferência de massa, *fouling* da membrana com células
Pervaporação	Um módulo de membrana permanece em contato com o mosto fermentativo enquanto é aplicado vácuo no lado permeado.	Seletividade da membrana, área superficial da membrana, pressão parcial dos componentes	Altos fluxos e baixos custos com condensação.	Alto custo de instalações, seletividade limitada e *fouling* da membrana.

Softwares comerciais de simulação de processos são utilizados para cálculos de balanço de massa e energia de uma planta química. Eles dispõem de modelos matemáticos de operações unitárias e pacotes termodinâmicos em suas bibliotecas para a representação do processo. Dentre os principais simuladores comerciais têm-se Pro II, Super Pro Designer, Aspen HYSYS e Aspen Plus. Os dois últimos conquistaram usuários devido ao extenso banco de dados de parâmetros de componentes puros, coeficientes de interação binária e modelos rigorosos para cálculo de reatores, colunas de destilação, entre outros. Entretanto, não há neles, hoje, modelos implementados de cinética fermentativa.

Os modelos para representação da cinética microbiana podem ser estruturados ou não-estruturados; segregados ou não segregados (BAILEY, 1998). Um modelo completamente estruturado é aquele que é capaz de dividir a biomassa em seus diversos componentes e representar as variações causadas por seu metabolismo e fisiologia. Já o modelo segregado de uma cultura considera as células como unidades discretas (LIU, 2016). Os modelos estruturados e segregados podem ser os mais realistas, mas também são os mais computacionalmente complexos. As simplificações nos modelos tendem a deixá-los não-estruturados e não-segregados, entretanto, dependendo do sistema, podem representá-lo com precisão sem demandar considerável esforço computacional. A Figura 4 resume a diferença entre os tipos de modelos existentes.

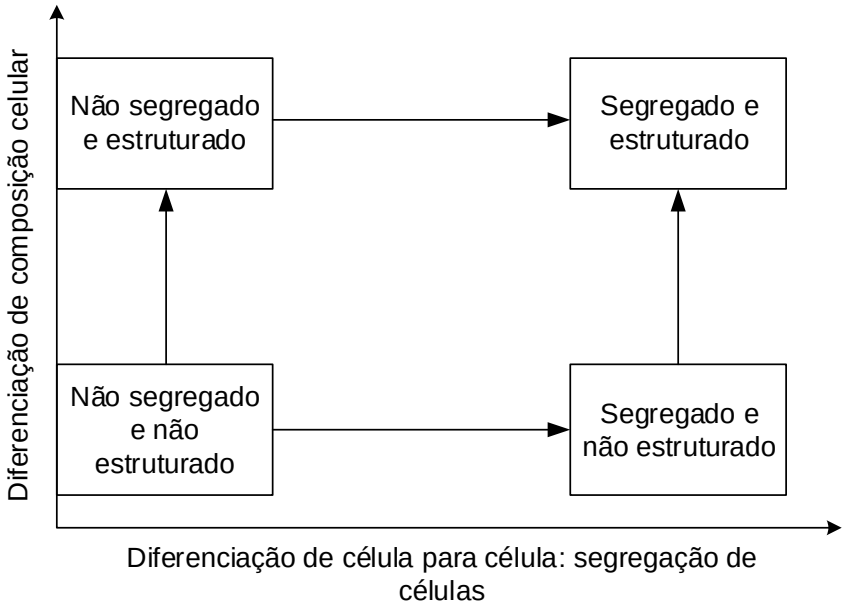


Figura 4 - Classificação de modelos fenomenológicos para a cinética microbiana (adaptado de LIU, 2016)

2.4.1. MODELAGEM DE CRESCIMENTO MICROBIANO

A forma mais utilizada para representar a evolução da concentração microbiana de uma cultura é através do modelo de Malthus, que pressupõe que a taxa de crescimento da concentração microbiana em um determinado instante é proporcional à sua concentração na cultura naquele instante (LIU, 2016):

$$r_X = \frac{dX}{dt} = \mu X \tag{1}$$

onde X é a concentração microbiana e μ é a taxa específica de crescimento. Uma das primeiras propostas para representação matemática da taxa específica de crescimento microbiano, se tornando base para a maioria dos modelos subsequentes, foi realizada pelo francês Jacques Monod. Este modelo é preciso sob a hipótese de que apenas um substrato é o limitante e que não há qualquer tipo de inibição ao crescimento do micro-organismo (MONOD, 1949). A equação, em sua forma mais simples, é escrita como:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \tag{2}$$

onde μ_{max} é a taxa específica máxima de crescimento e K_S é chamada de constante de afinidade com o substrato (LIU, 2016). Esta constante representa a concentração de substrato para a qual a taxa específica de crescimento é a metade da taxa máxima do micro-organismo (VILLADSEN, NIELSEN e LIDÉN, 2011). A Tabela 5 mostra valores típicos de μ_{max} e K_S para diferentes micro-organismos.

Logicamente, nem toda cinética de crescimento microbiano pode ser representando unicamente pela Equação (2). Os crescimentos podem possuir perfis ligeiramente diferentes pelo proposto por Monod e podem sofrer inibição, por exemplo, por componentes presentes no meio de cultura, pelos metabólitos produzidos pelas células, pelo substrato e pela própria concentração celular (SCHMIDELL et al., 2001). A Tabela 6 apresenta a estrutura de diferentes modelos propostos.

Tabela 5 - Valores típicos de μ_{max} e K_S para diversos micro-organismos em condições ótimas de temperatura (Fonte: LIU, 2016)

Micro-organismo	Substrato limitante	μ_{max} (h^{-1})	K_S (mg/L)
Escherichia coli (37 °C)	Glicose	0,8-1,4	2-4
Escherichia coli (37 °C)	Glicerol	0,84	2
Escherichia coli (37 °C)	Lactose	0,8	20
Saccharomyces cerevisiae (30 °C)	Glicose	0,5-0,6	25
Candida tropicalis (30 °C)	Glicose	0,5	25-75
Candida sp.	Oxigênio	0,5	0,045-0,45
Klebsiella aerogenes	Glicose	0,85	9
Aerobacter aerogenes	Glicose	1,22	1-10

2.4.2. MODELAGEM DE CONSUMO DE SUBSTRATO

A modelagem de consumo de substrato é normalmente realizada com a introdução do conceito do coeficiente de rendimento de célula em função do substrato ($Y_{X/S}$), definido como:

$$Y_{X/S} = \frac{r_X}{-r_S} \tag{3}$$

Dessa forma, a taxa de consumo de substrato pode ser escrita inserindo a Equação (1) na Equação (3) e rearranjando:

$$r_S = -\frac{1}{Y_{X/S}}\mu X \tag{4}$$

A Equação (4) é a forma mais simples de representar a taxa de consumo de substrato. No entanto, a principal suposição que deve ser realizada para utilizá-la é que toda a fonte de carbono é utilizada exclusivamente para a produção de metabólitos ou biomassa. Esta suposição pode não ser a mais verossímil já que a fonte de carbono pode ser utilizada não só para a geração de biomassa como para a manutenção celular e geração de produtos e subprodutos (LIU, 2016).

Tabela 6 - Modelos cinéticos de crescimento microbiano (Fonte: SCHMIDELL et al, 2001)

Modelo	Hipótese	Equação
Monod	Crescimento em um único substrato limitante	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S}$
Moser	Crescimento em um único substrato limitante	$\mu = \mu_{max} \frac{S^n}{K_S^n + S^n}$
Contois	Crescimento em um único substrato limitante	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S X + S}$
Andrews	Crescimento em um único substrato limitante e inibidor	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}}$
Wu	Crescimento em um único substrato limitante e inibidor	$\mu = \mu_a \frac{1}{\frac{K_S}{S} + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n}$
Dunn	Crescimento com múltiplos substratos limitantes (uso preferencial de S_1)	$\mu = \mu_{max,1} \frac{S_1}{K_{S,1} + S_1} + \mu_{max,2} \frac{S_2}{K_{S,2} + S_2 + \frac{S_1^2}{K_i}}$
Megee	Crescimento com múltiplos substratos limitantes (uso preferencial de S_1 e S_2)	$\mu = \mu_{max} \frac{S_1 S_2}{(K_{S,1} + S_1)(K_{S,2} + S_2)}$
Tsao e Hanson	Crescimento com múltiplos substratos limitantes (uso preferencial de S_1 e S_2)	$\mu = \left(\mu_0 + \mu_1 \frac{S_1}{K_{S,1} + S_1} + \mu_2 \frac{S_2}{K_{S,2} + S_2}\right)\left(\frac{S_3}{K_{S,3} + S_3}\right)$

onde μ_{max} é a taxa de crescimento celular, K_S é a constante de afinidade com o substrato, K_i é a constante de inibição, μ_a, μ_0, μ_1 e μ_2 são constantes de ajuste do modelo e S é a concentração de substrato em g/L.

Visando a melhor representação do consumo de substrato, Pirt (1975) introduziu o termo de manutenção celular *m*:

$$-r_S = \left(\frac{1}{Y_{X/S}}\mu + m\right)X \tag{5}$$

2.4.3. MODELAGEM DE GERAÇÃO DE PRODUTOS

Com relação à geração de produtos, a classificação mais utilizada para processos fermentativos foi originalmente idealizada por Kono e Asai (KONO; ASAI, 1969 *apud* SCHMIDELL, 2001), que os dividem em três diferentes tipos:

1) Processos em que a formação de produto está associada apenas ao crescimento celular, com taxa de produção dada pela Equação (6).

$$r_P = \frac{dP}{dt} = \alpha\frac{dX}{dt} \tag{6}$$

2) Processos não associados ao crescimento celular, ou seja, associados apenas à concentração microbiana, com taxa de produção conforme Equação (7).

$$r_P = \frac{dP}{dt} = \beta X \tag{7}$$

3) Processos associados tanto ao crescimento celular quanto à concentração celular da cultura. A modelagem deste tipo de processo ganhou popularidade quando Luedeking e Piret relacionaram a produção de ácido lático por *Lactobacillus deibrueckii* com a taxa específica de crescimento celular (LUEDEKING; PIRET, 1959):

$$r_P = \frac{dP}{dt} = \alpha\frac{dX}{dt} + \beta X \tag{8}$$

A relação entre a taxa de geração de produto e o consumo de substrato também pode ser descrita através da definição do coeficiente de rendimento entre produto e substrato ($Y_{P/S}$):

$$Y_{P/S} = \frac{r_P}{-r_S} \tag{9}$$

ou, em termos de taxa de produto:

$$r_P = -r_S Y_{P/S} \tag{10}$$

2.5. MODELAGEM MATEMÁTICA DA FERMENTAÇÃO ABE

A fermentação ABE é modelada desde a década de 80 e os modelos desenvolvidos representam o sistema desde equações estequiométricas simples da fermentação, como Papoutsakis (1984) até cinéticas complexas baseadas na rota metabólica dos microrganismos produtores, como Shinto et al (2007) e Buehler e Mesbah (2016). Os modelos mais antigos procuram representar o sistema de forma macroscópica, como Mulchandani e Volesky (1986), relacionando a quantidade de substrato consumido com a biomassa gerada e com os metabólitos produzidos, enquanto modelos mais recentes procuram quantificar o fluxo metabólico do micro-organismo, procurando gargalos de produção intracelulares e otimização do uso de substrato pelo mesmo, como LI et al (2011).

Os modelos matemáticos para fermentação ABE reportados na literatura abordam diferentes modos de operação e estratégias de retirada simultânea. A Figura 5 esquematiza os diferentes modos de fermentação ABE que são modelados na literatura.

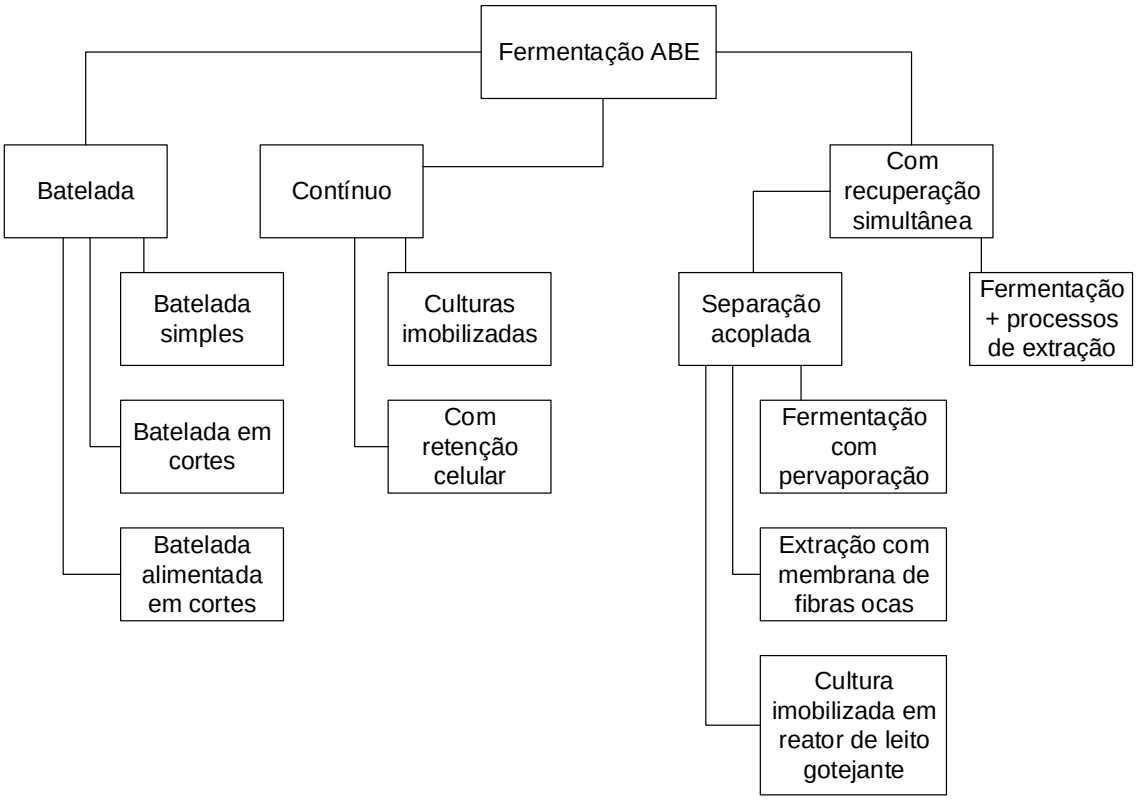


Figura 5 - Esquema de diferentes modelos matemáticos para a fermentação ABE (adaptado de MAYANK et al, 2012)

Papoutsakis (1984) foi um dos pioneiros a propor e representar o balanço molecular da utilização de substrato para a geração de biomassa em um crescimento anaeróbico. Este balanço toma a forma da seguinte equação química:

$$CH_mO_l + a.NH_3 \rightarrow y_c.CH_pO_nN_q + z.CH_rO_sN_t + b.H_2O + c.CO_2 \qquad (11)$$

onde CH_mO_l, $CH_pO_nN_q$ e $CH_rO_sN_t$ representam as composições elementares do substrato orgânico, biomassa microbiana e produtos extracelulares, respectivamente (PAPOUTSAKIS, 1984).

Mulchandani e Volesky (1986) propuseram um modelo não estruturado que representasse um processo contínuo de produção com retenção celular. A equação da taxa de consumo de substrato considera, além do coeficiente de manutenção celular proposto por Pirt (1975), termos de gasto de energia para reduzir os ácidos produzidos na fase acidogênica aos seus respectivos álcoois. Além disso, considera para os ácidos parcelas de consumo modeladas como equações similares às isotermas de adsorção de Langmuir, de forma a representar a adsorção dos ácidos

na parede celular. Com este modelo, os autores mostraram que em concentrações de substrato acima de 52 g/L não é possível atingir um estado estacionário e que nas regiões estáveis do biorreator a taxa de diluição não altera a concentração de produtos (MULCHANDANI e VOLESKY, 1986).

Modelos mais complexos e mais estruturados foram sendo desenvolvidos com o intuito de melhor representar e prever os fenômenos intracelulares. Um dos que receberam mais destaque foi a modelagem de Shinto et al (2007), que foca na representação do comportamento dinâmico da fermentação ABE. As equações do modelo incorporam taxas de geração e produtos não só dos produtos principais como dos metabólitos intermediários (como frutose-6-fosfato e piruvato) e das coenzimas acetil-CoA e butiril-CoA (SHINTO et al., 2007).

O trabalho de Li et al (2011) propôs melhorias ao modelo desenvolvido por Shinto et al (2007) com a adição, principalmente, de termos que representassem a evolução de butiril-fosfato que é creditado como o componente mais importante da fase solventogênica e que pode prever a mudança da fase acidogênica para a solventogênica (LI et al., 2011). Os grandes méritos do modelo incluem a alta capacidade de simulação quando desvia-se de seu estado normal e de que é possível revelar quais reações possuem mais impacto para a geração do composto de interesse (MAYANK, RANJAN e MOHOLKAR, 2013).

Os dois últimos modelos forneceram várias contribuições para a representação e simulação da fermentação ABE, embora seus desenvolvimentos estejam voltados ao modo de operação em batelada. Neste contexto, Buehler e Mesbah (2016) procuraram incorporar os conceitos dos dois modelos para representar a cinética da fermentação ABE em culturas contínuas. Seu modelo levou em conta efeitos de mudança de biomassa, regulação enzimática, inibição por pH e inibição por glicose (BUEHLER e MESBAH, 2016).

O efeito de inibição do crescimento microbiano ainda se posiciona como desafio de modelagem matemática. A forma mais comum para a representação do efeito inibitório é a adição de um fator de inibição à Equação (2) que modela a taxa específica de crescimento, na forma:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} f(I) \tag{12}$$

onde o fator *f(I)* pode ser expresso de diversas maneiras. A Tabela 7 reúne as principais abordagens para a representação da inibição do crescimento microbiano.

Tabela 7 - Diferentes funções de inibição para a fermentação ABE utilizadas na literatura

Referência	Equação
Mulchandani e Volesky, 1986	$f(I) = \begin{cases} \exp[-0{,}01(B+BA)], & (B+BA) < 8{,}0\ g/L \\ -0{,}153(B+BA)+2{,}16, & 8{,}0 \leq (B+BA) \leq 13{,}9\ g/L \end{cases}$
Yang e Tsao, 1994	$f(I) = 1 - \left(\frac{AA}{C_{maa}}\right)^{maa} - \left(\frac{BA}{C_{mba}}\right)^{mba} - \left(\frac{B}{C_{mb}}\right)^{mb} - m_1\left(\frac{AA}{C_{maa}}\right)^{maa}\left(\frac{B}{C_{mb}}\right)^{mb} - m_2\left(\frac{BA}{C_{mba}}\right)^{mba}\left(\frac{B}{C_{mb}}\right)^{mb}$
Velazquez-Sanchez et al, 2014	$f(I) = \left(1 - \frac{B}{K_P}\right)$
Eom et al, 2015	$f(I) = \left(1 - \frac{B}{K_B}\right)^{i_B}\left(1 - \frac{X}{K_X}\right)^{i_X}$
Buehler e Mesbah, 2016	$f(I) = \left(\frac{1}{1+\frac{B}{K_B}}\right)\left(1 - \left(\frac{BA}{BA_{mas}}\right)^{mba}\right)\left(1 - m_{pH}(5{,}6 - pH)\right)$
Rochón et al, 2017	$f(I) = \left(1 - \frac{B}{K_P}\right)^{a}$

Com o crescimento cada vez mais acentuado da biotecnologia e dos processos fermentativos em escala industrial, faz-se cada vez mais necessários os estudos de viabilidade técnico-econômica para avançar nas fases de projeto de engenharia de unidades industriais fermentativas. Neste aspecto, a engenharia de processos, por meio da modelagem matemática das unidades e simulações computacionais, desempenha função essencial para a realização destas avaliações.

Os grandes catalisadores para o dimensionamento de uma unidade industrial são os simuladores computacionais de processo, que computam modelos matemáticos de operações unitárias para prever o balanço de massa e energia da planta em estudo. Atualmente, alguns estudos de simulação de plantas fermentativas

utilizam formas extremamente simplificadas para representar a transformação de um substrato renovável em uma biomolécula através apenas de uma conversão estequiométrica. Trabalhos como o de Van der Merwe (2010), Naleli (2016) e Berti et al (2017) exemplificam esta abordagem de simulação.

A modelagem da cinética fermentativa surge como uma ferramenta para representar de forma mais rigorosa os fenômenos que ocorrem no interior de um biorreator. Com os modelos cinéticos, são possíveis as previsões de estados transientes e estacionários do processo e análises de sensibilidade para a identificação de pontos de dificuldades e oportunidades para pesquisas e desenvolvimentos.

3. MODELAGEM E VALIDAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ABE CONTÍNUA COM RETENÇÃO CELULAR

Visando a implementação do modelo cinético da fermentação ABE no Aspen Plus® para um futuro trabalho de simulação de uma planta de produção de biobutanol, é importante que o modelo esteja baseado em componentes que já possuam propriedades puras e parâmetros de interação binária incorporadas no *software*. Por isso, a utilização de modelos mais estruturados, como o de Shinto et al (2007) e o de Buehler e Mesbah (2016), são de mais difícil aplicação já que utilizam, em seus modelos, metabólitos secundários, coenzimas e reguladores genéticos que são de difícil previsão do simulador.

Neste contexto, a utilização de modelos não estruturados e não segregados se torna mais atraente. Para implementação em Aspen Plus com o objetivo final da realização de análises técnicas e econômicas, o modelo de Mulchandani (1986) se apresenta como o mais ideal, dos modelos identificados, para ser trabalhado e implementado. Além disso, este modelo se utiliza de parâmetros e coeficientes de rendimento bastantes comuns reportados na literatura, sendo apto de incorporar novos resultados.

3.1. DESCRIÇÃO DO MODELO

O modelo proposto por Mulchandani e Volesky (1986) representa um processo de fermentação ABE contínua com retenção celular. Para formulá-lo, as seguintes premissas foram adotadas pelos autores:

1) A fonte de carbono é o único substrato limitante;
2) Não há limitação de nenhum outro nutriente nem de fonte de nitrogênio;
3) Ácido acético e ácido butírico são metabólitos intermediários que são reduzidos a acetona e butanol, respectivamente;
4) Acetona e butanol também são produzidos diretamente da fonte de carbono;
5) Etanol é produzido apenas da fonte de carbono;
6) A fermentação é conduzida na temperatura ótima de 37 °C, pH ótimo de 4,5 e condições anaeróbicas;

7) Todas as células são metabolicamente ativas e viáveis.

O modelo de crescimento microbiano tem base na equação de Monod com a adição de um termo de inibição *f(I)*, como descrito pela Equação (12). Este fator leva em conta a inibição pela presença simultânea de butanol e ácido butírico, modelada por uma equação exponencial quando a soma das concentrações se encontra abaixo de 8,0 g/L e por uma equação linear quando esta soma se encontra entre 8,0 e 13,9. Segundo os autores, esta forma é capaz de abranger toda a faixa de inibição pelos metabólitos gerados. A forma matemática do fator de inibição é apresentada na Equação 13.

$$f(I) = \begin{cases} \exp[-0{,}01(B+BA)]\,, & (B+BA) < 8{,}0\ g/L \\ -0{,}153(B+BA) + 2{,}16, & 8{,}0 \leq (B+BA) \leq 13{,}9\ g/L \end{cases} \tag{13}$$

onde B e BA são as concentrações de butanol e ácido butírico em g/L, respectivamente. Portanto, a taxa de geração de biomassa fica:

$$r_x = \begin{cases} \dfrac{\mu_{max} S}{K_S + S} \exp[-0{,}01(B+BA)]X\,, & (B+BA) < 8{,}0\ g/L \\ \dfrac{\mu_{max} S}{K_S + S}[-0{,}153(B+BA) + 2{,}16]X, & 8{,}0 \leq (B+BA) \leq 13{,}9\ g/L \end{cases} \tag{14}$$

onde μ_{max} é a taxa de crescimento máximo do micro-organismo, K_S é a constante de afinidade com o substrato e S é a concentração de substrato em g/L.

A taxa de consumo de substrato é modelada segundo a proposta de Pirt (1975) (Equação (5)). Em adição a esta equação, a redução dos ácidos aos álcoois de acordo com a Premissa 5 demanda energia, que é obtida através do consumo de substrato. Desta forma, os termos consumo para geração de energia foram adicionados ao equacionamento, fazendo com que a taxa de consumo adote a forma da Equação 15.

$$-r_S = \left(\frac{1}{Y_{X/S}} \mu + m + k_1 \frac{S}{K_S + S} \frac{BA}{K_{BA} + BA} + k_2 \frac{S}{K_S + S} \frac{AA}{K_{AA} + AA} \right) X \tag{15}$$

onde k_1 e k_2 são parâmetros de ajuste do modelo e K_{BA} e K_{AA} são as constantes de saturação de ácido butírico (BA) e ácido acético (AA), respectivamente; μ_{max}, K_S e S são a taxa de crescimento máximo do micro-organismo, a constante de afinidade com o substrato e a concentração de substrato em g/L.

A taxa global de consumo e geração de ácido butírico é escrita como a diferença entre a taxa de sua produção e a taxa de seu consumo para gerar butanol, de acordo com a Premissa 4.

$$r_{BA} = r_{BA,P} - r_{BA,C} \tag{16}$$

O primeiro termo ($r_{BA,P}$), que representa a taxa de produção deste ácido, é calculado através da definição do coeficiente de rendimento (Equação (9)).

$$r_{BA,P} = Y_{BA/S}.(-r_S) = \frac{Y_{BA/S}}{Y_{X/S}} r_X + Y_{BA/S}.mX \tag{17}$$

onde $Y_{BA/S}$ é o coeficiente de rendimento de ácido butírico em relação ao substrato, $Y_{X/S}$ é o coeficiente de rendimento de células em relação ao substrato, m é o coeficiente de manutenção celular e X é a concentração de biomassa no mosto fermentativo em g/L.

A Equação (17) se assemelha ao modelo de Luedeking-Piret (LUEDEKING e PIRET, 1959), indicando que a geração dos ácidos pode ser tanto associada ao crescimento celular quanto à concentração celular. A taxa de consumo de ácido butírico pode ser equacionada como uma função das concentrações de ácido butírico e substrato. Estas funções são equações similares à isoterma de adsorção de Langmuir, que representam as adsorções na parede celular do ácido e do substrato.

$$r_{BA,C} = k_6 \frac{BA}{K_{BA} + BA} . \frac{S}{K_S + S} X \tag{18}$$

Assim, a Equação (16) é reescrita como:

$$r_{BA} = \left(\frac{Y_{BA/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{BA/S}.m - k_6\frac{BA}{K_{BA} + BA}.\frac{S}{K_S + S}\right)X \qquad (19)$$

onde k_6 é um parâmetro de ajuste. Com relação ao ácido acético, a expressão da taxa de produção (r_{AA}) é inteiramente análoga à do ácido butírico, mostrada na Equação 20:

$$r_{AA} = \left(\frac{Y_{AA/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{AA/S}.m - k_9\frac{AA}{K_{AA} + AA}.\frac{S}{K_S + S}\right)X \qquad (20)$$

onde k_9 é um parâmetro de ajuste.

A taxa de produção de butanol (r_B) considera as gerações a partir de substrato ($r_{B,S}$) e da redução do ácido butírico ($r_{B,BA}$).

$$r_B = r_{B,S} + r_{B,BA} \qquad (21)$$

A taxa de produção de butanol a partir de substrato pode ser expressa na forma:

$$r_{B,S} = Y_{B/S}(-r_S) = \frac{Y_{B/S}}{Y_{X/S}}r_X + Y_{B/S}.mX \qquad (22)$$

onde $Y_{B/S}$ e $Y_{X/S}$ são, respectivamente, os coeficientes de rendimento de butanol e célula em relação ao substrato, e m é o coeficiente de manutenção celular.

Já a taxa de produção do álcool a partir de ácido butírico ($r_{B,BA}$) é similar à taxa de conversão do ácido.

$$r_{B,BA} = k_{14}\frac{BA}{K_{BA} + BA}\frac{S}{K_S + S}X \qquad (23)$$

onde k_{14} é um parâmetro de ajuste. A taxa global de produção de butanol (r_B) é então:

$$r_B = \left(\frac{Y_{B/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{B/S}.m - k_{14}\frac{BA}{K_{BA} + BA}.\frac{S}{K_S + S}\right)X \quad (24)$$

De forma análoga, a taxa de produção de acetona (r_A) é escrita como:

$$r_A = \left(\frac{Y_{A/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{A/S}.m - k_{15}\frac{AA}{K_{AA} + AA}.\frac{S}{K_S + S}\right)X \quad (25)$$

Finalmente, a taxa de produção de etanol (r_E) é escrita apenas como função da taxa de consumo de substrato em conjunto com seu coeficiente de rendimento, de acordo com a Premissa 5.

$$r_E = \left(\frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{E/S}.m\right)X \quad (26)$$

onde $Y_{E/S}$ é o coeficiente de rendimento de etanol em relação ao substrato.

A fermentação ABE contínua com retenção celular tem a dinâmica do biorreator representada pelas Equações 27 a 33.

$$\frac{dX(t)}{dt} = r_X \quad (27)$$

$$\frac{dS(t)}{dt} = D(S_0 - S) + r_S \quad (28)$$

$$\frac{dAA(t)}{dt} = -D.AA + r_{AA} \quad (29)$$

$$\frac{dBA(t)}{dt} = -D.BA + r_{BA} \quad (30)$$

$$\frac{dA(t)}{dt} = -D.A + r_A \quad (31)$$

$$\frac{dB(t)}{dt} = -D.B + r_B \quad (32)$$

$$\frac{dE(t)}{dt} = -D.E + r_E \tag{33}$$

onde D é a taxa de diluição do processo e S_0 é a concentração de substrato na alimentação.

3.2. METODOLOGIA

3.2.1. ESTIMAÇÃO DOS PARÂMETROS

Os parâmetros foram obtidos com base nos dados experimentais de Mulchandani e Volesky (1986). Os experimentos utilizados foram aqueles realizados nas condições estabelecidas pela Premissa 6, com uma alimentação contínua de substrato na concentração de 35 g/L e um degrau em t = 38,5 h para 31 g/L.

O critério de estimação dos parâmetros escolhido foi o método da Máxima Verossimilhança, que é derivado a partir do desenvolvimento matemático da análise de modelos multi-resposta explícitos não-lineares. Para este desenvolvimento e para a apresentação da metodologia, são necessárias as introduções das seguintes simbologias:

$\boldsymbol{n}$: n-ésima resposta do modelo (n = 1, 2, ..., NR, onde NR é número total de respostas do modelo. Para o modelo considerado, NR = 7).

$\boldsymbol{i}$: índice de identificação de ponto experimental (i = 1, 2, ..., NE, onde NE é o número total de pontos experimental para a construção das curvas das respostas. Para o modelo considerado, NE = 27).

$\underline{\boldsymbol{y_i}}$: vetor NR x 1 de dados experimentais das respostas no ponto experimental i.

$\underline{\boldsymbol{\eta_i}}$: vetor de valores corretos das respostas do modelo no ponto experimental i.

$\underline{\boldsymbol{x}}$: vetor n x 1 de variáveis independentes do modelo.

$\underline{\boldsymbol{x_i}}$: vetor de $\underline{x}$ no ponto experimental i.

$\underline{\boldsymbol{\beta^t}}$: vetor de parâmetros do modelo, $[\beta_0 \quad \beta_1 \quad \cdots \quad \beta_q]$, de tamanho NP x 1, onde NP = q + 1.

$\underline{\hat{\boldsymbol{\beta}}}$: vetor de valores estimados para $\underline{\boldsymbol{\beta}}$.

$\underline{\hat{\boldsymbol{y}}_i}$: vetor de respostas estimadas para o ponto experimental i.

$\underline{\underline{\hat{\boldsymbol{y}}}}$: matriz de respostas estimadas para todos os pontos i, $[\underline{\hat{\mathbf{y}}_1} \quad \underline{\hat{\mathbf{y}}_2} \quad \cdots \quad \underline{\hat{\mathbf{y}}_{NE}}]$.

$\underline{\underline{\boldsymbol{W_n}}}$: matriz de pesos para as respostas n. Esta matriz é definida como a matriz inversa da variância das respostas do modelo.

$\boldsymbol{\sigma_\varepsilon^2}$: variância fundamental dos experimentos.

$\underline{\underline{\boldsymbol{Cov}}}(\underline{\boldsymbol{y_n}})$: matriz de variância-covariância para a resposta n, $\boldsymbol{\sigma_\varepsilon^2}.\underline{\underline{\mathbf{W_n}}}^{-1}$.

$\underline{\underline{\boldsymbol{X_n}}}$: matriz jacobiana das respostas do modelo em relação aos parâmetros $\underline{\hat{\beta}}$.

$$\underline{\underline{X_n}} = \left[\underline{\nabla}_{\hat{\beta}}\underline{\hat{y}}^t\right]^t, \underline{\underline{X_n}} = \begin{bmatrix} \underline{X}_{n,1}^t \\ \underline{X}_{n,2}^t \\ \vdots \\ \underline{X}_{n,NE}^t \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial F_{n,1}}{\partial \hat{\beta}_0} & \frac{\partial F_{n,1}}{\partial \hat{\beta}_1} & \dots & \frac{\partial F_{n,1}}{\partial \hat{\beta}_q} \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ \frac{\partial F_{n,NE}}{\partial \hat{\beta}_1} & \frac{\partial F_{n,NE}}{\partial \hat{\beta}_2} & \dots & \frac{\partial F_{n,NE}}{\partial \hat{\beta}_{NP}} \end{bmatrix}$$

Além desta simbologia apresentada, as seguintes premissas são adotadas para o desenvolvimento matemático da estimação dos parâmetros.

i. Os experimentos são independentes entre si, ou seja, os pontos experimentais não são influenciados pelos pontos anteriores e seguintes;

ii. Os valores experimentais seguem uma distribuição normal ao redor dos valores corretos do modelo;

$$y_{n,i} \rightarrow N(\eta_{n,i}, \sigma_\varepsilon^2)$$

iii. O modelo de respostas é correto, ou seja, se conhecido o vetor de parâmetros corretos do sistema, o modelo desenvolvido calcula os valores corretos das respostas.

$$\underline{\eta}_i = \underline{F}(\underline{x}_i, \underline{\beta})$$

A função densidade de probabilidade dos pontos experimentais para um vetor $\underline{\theta}$ genérico é dada por:

$$FD(\underline{\theta}) = \frac{1}{(2\pi)^{N/2}\sqrt{\left|\underline{\underline{Cov}}(\underline{\theta})\right|}} \exp\left\{-\frac{1}{2}(\underline{\theta} - \underline{\mu_\theta})^t \left[\underline{\underline{Cov}}(\underline{\theta})\right]^{-1} (\underline{\theta} - \underline{\mu_\theta})\right\} \tag{34}$$

A independência entre os experimentos considerada pela premissa ii transforma a Equação (34) em:

$$FD\left(\underline{y_n}\right) = \frac{\sqrt{\left|\underline{\underline{W_n}}\right|}}{(2\pi\sigma_\varepsilon^2)^{N/2}} \exp\left\{-\frac{1}{2\sigma_\varepsilon^2}(\underline{y_n} - \underline{\eta})^t \underline{\underline{W_n}}(\underline{y_n} - \underline{\eta})\right\} \tag{35}$$

Como a função densidade de probabilidade gira em torno dos valores corretos do sistema $\underline{\eta}$, que são desconhecidos, a função Verossimilhança ($L\left(\underline{y_n}, \underline{\hat{\beta}}\right)$) da resposta *n* toma a mesma forma da Equação (35), alterando os vetores $\underline{\eta}$ pelos valores estimados da resposta, ficando:

$$L\left(\underline{y_n}, \underline{\hat{\beta}}\right) = \frac{\sqrt{\left|\underline{\underline{W_n}}\right|}}{(2\pi\sigma_\varepsilon^2)^{N/2}} \exp\left\{-\frac{1}{2\sigma_\varepsilon^2}(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}})^t \underline{\underline{W_n}}(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}})\right\} \tag{36}$$

A função verossimilhança generalizada e considerada para todas as respostas é dada por

$$L\left(\underline{y}, \underline{\hat{\beta}}\right) = \prod_{n=1}^{NR} L\left(\underline{y_n}, \underline{\hat{\beta}}\right) \tag{37}$$

Aplicando a função logaritmo na Equação (37), é possível escrever:

$$\ln L\left(\underline{y}, \underline{\hat{\beta}}\right) = \frac{1}{2} ln\left|\underline{\underline{W_n}}\right| - \frac{N}{2}\ln(2\pi\sigma_\varepsilon^2) - \frac{1}{2\sigma_\varepsilon^2}\sum_{n=1}^{NR}(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}})^t \underline{\underline{W_n}}(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}}) \tag{38}$$

Logo, a estimação dos parâmetros $\underline{\hat{\beta}}$ é realizado com a maximização da função de Verossimilhança (Equação (37)), que é obtida com a minimização do logaritmo da mesma função (Equação (38)). A função objetivo (Φ) a minimizar, portanto, é dada por:

$$\Phi = \sum_{n=1}^{NR} \frac{1}{2} (\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}})^t \underline{\underline{W_n}} (\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}}) \tag{39}$$

A minimização da função objetivo (Equação (39)) foi computada em ambiente MATLAB. Para a construção das matrizes de pesos $\underline{\underline{W_n}}$, considerou-se, para todos os pontos experimentais, o desvio padrão de 10% da grandeza da resposta. A matriz de pesos, então, toma a seguinte forma:

$$\underline{\underline{W_n}} = \begin{pmatrix} 1/\sigma_{n,1}^2 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & 1/\sigma_{n,2}^2 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 1/\sigma_{n,NE}^2 \end{pmatrix} \tag{40}$$

3.2.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PARÂMETROS ESTIMADOS

A análise estatística dos parâmetros estimados tem como objetivo avaliar a qualidade dos parâmetros obtidos, calculando, principalmente, seus desvios-padrão, seus intervalos de confiança e os desvios-padrão das respostas estimadas. Estes cálculos são realizados com o auxílio de estimadores adequados para as matrizes de variância-covariância dos parâmetros e das previsões do modelo, bem como para a variância fundamental dos experimentos. Os estimadores de cada um destes valores devem passar por análise e caracterização para a definição se são estimadores adequados ou não.

Admitindo-se que os vetores obtidos pela estimação são próximos aos corretos, a linearização do vetor de previsão das respostas pode ser escrita como:

$$\underline{\hat{y}_n} \cong \underline{\eta} + \underline{\underline{X}}(\underline{\hat{\beta}} - \underline{\beta}) \tag{41}$$

A análise dos estimadores é realizada com a utilização da Equação (41) na equação de ponto estacionário para estimação do vetor de parâmetros $\underline{\hat{\beta}}$. Esta equação é encontrada pela derivada da função objetivo do método de Máxima Verossimilhança (Equação (39)) em relação ao vetor de parâmetros.

$$\underline{\nabla}_{\hat{\beta}} \Phi = \underline{0} \tag{42}$$

$$\sum_{n=1}^{NR} \underline{\underline{X}}_n^t \, \underline{\underline{W}}_n \left(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}} \right) = \underline{0} \tag{43}$$

Substituindo-se a Equação (41) na Equação (43), chega-se na expressão assintótica de $\underline{\hat{\beta}}$ para a análise estatística.

$$\underline{\hat{\beta}} = \underline{\beta} + \left[\sum_{n=1}^{NR} \left(\underline{\underline{X}}_n^t \, \underline{\underline{W}}_n \, \underline{\underline{X}}_n \right) \right]^{-1} \sum_{n=1}^{NR} \underline{\underline{X}}_n^t \, \underline{\underline{W}}_n \left(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}} \right) \tag{44}$$

Com a Equação (44), é possível caracterizar o estimador $\underline{\hat{\beta}}$. Como $\underline{\hat{\beta}}$ é uma função linear de $\underline{y_n}$, então $\underline{\hat{\beta}}$ possui **distribuição normal**. Além disso, como $E\left(\underline{y_n}\right) = \underline{y_n}$, então, pela Equação (44), $E\left(\underline{\hat{\beta}}\right) = \underline{\beta}$ e $\underline{\hat{\beta}}$ é caracterizado como **não tendencioso**, ou seja, a esperança matemática do estimador é o próprio vetor dos valores corretos dos parâmetros. Por fim, pela definição da matriz de variância-covariâncias do vetor do estimador $\underline{\hat{\beta}}$:

$$\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) = E\left[\left(\underline{\hat{\beta}} - E\left(\underline{\hat{\beta}}\right) \right) - \left(\underline{\hat{\beta}} - E\left(\underline{\hat{\beta}}\right) \right)^t \right] \tag{45}$$

Se não há correlação entre as respostas experimentais, então:

$$E\left\{\left(\underline{y}_n - \underline{\eta}_n\right)\left(\underline{y}_m - \underline{\eta}_m\right)^t\right\} = \begin{cases} \underline{0}, & n \neq m \\ \sigma_\varepsilon^2 \underline{\underline{W_n}}^{-1}, & n = m \end{cases} \tag{46}$$

Pela Equação (45), obtém-se:

$$\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) = \sigma_\varepsilon^2 \left[\sum_{n=1}^{NR}\left(\underline{\underline{X_n^t}}\,\underline{\underline{W_n}}\,\underline{\underline{X_n}}\right)\right]^{-1} \tag{47}$$

Quando NE → ∞, então $\underline{\underline{X_n^t}}\,\underline{\underline{W_n}}\,\underline{\underline{X_n}} \to \infty$ e, finalmente, $\left[\sum_{n=1}^{NR}\left(\underline{\underline{X_n^t}}\,\underline{\underline{W_n}}\,\underline{\underline{X_n}}\right)\right]^{-1} \to 0$. Logo, quando NE → ∞, $\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) \to 0$ e o estimador $\underline{\hat{\beta}}$ é dito **coerente**. O estimador é coerente quando, aumentando o número de dados experimentais, menor é o erro do estimador dos parâmetros em torno de seus valores corretos.

A caracterização do estimador das respostas do modelo $\underline{\hat{y}_n}$ é análoga à do estimador $\underline{\hat{\beta}}$. Através da Equação (41), $\underline{\hat{y}_n}$ é função linear do estimador $\underline{\hat{\beta}}$ e, portanto, $\underline{\hat{y}_n}$ segue distribuição **normal**. Também pela Equação (41), como $E\left(\underline{\hat{\beta}}\right) = \underline{\beta}$, então $E\left(\underline{\hat{y}_n}\right) = \underline{\eta_n}$. O estimador $\underline{\hat{y}_n}$ é, portanto, **não tendencioso**, já que a esperança matemática do estimador de respostas é o valor correto. Finalmente, pela definição do vetor variância-covariância do estimador das respostas:

$$\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right) = E\left[\left(\underline{\hat{y}_n} - E\left(\underline{\hat{y}_n}\right)\right) - \left(\underline{\hat{y}_n} - E\left(\underline{\hat{y}_n}\right)\right)^t\right] \tag{48}$$

Substituindo-se a Equação (41) na Equação (48), tem-se:

$$\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right) = \underline{\underline{X_n}}\,\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)\,\underline{\underline{X_n^t}} \tag{49}$$

Pela discussão anterior, se NE → ∞, então $\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) \to 0$ e $\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right) \to 0$. O estimador das respostas $\underline{\hat{y}_n}$ é, portanto, **coerente**.

Como as matrizes de variância-covariância dos estimadores, necessárias para se calcular os desvios-padrão dos estimadores, dependem da variância fundamental das respostas, faz-se necessário um estimador adequado para esta variância de forma a calcular estas matrizes. O melhor estimador para este valor é dado pela definição da estatística S_R^2, a soma dos quadrados dos resíduos.

$$S_R^2 = \frac{1}{NR * NE - NP} \sum_{n=1}^{NR} \left(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}}\right)^t \underline{\underline{W_n}} \left(\underline{y_n} - \underline{\widehat{y_n}}\right) \tag{50}$$

de tal forma que $\hat{\sigma}_\varepsilon^2 = S_R^2$. Com este estimador, é possível obter estimadores para $\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)$ e $\underline{\underline{Cov}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right)$ a partir das Equações (47) e (49):

$$\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) = S_R^2 \left[\sum_{n=1}^{NR} \left(\underline{\underline{X_n^t}}\, \underline{\underline{W_n}}\, \underline{\underline{X_n}}\right)\right]^{-1} \tag{51}$$

$$\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right) = \underline{\underline{X_n}}\, \underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right) \underline{\underline{X_n^t}} \tag{52}$$

Como as diagonais principais das matrizes de variância-covariância representam as variâncias dos estimadores, então os desvios-padrão são estimados pela raiz quadrada das diagonais principais:

$$\hat{\sigma}_{\hat{\beta}_k} = \sqrt{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} \tag{53}$$

$$\hat{\sigma}_{\hat{y}_{n,k}} = \sqrt{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{y}_n}\right)_{kk}} \tag{54}$$

O intervalo de confiança dos parâmetros é encontrado através do tratamento pelo teorema t de Student. É possível demonstrar que a estatística definida S_R^2 possui distribuição χ^2 com graus de liberdade $\nu = NR * NE - NP$. Assim, aplicando-se o teorema t de Student,

$$\frac{\underline{\hat{\beta}}_k - \underline{\beta}_k}{\sqrt{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}}} \longrightarrow t_{\nu=NR*NE-NP} \tag{55}$$

Pela distribuição t, então:

$$-t_{1-\alpha/2} \leq \frac{\underline{\hat{\beta}}_k - \underline{\beta}_k}{\sqrt{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}}} \leq t_{1-\alpha/2} \tag{56}$$

O intervalo de confiança dos parâmetros a partir da Equação (56) é:

$$\underline{\hat{\beta}}_k - t_{1-\alpha/2}\hat{\sigma}_{\hat{\beta}_k} \leq \underline{\beta}_k \leq \underline{\hat{\beta}}_k + t_{1-\alpha/2}\hat{\sigma}_{\hat{\beta}_k} \tag{57}$$

De forma análoga, o intervalo de confiança para as respostas estimadas é:

$$\underline{\hat{y}}_{n,i} - t_{1-\alpha/2}\hat{\sigma}_{\hat{y}_{n,i}} \leq \underline{y}_{n,i} \leq \underline{\hat{y}}_{n,i} + t_{1-\alpha/2}\hat{\sigma}_{\hat{y}_{n,i}} \tag{58}$$

Para avaliar a significância dos parâmetros estimados, realiza-se o teste F de Fisher. É possível demonstrar que a variável definida como a razão entre o quadrado do parâmetro estimado e sua variância segue a distribuição F de Fisher.

$$\frac{\underline{\hat{\beta}}_k^{\,2}}{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} \rightarrow F(\nu_A, \nu_B, 1-\alpha) \tag{59}$$

onde $1-\alpha$ é a probabilidade desejada e ν_A e ν_B são os graus de liberdade. O teste de significância é realizado com a formulação da tese de que $\underline{\hat{\beta}}_k$ é não significante e pode ser confundido com zero. Esta hipótese é negada se

$$\frac{\underline{\hat{\beta}_k}^2}{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} > \phi_{1-\alpha} \tag{60}$$

onde $\phi_{1-\alpha}$ é a abscissa da função densidade de probabilidade da distribuição Fisher com a probabilidade de $1-\alpha$ e graus de liberdade $\nu_A = 1$ e $\nu_B = NR * NE - NP$. Caso a Equação (60) seja satisfeita, o parâmetro $\underline{\hat{\beta}_k}$ é significante para o modelo com $(1-\alpha)x100\%$ de probabilidade. Caso a Equação (60) não seja satisfeita, os seguintes critérios são definidos para a discussão da significância dos parâmetros. Se

$$\frac{\phi_{1-\alpha}}{1{,}05} \leq \frac{\underline{\hat{\beta}_k}^2}{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} \leq \phi_{1-\alpha} \tag{61}$$

nada se pode afirmar sobre a tese do parâmetro $\underline{\hat{\beta}_k}$ ser aproximadamente zero. Se

$$\frac{\phi_{1-\alpha}}{2} \leq \frac{\underline{\hat{\beta}_k}^2}{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} < \frac{\phi_{1-\alpha}}{1{,}05} \tag{62}$$

o parâmetro $\underline{\hat{\beta}_k}$ é dito provavelmente insignificante. Finalmente, se

$$\frac{\underline{\hat{\beta}_k}^2}{\underline{\underline{\widehat{Cov}}}\left(\underline{\hat{\beta}}\right)_{kk}} < \frac{\phi_{1-\alpha}}{2} \tag{63}$$

o parâmetro $\underline{\hat{\beta}_k}$ é insignificante para o modelo.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A estimação dos parâmetros realizada pela minimização da função objetivo descrita pela Equação (39) resultou nos valores discriminados na Tabela 8, comparados com os valores originais reportados por Mulchandani e Volesky (1986).

A Figura 6 mostra a otimização da função objetivo realizada em MATLAB e a Figura 7 à Figura 10 mostram a regressão do modelo, onde os círculos representam os pontos experimentais e a linha contínua a predição do modelo com os parâmetros regredidos.

É possível perceber que o modelo foi capaz de se ajustar de forma satisfatória às curvas de biomassa, acetona, butanol e etanol. Quanto às curvas de ácido acético e ácido butírico, apesar de indicarem a existência de um estado estacionário, seus dados experimentais aparentam possuir uma oscilação entre os tempos de 60 e 140 h. Esta oscilação pode ter sido causada por variações experimentais (como oscilações de temperatura, por exemplo) ou os pontos podem ter sido influenciados por ruídos de análise.

Tabela 8 - Resultado da estimação dos parâmetros

Número do Parâmetro	Parâmetro	Valor	Unidade
1	μ_{max}	0,3488	h^{-1}
2	k_1	0,0588	$g_{subst}/g_{cel}.h$
3	k_2	0,0972	$g_{subst}/g_{cel}.h$
4	$Y_{X/S}$	0,0564	g_{cel}/g_{subst}
5	m	0,0575	$g_{subst}/g_{cel}.h$
6	$Y_{BA/S}$	0,0573	g_{BA}/g_{subst}
7	k_6	0,0298	$g_{BA}/g_{cel}.h$
8	$Y_{B/S}$	0,1613	g_{B}/g_{subst}
9	$Y_{AA/S}$	0,0650	g_{AA}/g_{subst}
10	k_9	0,0487	$g_{AA}/g_{cel}.h$
11	$Y_{A/S}$	0,0728	g_{A}/g_{subst}
12	$Y_{E/S}$	0,0177	g_{E}/g_{subst}
13	k_{14}	0,0967	$g_{B}/g_{cel}.h$
14	k_{15}	0,1143	$g_{A}/g_{cel}.h$
15	K_S	3,2054	g/L
16	K_{AA}	0,3975	g/L
17	K_{BA}	1,0405	g/L

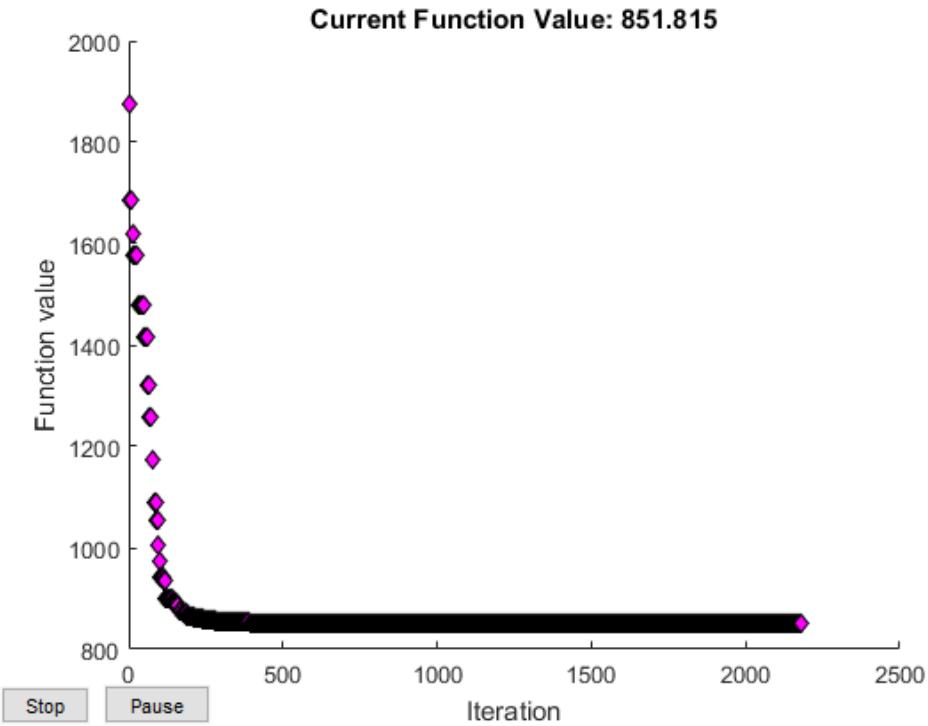


Figura 6 - Otimização da função objetivo para estimação dos parâmetros

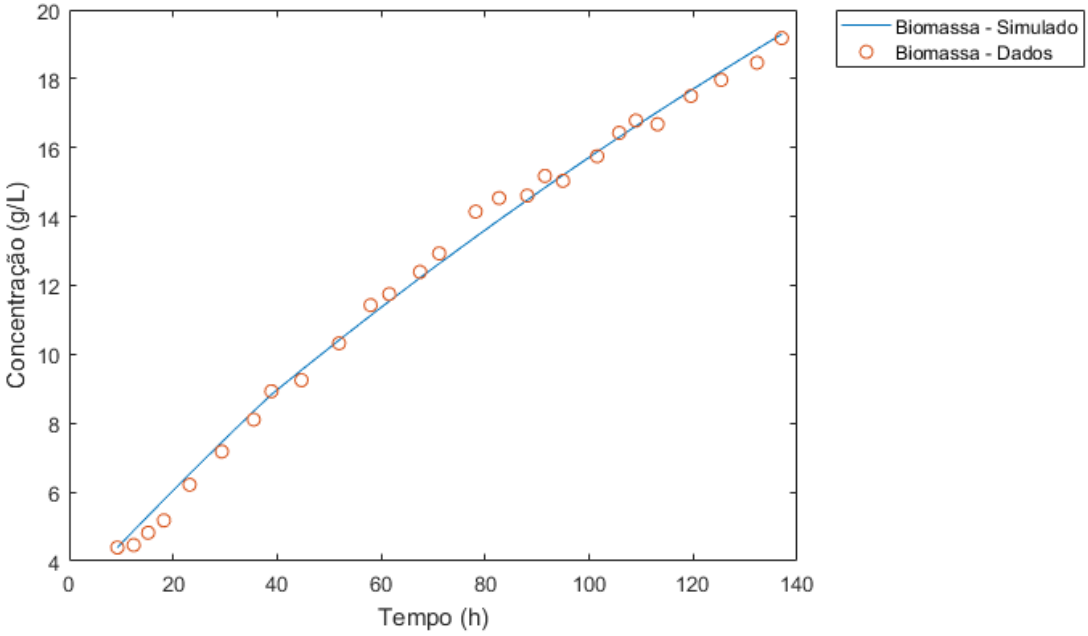


Figura 7 - Perfil de concentração de biomassa

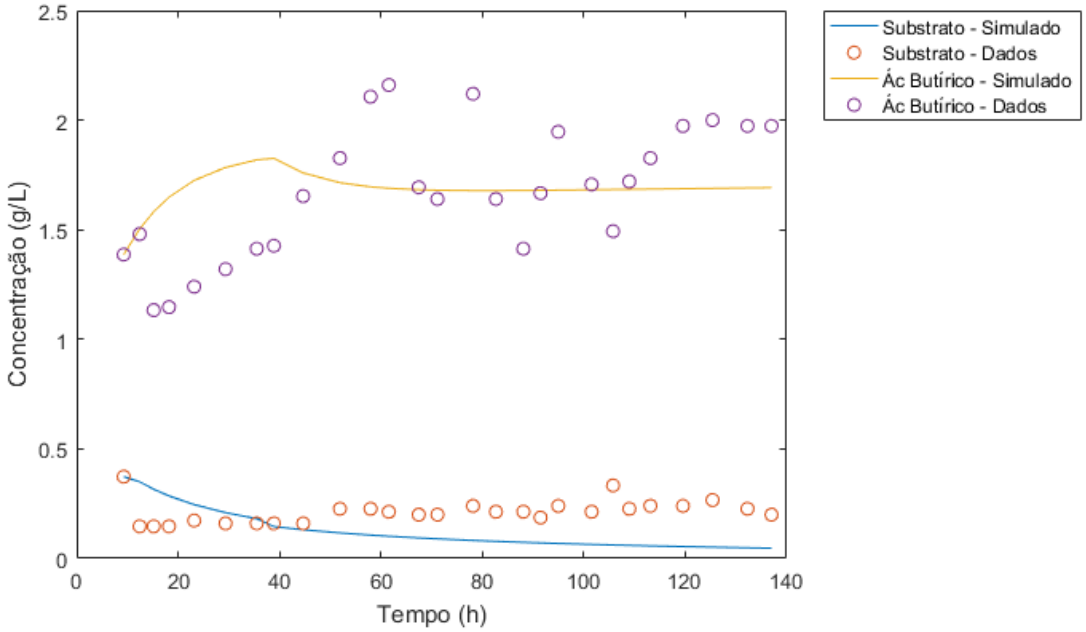


Figura 8 - Perfis de concentração de substrato e ácido butírico

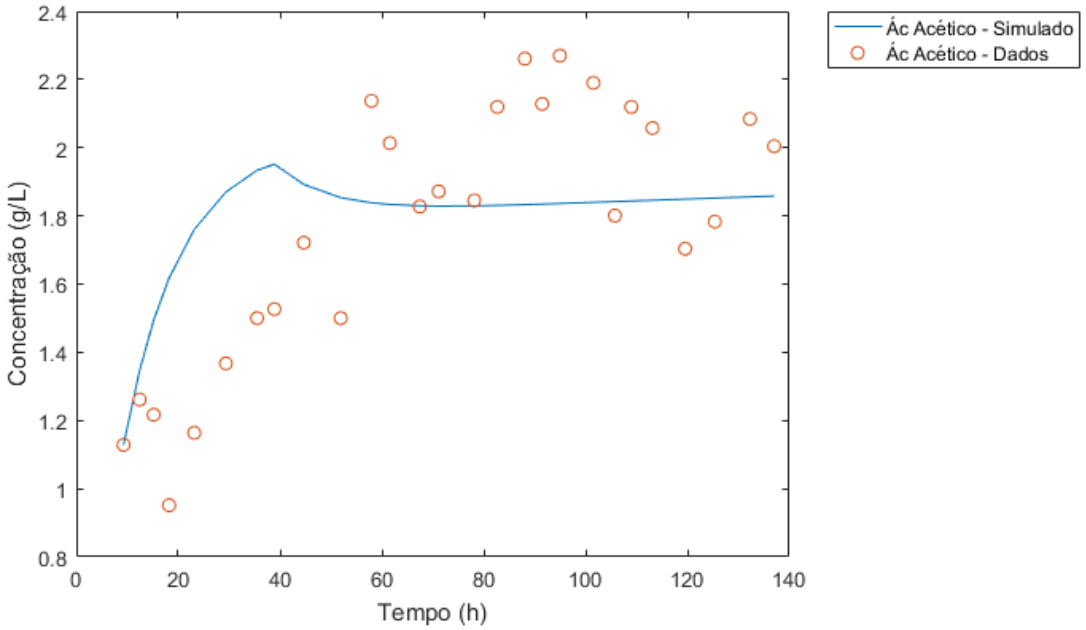


Figura 9 - Perfil de concentração de ácido acético

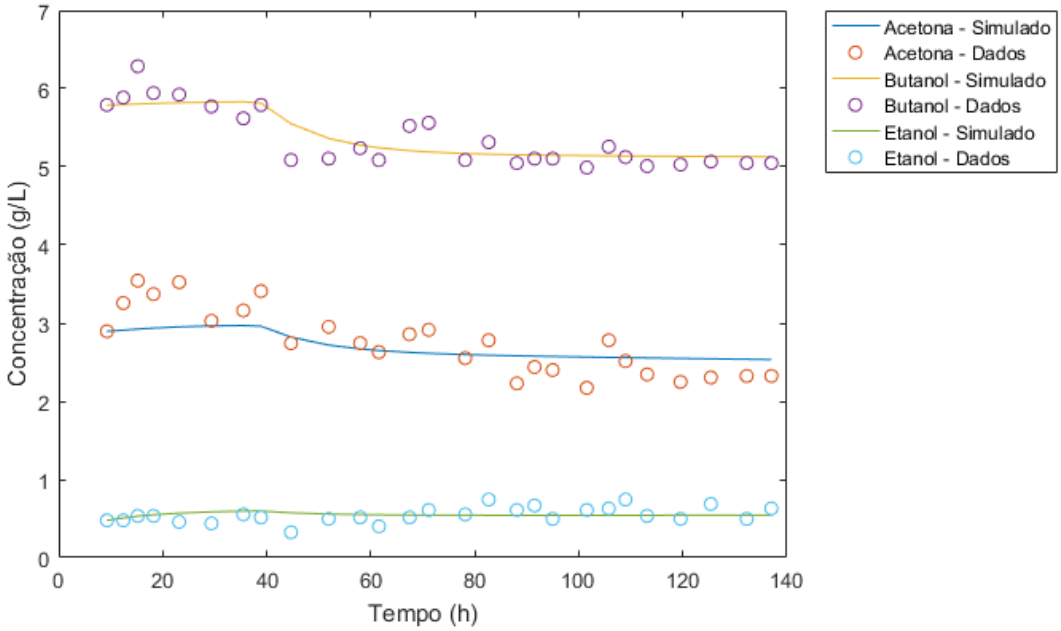


Figura 10 - Perfis de concentração de acetona, butanol e etanol

A Figura 11 apresenta o intervalo de confiança dos parâmetros estimados, com 95% de probabilidade, detalhados na Tabela 9.

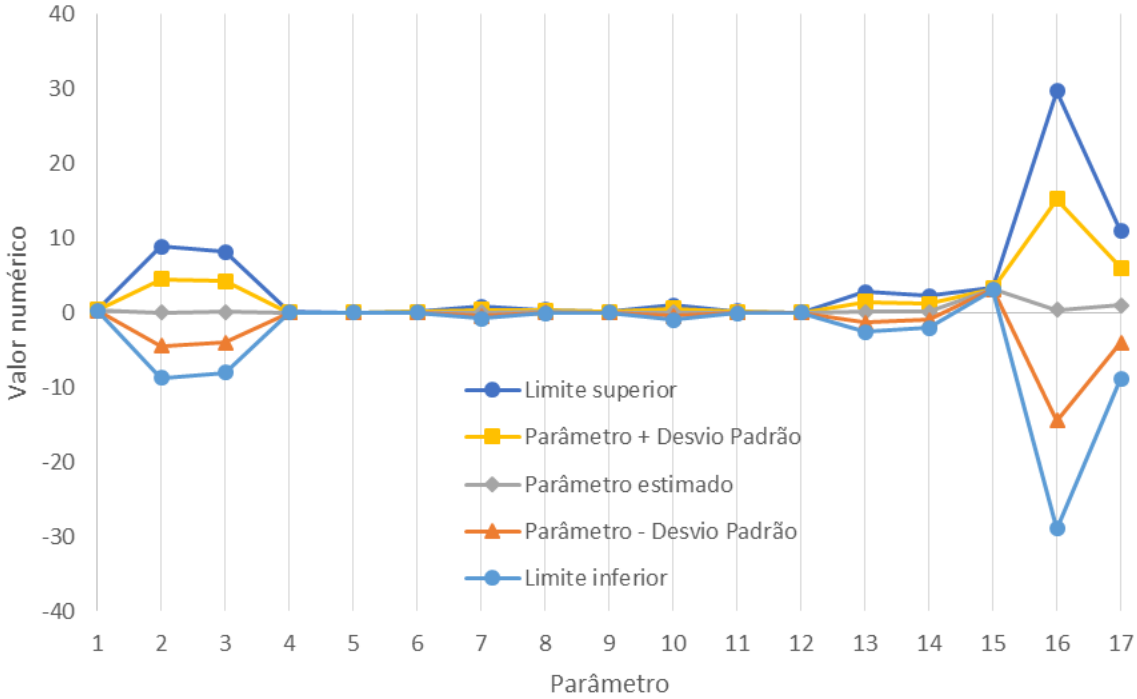


Figura 11 - Intervalo de confiança dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade.

Tabela 9 - Intervalo de confiança dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade

Número do Parâmetro	Intervalo de confiança
1	$0{,}2833 \leq \mu_{max} \leq 0{,}4143$
2	$-8{,}7363 \leq k_1 \leq 8{,}8540$
3	$-8{,}0278 \leq k_2 \leq 8{,}2222$
4	$0{,}0214 \leq Y_{X/S} \leq 0{,}0914$
5	$0{,}0405 \leq m \leq 0{,}0745$
6	$0{,}0028 \leq Y_{BA/S} \leq 0{,}1118$
7	$-0{,}7728 \leq k_6 \leq 0{,}8323$
8	$-0{,}0403 \leq Y_{B/S} \leq 0{,}3629$
9	$0{,}0049 \leq Y_{AA/S} \leq 0{,}1252$
10	$-0{,}9311 \leq k_9 \leq 0{,}1252$
11	$-0{,}0399 \leq Y_{A/S} \leq 0{,}1855$
12	$0{,}0093 \leq Y_{E/S} \leq 0{,}0262$
13	$-2{,}5875 \leq k_{14} \leq 2{,}7808$
14	$-2{,}0068 \leq k_{15} \leq 2{,}2355$
15	$3{,}0614 \leq K_S \leq 3{,}3493$
16	$-28{,}9374 \leq K_{AA} \leq 29{,}7323$
17	$-8{,}8492 \leq K_{BA} \leq 10{,}9303$

Dos parâmetros estimados, as faixas de confiança dos parâmetros 2, 3, 13, 14, 16 e 17 são bastante largas e contendo o valor zero, havendo grande indício de que estes parâmetros não são significativos para o modelo. Para os outros parâmetros, as faixas estreitas indicam um bom comportamento dos parâmetros.

As Figuras 12 a 18 mostram os perfis de concentração das respostas estimadas pelo modelo com os parâmetros estimados.

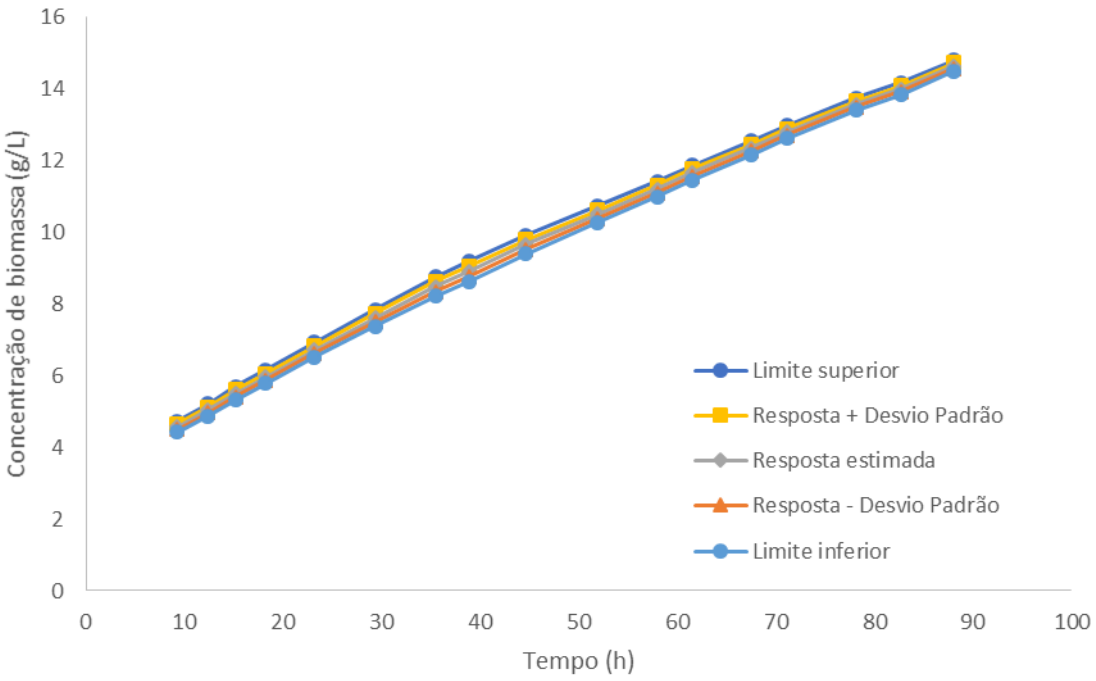


Figura 12 - Perfil estimado de concentração de biomassa com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

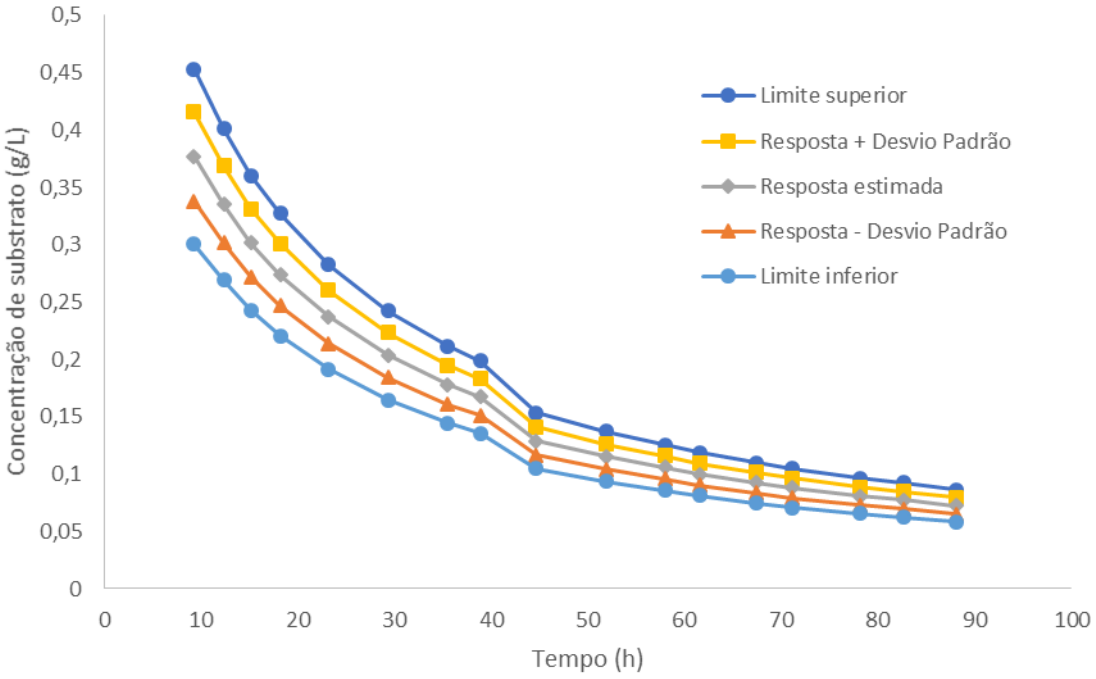


Figura 13 - Perfil estimado de concentração de substrato com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

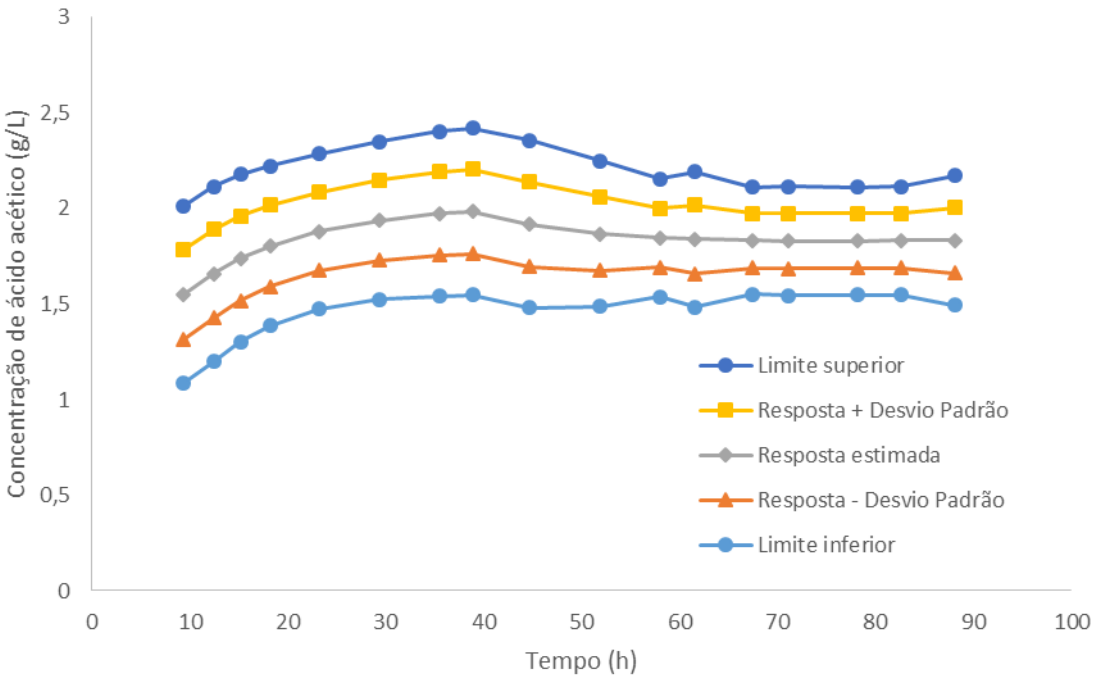


Figura 14 - Perfil estimado de concentração de ácido acético com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

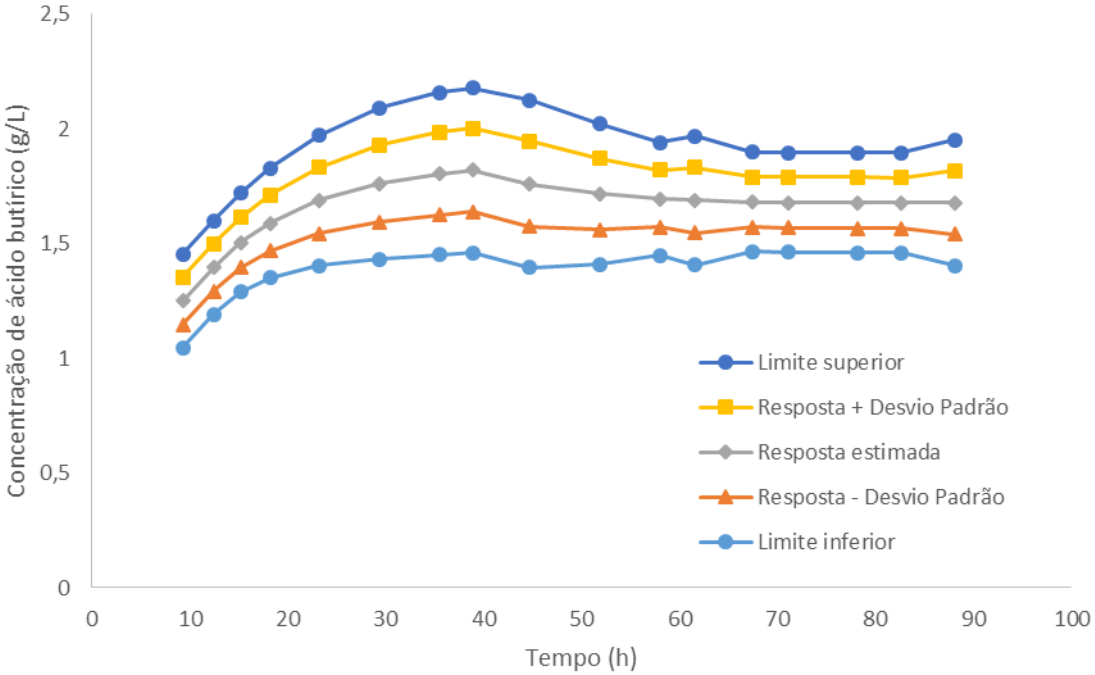


Figura 15 - Perfil estimado de concentração de ácido butírico com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

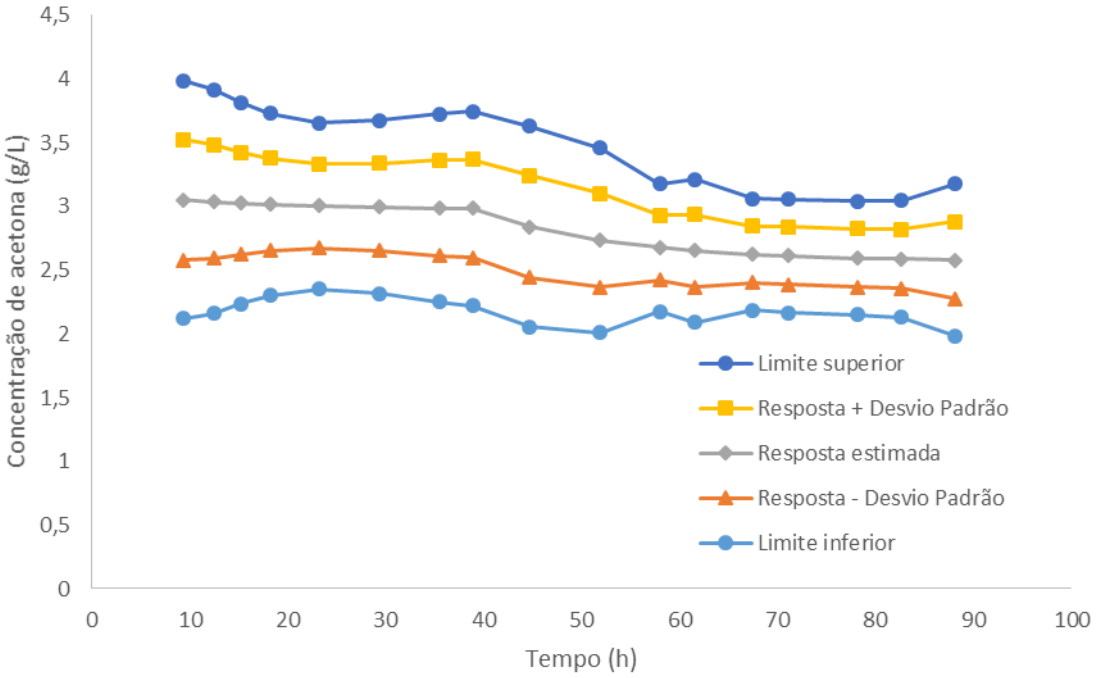


Figura 16 – Perfil estimado de concentração de acetona com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

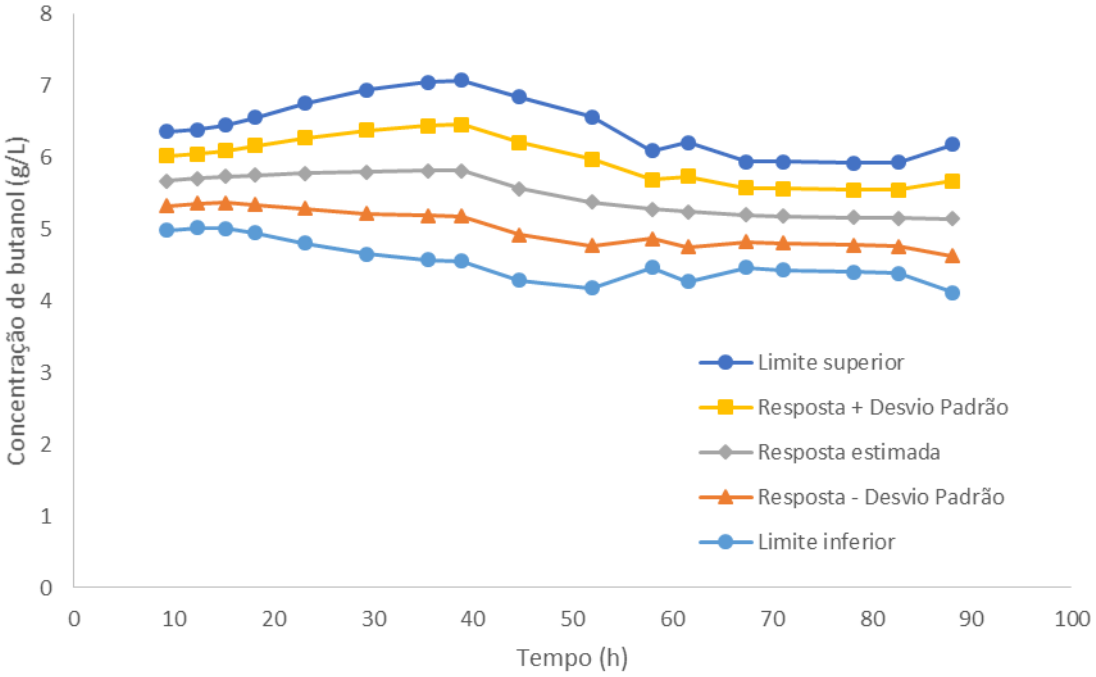


Figura 17 - Perfil estimado de concentração de butanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

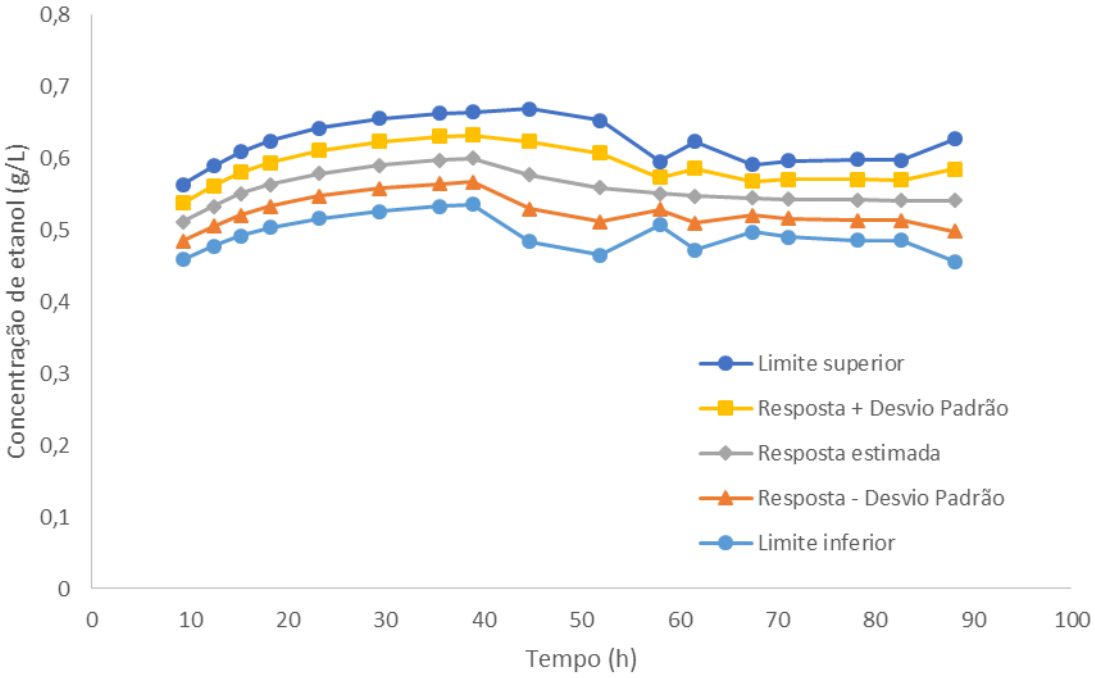


Figura 18 - Perfil estimado de concentração de etanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade

Considerando os intervalos de confiança em termos dos valores absolutos das respostas estimadas, os 7 perfis (Figuras 12 a 18) não apresentaram largas faixas de intervalos de confiança em torno do valor estimado, o que se apresenta como um resultado positivo.

A Tabela 10 apresenta o resultado do teste de significância dos parâmetros realizado através do teste F com 95% de probabilidade. O resultado do teste F identificou 8 parâmetros insignificantes para o modelo com 95% de probabilidade, considerando os desvios-padrão dos experimentos como 10% de suas grandezas. Dois parâmetros foram identificados como provavelmente insignificantes, $Y_{B/S}$ e $Y_{A/S}$, o que é inconsistente conhecendo o significado físico destes parâmetros, que representam o rendimento de produção de butanol e acetona em relação ao substrato e são fortes indicativos da performance do processo.

Tabela 10 - Resultado do teste de significância dos parâmetros estimados com 95% de probabilidade

Número do Parâmetro	Parâmetro	Valor para teste	Abscissa da distribuição F	Resultado
1	μ_{max}	110,3981	3,8961	Significante
2	k_1	1,743 x 10^{-4}	3,8961	Insignificante
3	k_2	5,576 x 10^{-4}	3,8961	Insignificante
4	$Y_{X/S}$	10,1117	3,8961	Significante
5	m	44,4632	3,8961	Significante
6	$Y_{BA/S}$	4,3046	3,8961	Significante
7	k_6	0,0054	3,8961	Insignificante
8	$Y_{B/S}$	2,4946	3,8961	Provavelmente insignificante
9	$Y_{AA/S}$	4,5595	3,8961	Significante
10	k_9	0,0096	3,8961	Insignificante
11	$Y_{A/S}$	1,6276	3,8961	Provavelmente insignificante
12	$Y_{E/S}$	17,2535	3,8961	Significante
13	k_{14}	0,0051	3,8961	Insignificante
14	k_{15}	0,0113	3,8961	Insignificante
15	K_S	1,931 x 10^{3}	3,8961	Significante
16	K_{AA}	7,153 x 10^{-4}	3,8961	Insignificante
17	K_{BA}	0,0431	3,8961	Insignificante

Desta forma, os 8 parâmetros não significantes foram removidos do modelo, os parâmetros remanescentes foram re-estimados e a análise estatística foi refeita para reavaliar a significância dos parâmetros restantes e os intervalos de confiança. A estrutura do modelo resultante após remoção desses parâmetros encontra-se no Apêndice A. A Tabela 11 apresenta o resultado da estimação dos parâmetros do novo modelo, doravante denominado Modelo Alternativo, onde os parâmetros estão renumerados para o novo modelo. As Figuras 19 a 26 apresentam os perfis de concentração obtidos com o Modelo Alternativo (9 parâmetros).

Tabela 11 - Resultado da estimação do Modelo Alternativo com 9 parâmetros

Número do Parâmetro	Parâmetro	Valor	Unidade
1	μ_{max}	0,3244	h^{-1}
2	$Y_{X/S}$	0,0538	g_{cel}/g_{subst}
3	m	0,0521	$g_{subst}/g_{cel}.h$
4	$Y_{BA/S}$	0,0541	g_{BA}/g_{subst}
5	$Y_{B/S}$	0,1688	g_{B}/g_{subst}
6	$Y_{AA/S}$	0,0582	g_{AA}/g_{subst}
7	$Y_{A/S}$	0,0854	g_{A}/g_{subst}
8	$Y_{E/S}$	0,0173	g_{E}/g_{subst}
9	K_S	2,8923	g/L

Tabela 12 - Intervalos de confiança do Modelo Alternativo com 9 parâmetros, com 95% de probabilidade

Número do Parâmetro	Intervalo de confiança
1	$0{,}2739 \leq \mu_{max} \leq 0{,}3749$
2	$0{,}0506 \leq Y_{X/S} \leq 0{,}0569$
3	$0{,}0389 \leq m \leq 0{,}0652$
4	$0{,}0481 \leq Y_{BA/S} \leq 0{,}0601$
5	$0{,}1486 \leq Y_{B/S} \leq 0{,}1890$
6	$0{,}0502 \leq Y_{AA/S} \leq 0{,}0661$
7	$0{,}0734 \leq Y_{A/S} \leq 0{,}0973$
8	$0{,}0161 \leq Y_{E/S} \leq 0{,}0185$
9	$2{,}8066 \leq K_S \leq 2{,}9781$

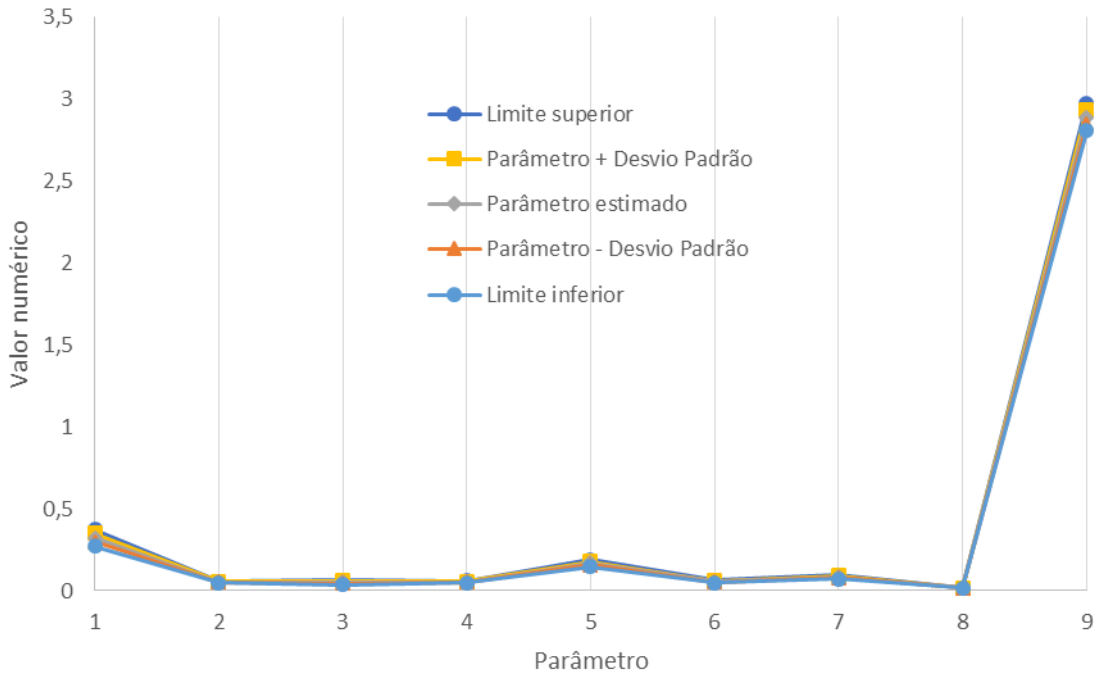


Figura 19 - Intervalos de confiança dos parâmetros estimados do Modelo Alternativo com 9 parâmetros com 95% de probabilidade

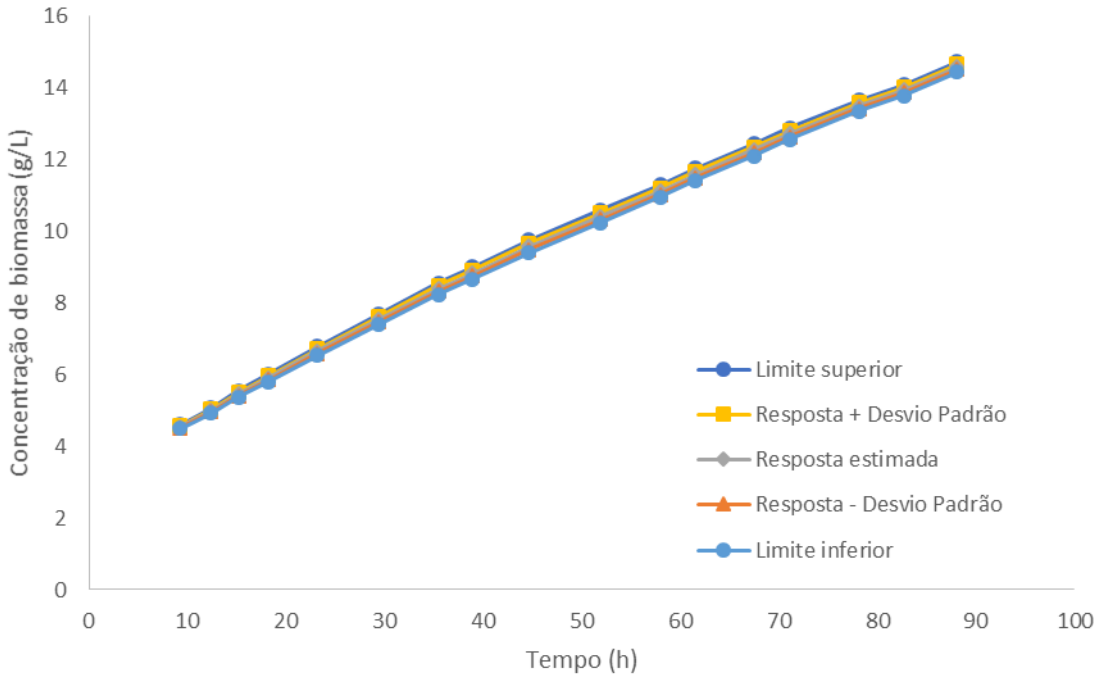


Figura 20 - Perfil estimado de concentração de biomassa com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

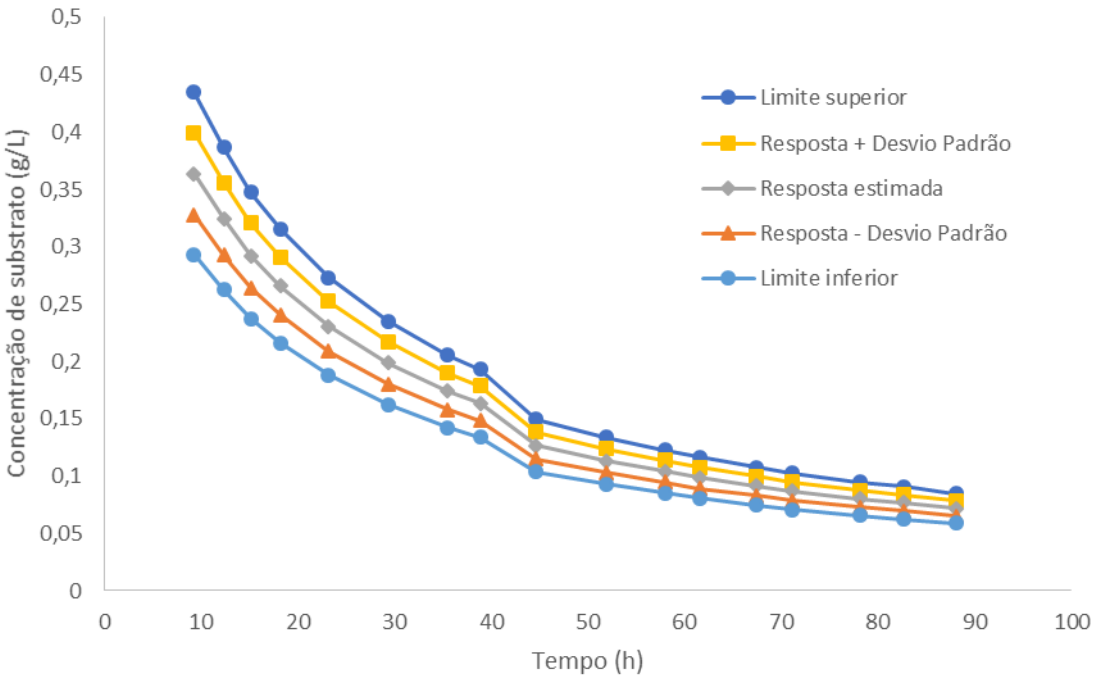


Figura 21 - Perfil estimado de concentração de substrato com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

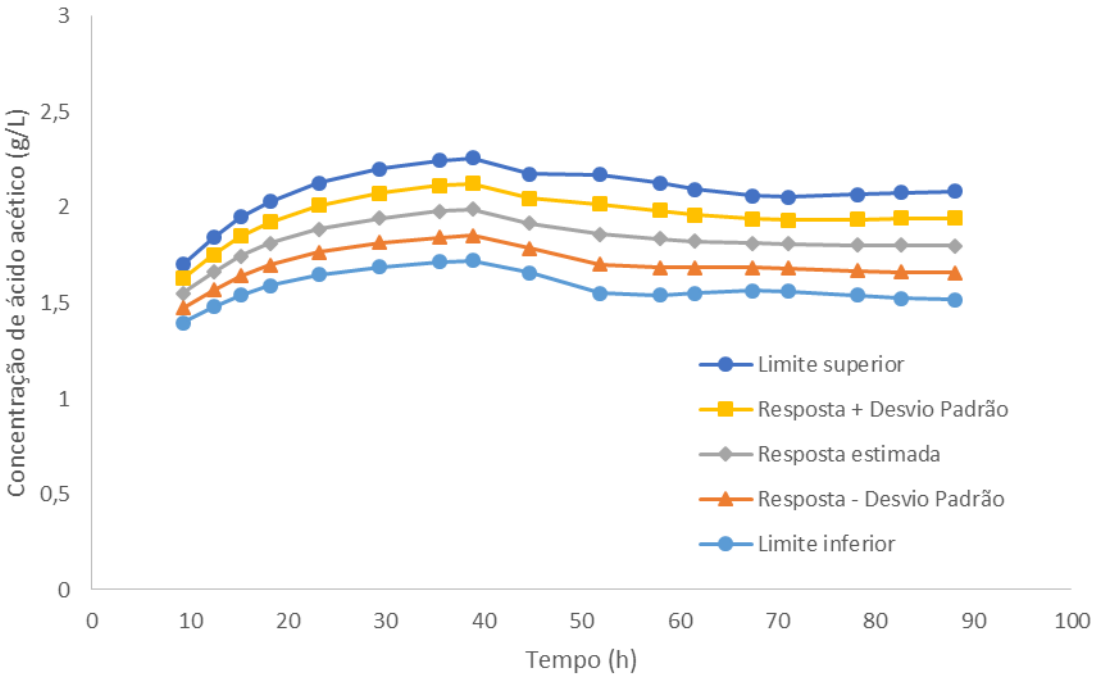


Figura 22 - Perfil estimado de concentração de ácido acético com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

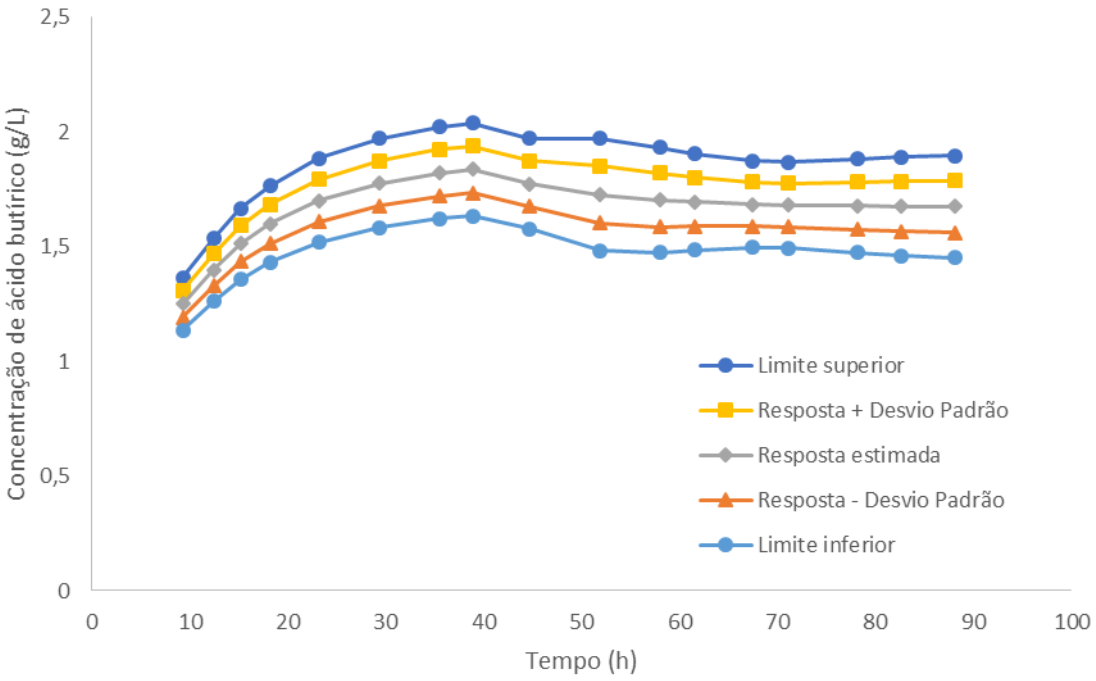


Figura 23 - Perfil estimado de concentração de ácido butírico com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

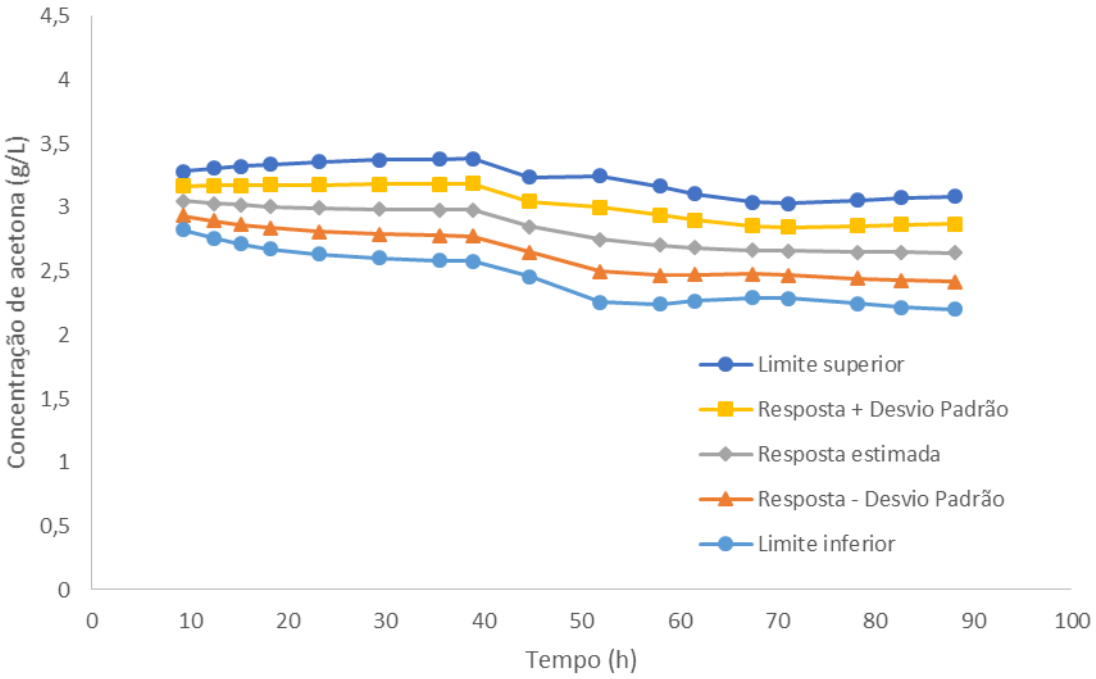


Figura 24 - Perfil estimado de concentração de acetona com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

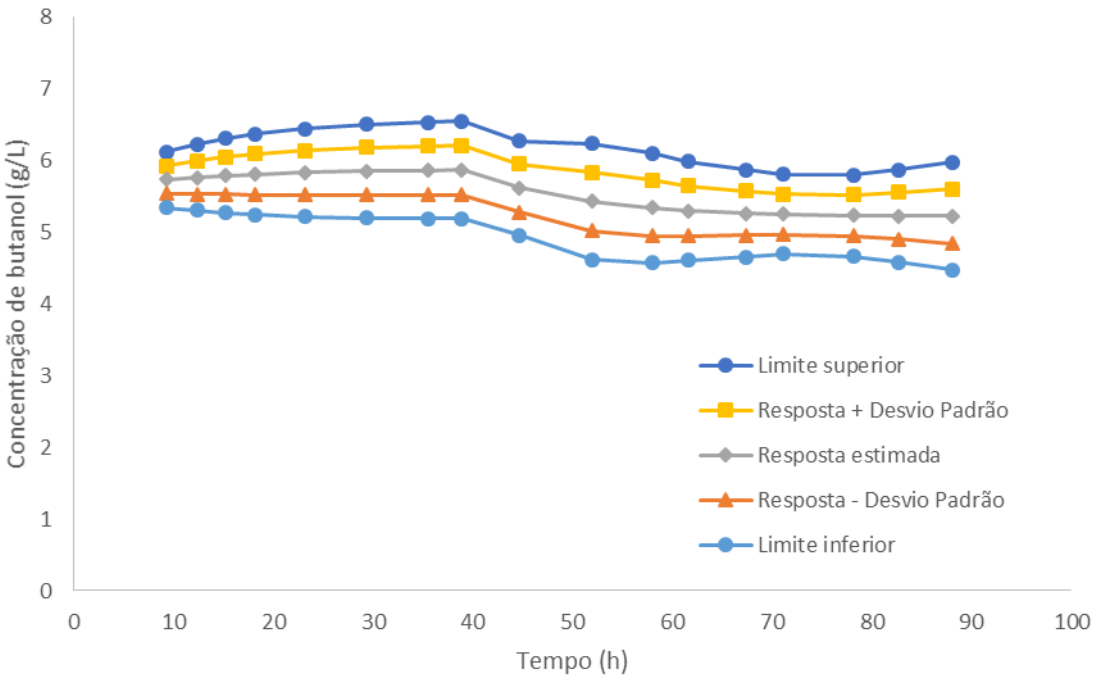


Figura 25 - Perfil estimado de concentração de butanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

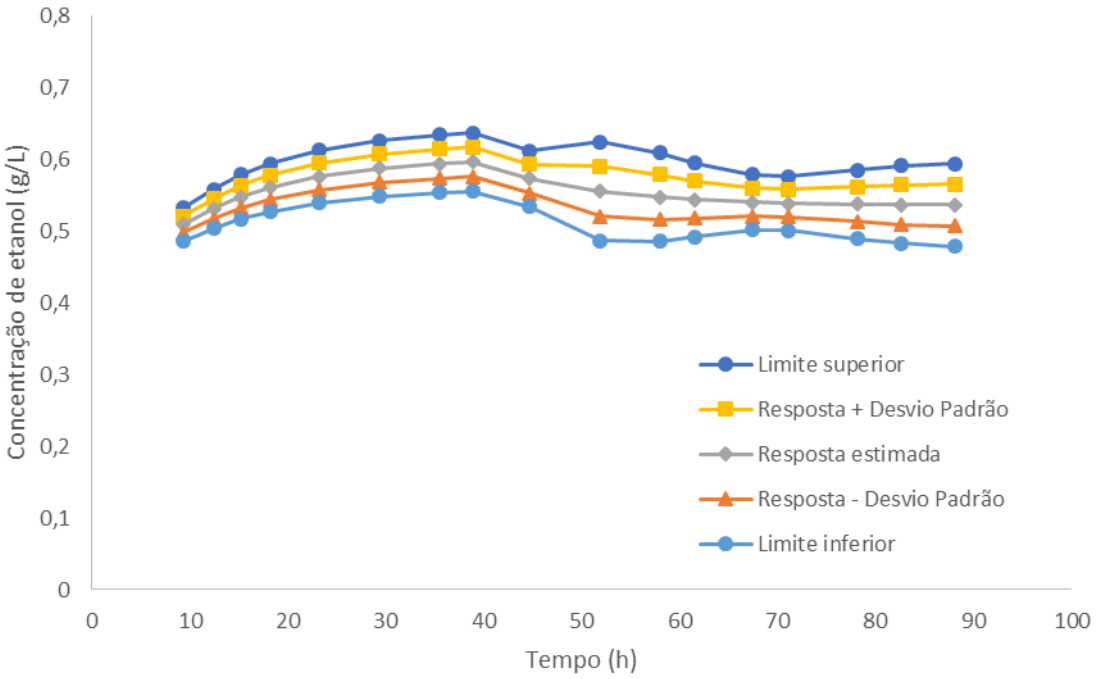


Figura 26 - Perfil estimado de concentração de etanol com intervalo de confiança de 95% de probabilidade para o Modelo Alternativo com 9 parâmetros

É possível perceber que os intervalos de confiança tanto dos parâmetros quanto das respostas estimadas se tornaram mais estreitos, o que é desejável e satisfatório, fazendo com que o modelo fique mais confiável. A Tabela 13 apresenta o resultado do teste de significância com o novo modelo.

Tabela 13 – Resultado do teste de significância dos parâmetros estimados para Modelo Alternativo com 9 parâmetros, insignificantes com 95% de probabilidade

Parâmetro	Valor para teste	Abscissa da distribuição F	Resultado
μ_{max}	160,776	3,8936	Significante
$Y_{X/S}$	1,119 x 10^3	3,8936	Significante
m	60,746	3,8936	Significante
$Y_{BA/S}$	313,904	3,8936	Significante
$Y_{B/S}$	271,948	3,8936	Significante
$Y_{AA/S}$	207,651	3,8936	Significante
$Y_{A/S}$	198,535	3,8936	Significante
$Y_{E/S}$	805,819	3,8936	Significante
K_S	4,430 x 10^3	3,8936	Significante

O resultado do teste de significância do Modelo Alternativo com 9 parâmetros resultou em todos os parâmetros significantes. Este resultado demonstra que o esforço para representar a utilização de energia necessária para reduzir os ácidos acético e butírico a acetona e butanol, respectivamente, é desnecessário. Além disso, a oportunidade de se representar o sistema com um modelo com menos parâmetros faz com que menos experimentos sejam necessários para estimá-los, diminuindo o esforço (custo e tempo) em bancada.

É importante ressaltar que esta análise foi realizada com dados experimentais provenientes de Mulchandani e Volesky (1986), adotando a premissa de que o desvio padrão dos experimentos é de 10% da ordem de grandeza do experimento. Esta análise seria mais rigorosa com um conjunto de experimentos associados aos seus desvios padrão reais. Porém, essa informação não estava disponível na referência.

4. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE DE VARIÁVEIS DE ENTRADA

No Capítulo 3, o teste F identificou parâmetros não significativos para o modelo estudado, o que pode significar que, computacionalmente, há oportunidade para simplificar o modelo de forma a minimizar o esforço computacional para resolvê-lo. Para aplicações de controle e automação, por exemplo, minimizar o esforço computacional é de fundamental importância para que as predições sejam rápidas e precisas o suficiente para uma tomada de decisão de um controlador.

Dessa forma, assumindo-se que o modelo escolhido e estudado (MULCHANDANI e VOLESKY, 1986) representa de forma fiel o biorreator contínuo de fermentação ABE, foi então assumido como uma planta virtual de produção de biobutanol. Seus resultados são considerados como experimentos *in silico* para avaliar o efeito de remoção gradual de parâmetros na capacidade preditiva dos fenômenos de utilização de substrato para energia até chegar ao Modelo Alternativo com 9 parâmetros resultante da análise estatística, diminuindo o número de respostas dadas pelo modelo (podendo reduzir, assim, o esforço computacional) e testando outras funções de inibição que possam melhor representar o fenômeno inibitório do ácido butírico e do butanol.

4.1. METODOLOGIA

O modelo estudado foi implementado em Mathematica® juntamente com os parâmetros regredidos. Para testar a representatividade das variações deste modelo, foram propostas perturbações em duas variáveis de entrada ao processo: a vazão de entrada (impactando diretamente na taxa de diluição) e a concentração inicial de substrato. As perturbações destas variáveis são discriminadas na Tabela 14 e ilustradas na Figura 27.

Foram considerados, em todos os experimentos, uma concentração inicial de substrato no interior do biorreator de 5,0 g/L e inóculo de 0,5 g/L. As variações propostas seguiram dois propósitos. O primeiro propõe a eliminação dos potenciais parâmetros não significativos ao modelo e uma modelagem alternativa para o efeito inibitório.

Tabela 14 - Perturbações realizadas para comparação dos modelos

Código	Concentração de substrato inicial (g/L)	Vazão de alimentação (m^3/h)
0	35	35,6
+1/0	50	35,6
-1/0	20	35,6
0/+1	35	66
0/-1	35	4

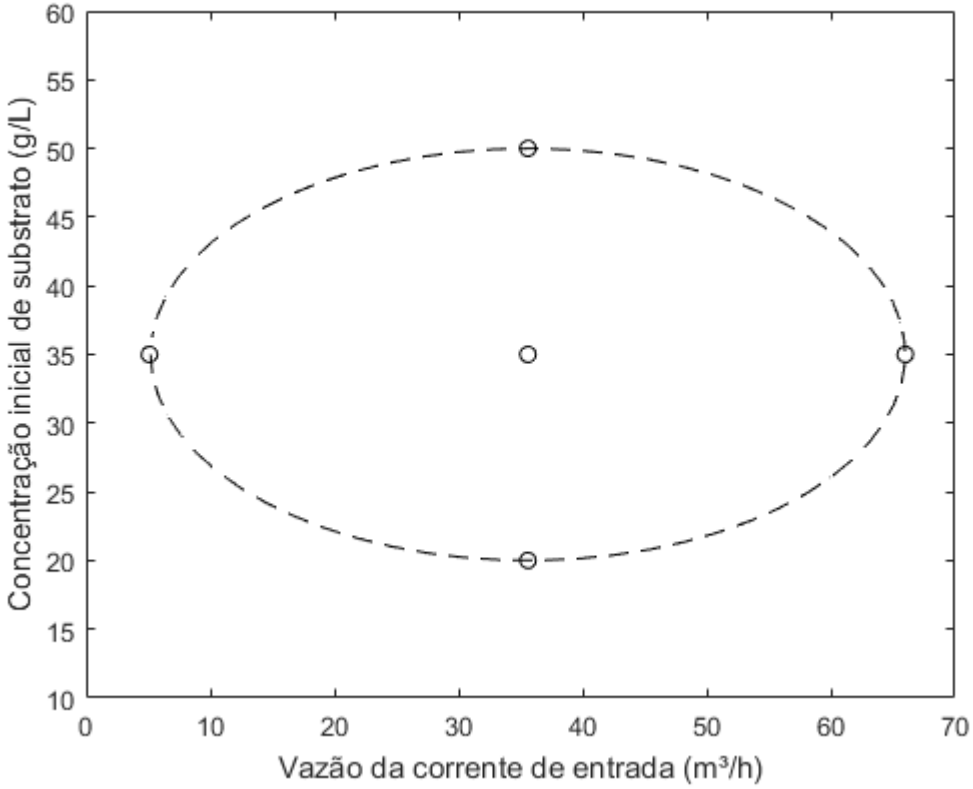


Figura 27 - Representação das perturbações realizadas para comparação dos modelos

Para isso, foram construídas quatro estruturas de modelo alternativas:

- As duas primeiras possuem a estrutura original descrita na seção 3.1, mas com a remoção de parâmetros que possam não ser significativos para o modelo. A primeira proposta possui 13 parâmetros (removendo k_1, k_2, k_{AA} e k_{BA}) e a segunda com 9 parâmetros (removendo, além dos parâmetros citados anteriormente, k_6, k_9, k_{14} e k_{15}).

- As outras duas estruturas propostas mantiveram os 17 parâmetros do modelo original, mas com diferentes funções de inibição consideradas. Uma estrutura considerou a função de inibição equacionada por Rochón et al (2017), que desconsideram a inibição por ácido butírico e afirma que a inibição predominante vem apenas do butanol (equação (64)) e, por fim, a última estrutura considera a função de inibição construída por Yang e Tsao (1994), que consideram as inibições isoladas pelos ácidos acético e butírico e por butanol, bem como pela interação entre estes componentes (equação (65)).

$$f(I) = \left(1 - \frac{B}{K_P}\right)^a \tag{64}$$

$$f(I) = 1 - \left(\frac{AA}{C_{maa}}\right)^{maa} - \left(\frac{BA}{C_{mba}}\right)^{mba} - \left(\frac{B}{C_{mb}}\right)^{mb} - m_1\left(\frac{AA}{C_{maa}}\right)^{maa} - m_2\left(\frac{BA}{C_{mba}}\right)^{mba}\left(\frac{B}{C_{mb}}\right)^{mb} \tag{65}$$

O segundo propósito propõe a remoção de equações diferenciais menos importantes do equacionamento, retendo apenas as mais importantes. Portanto, para cada uma das quatro alternativas de modelo, foram testadas as resoluções do sistema com 6 equações diferenciais (removendo a contribuição do ácido acético) e com 5 equações (removendo as contribuições dos dois ácidos). A remoção das Equações (29) e (30) dos modelos implica em representar os termos que dependem das concentrações destes ácidos como uma constante. Pela dinâmica do modelo original, é possível perceber que os termos dependentes das concentrações dos ácidos não variam significativamente ao longo do tempo, como mostram a Figura 28 para o ácido acético e a Figura 29 para o ácido butírico. Dessa forma, foi assumido, para estes termos, os valores constantes de 0,77 quando a equação diferencial referente ao ácido acético foi removida e 0,56 quando a do ácido butírico foi removida.

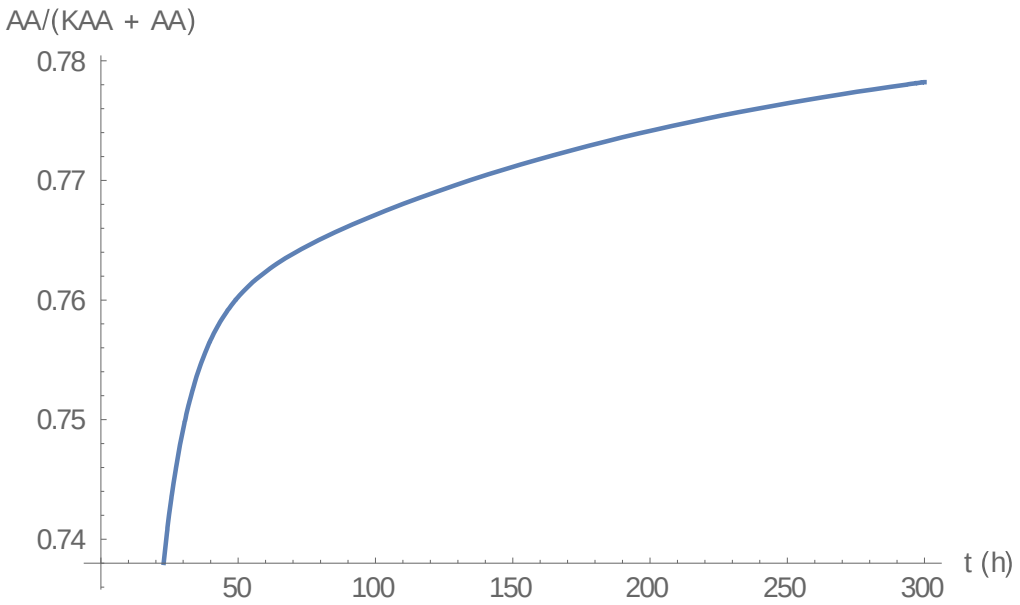


Figura 28 - Variação do termo dependente de ácido acético ao longo do tempo. AA = Concentração de ácido acético em g/L.

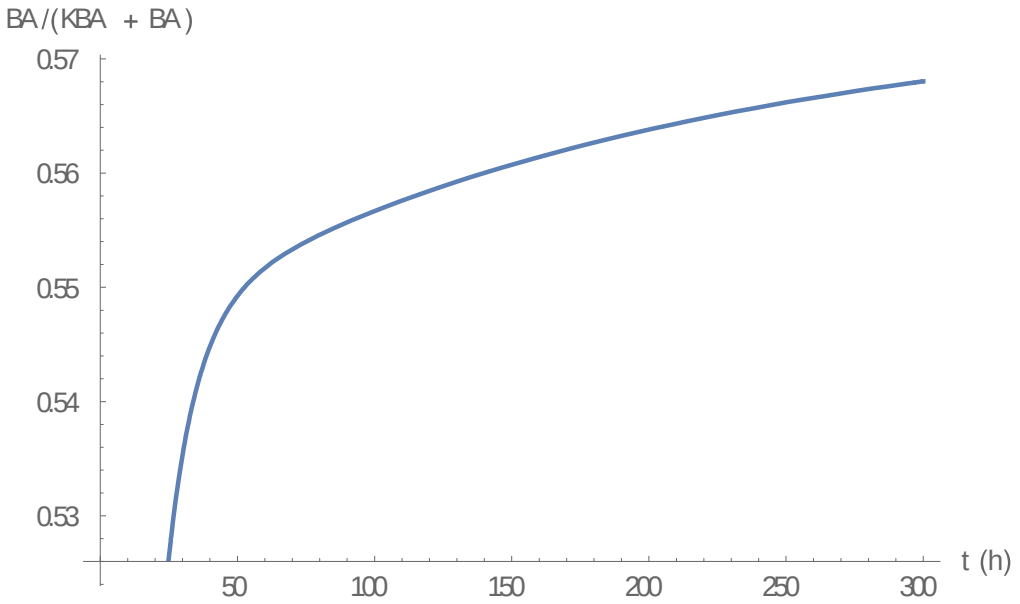


Figura 29 - Variação do termo dependente de ácido butírico ao longo do tempo. BA = Concentração de ácido butírico em g/L.

Para cada modelo alternativo proposto, os parâmetros foram regredidos com base nos dados *in silico*, da mesma forma como apresentado na Seção 3.2.1. Os parâmetros obtidos foram utilizados para calcular os perfis de concentração nas faixas sugeridas de concentração de substrato na corrente de alimentação e na taxa de diluição. A comparação entre as respostas obtidas com as alterações propostas e o

perfil base foi feita com o cálculo do quadrado do erro relativizado pelo número de graus de liberdade:

$$\frac{\frac{(perfil_{base}-perfil_{alternativo})^2}{perfil_{base}}}{NExNR-NP} \tag{66}$$

onde *NE* é o número de pontos experimentais, *NR* é o número de respostas do sistema e NP é o número de parâmetros do modelo analisado.

Visando a avaliação do esforço computacional necessário para resolver tanto o modelo original quanto as suas variações propostas, foi utilizado o comando interno ao Mathematica *AbsoluteTiming* para contar o tempo despendido pelo integrador do *software* para gerar os perfis previstos do sistema. Para minimizar possíveis variações do tempo de processamento devido a performance do processador do computador, foram realizadas 5000 integrações do sistema.

4.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram propostas remoções e alterações de modelo para avaliar as faixas mais adequadas de representação da cinética fermentativa pelos diferentes modelos. Os diferentes modelos e os coeficientes de correlação das respectivas regressões são discriminados na Tabela 15.

As Figuras 30 a 34 mostram os diagramas de comparação entre os diferentes modelos testados (Tabela 15) em cada caso de perturbação proposto. De todos os modelos avaliados, o modelo original com 13 parâmetros apresentou os maiores erros quadrados em todos os casos. Isto pode significar que, no modelo original, os parâmetros de ajuste retirados contribuem mais com a estrutura dos perfis das respostas. Isto é percebido com a previsão dos perfis de concentração para os ácidos e substrato do modelo de 13 parâmetros no caso 0/+1, que prevê valores irreais negativos, como mostrado na Figura 35 e na Figura 36.

Tabela 15 - Resumo dos modelos considerados para comparação e coeficientes de correlação

Nomenclatura dos modelos	Descrição
Modelo Original	Modelo descrito por Mulchandani e Volesky (1986)
Modelo Alternativo com 13 parâmetros	Remoção dos parâmetros k_1, k_2, k_{AA} e k_{BA} do modelo original
Modelo Alternativo com 9 parâmetros	Remoção dos parâmetros k_1, k_2, k_{AA}, k_{BA}, k_6, k_9, k_{14} e k_{15} do modelo original
Inibição de Rochón et al (2017)	Utilização da função de inibição descrita pela Equação (64) no lugar da Equação (13).
Inibição de Yang et al (1994)	Utilização da função de inibição descrita pela Equação (65) no lugar da Equação (13).

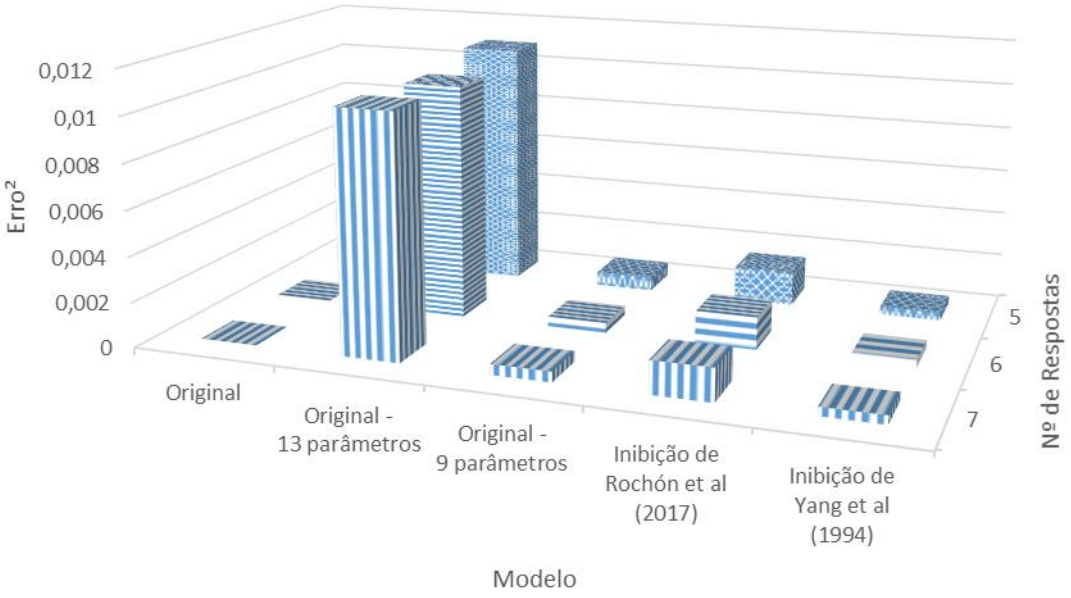


Figura 30 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0

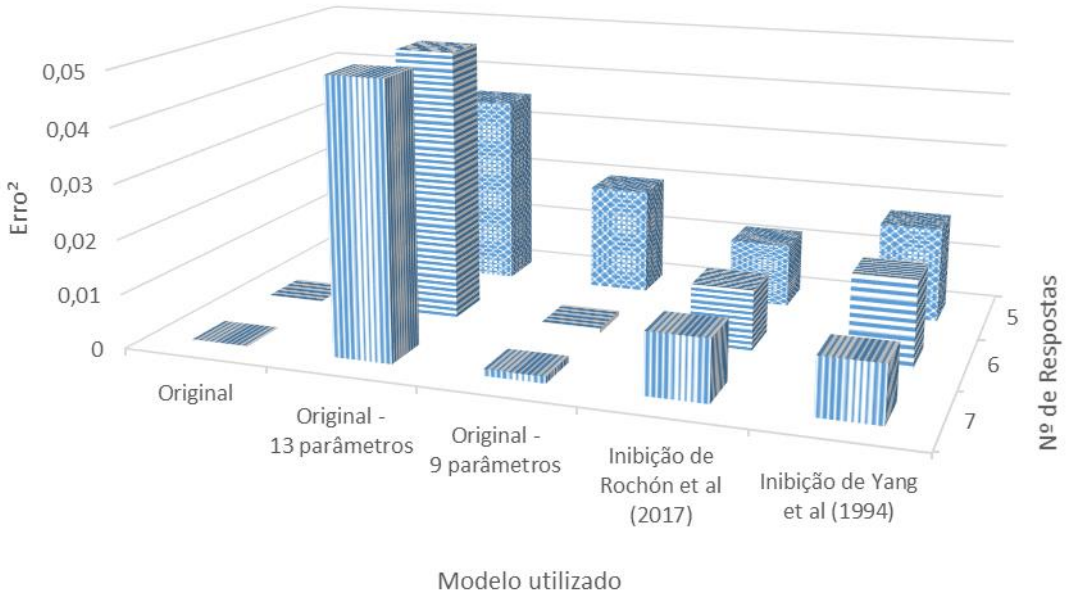


Figura 31 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso +1/0

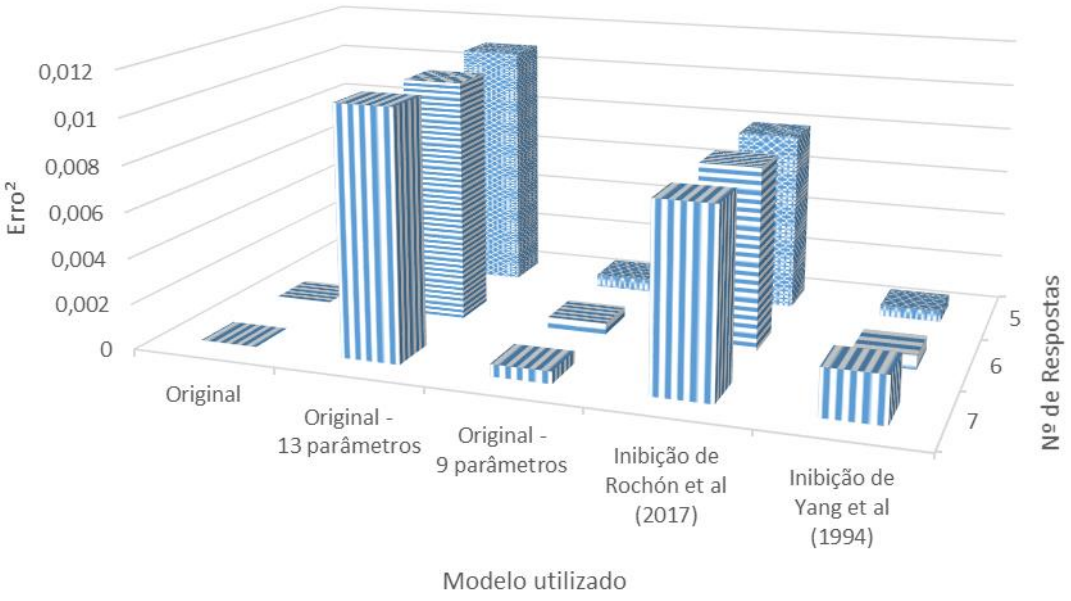


Figura 32 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso -1/0

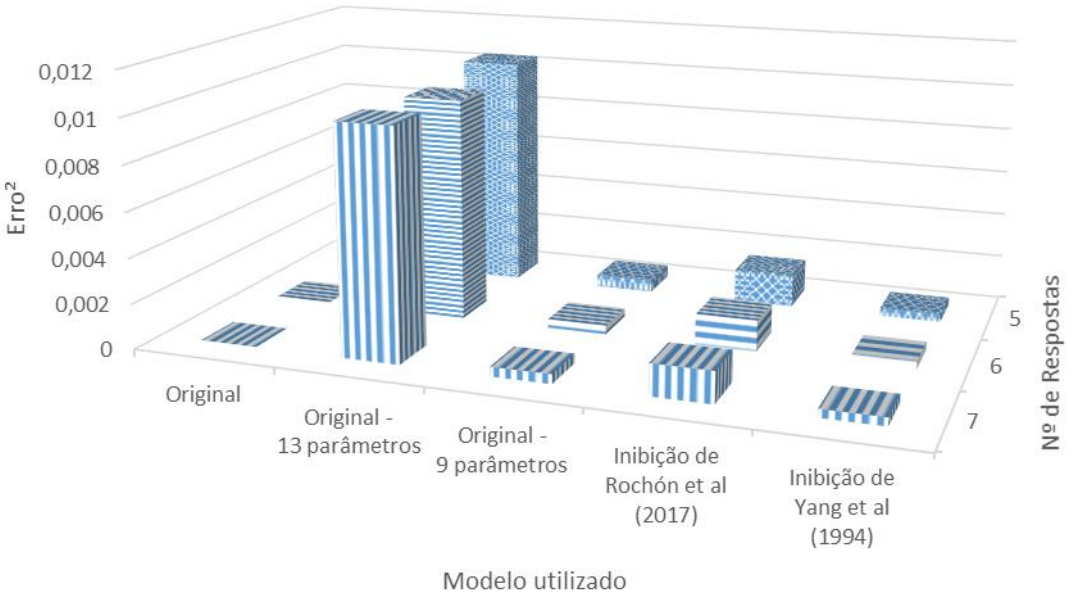


Figura 33 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0/+1

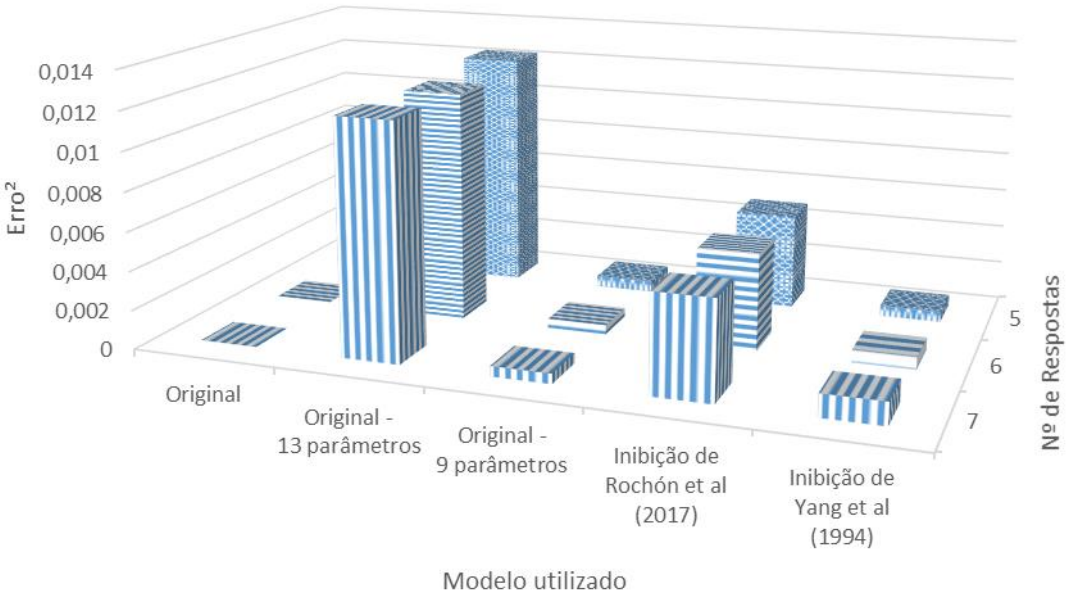


Figura 34 - Soma dos quadrados dos erros dos modelos propostos - Caso 0/-1

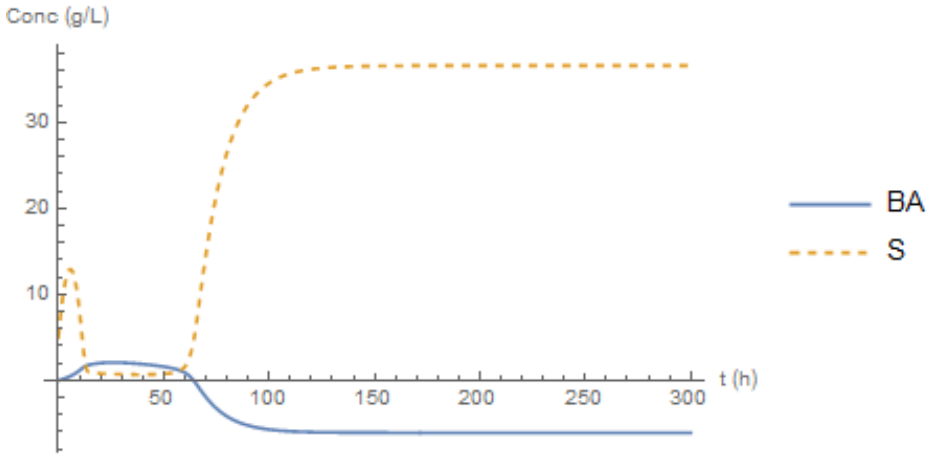


Figura 35 - Previsão do perfil de ácido butírico e substrato do modelo com 13 parâmetros (Caso 0/+1). BA = Acido Butírico, S = Substrato.

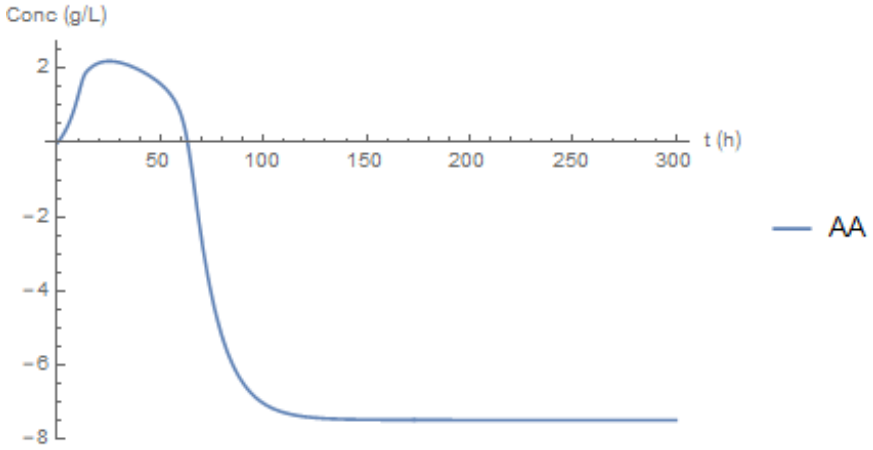


Figura 36 - Previsão do perfil de ácido acético do modelo com 13 parâmetros (Caso 0/+1). AA = Ácido Acético.

Dentro da região investigada, o Modelo Alternativo com 9 parâmetros (resultado do Capítulo 3) se apresentou como os menores erros relativos ao original no **caso 0**, indicando que, dependendo da tolerância na aplicação desejada, este modelo é preciso nas previsões dos perfis de concentração. As propostas de modelos com funções de inibição alternativa se mostraram com erros quadrados relativos baixos, se mostrando adequados para representar o sistema dentro da região avaliada.

Dentre os casos com maiores erros, o **caso +1/0** se destaca. Isto pode ocorrer devido a limitações do modelo identificadas por Mulchandani e Volesky (1986) de que, para valores de concentração inicial de substrato acima de 52 g/L, não há estado estacionário para este processo. No **caso +1/0**, pelo valor de concentração de

alimentação de substrato estar próximo deste limite identificado, o modelo pode apresentar dificuldades de predição, podendo aumentar os erros. É possível destacar, também, o aumento do erro da melhor variação identificada (o Modelo Alternativo com 9 parâmetros) neste caso. Nos casos mais próximos ao limite da concentração inicial de substrato, a variação da concentração de substrato de ácido butírico pode ser significante para o modelo e a remoção desta resposta pode diminuir a precisão das previsões.

A Figura 37 mostra a superfície que compara os tempos de processamentos dos modelos, avaliados no **caso 0**.

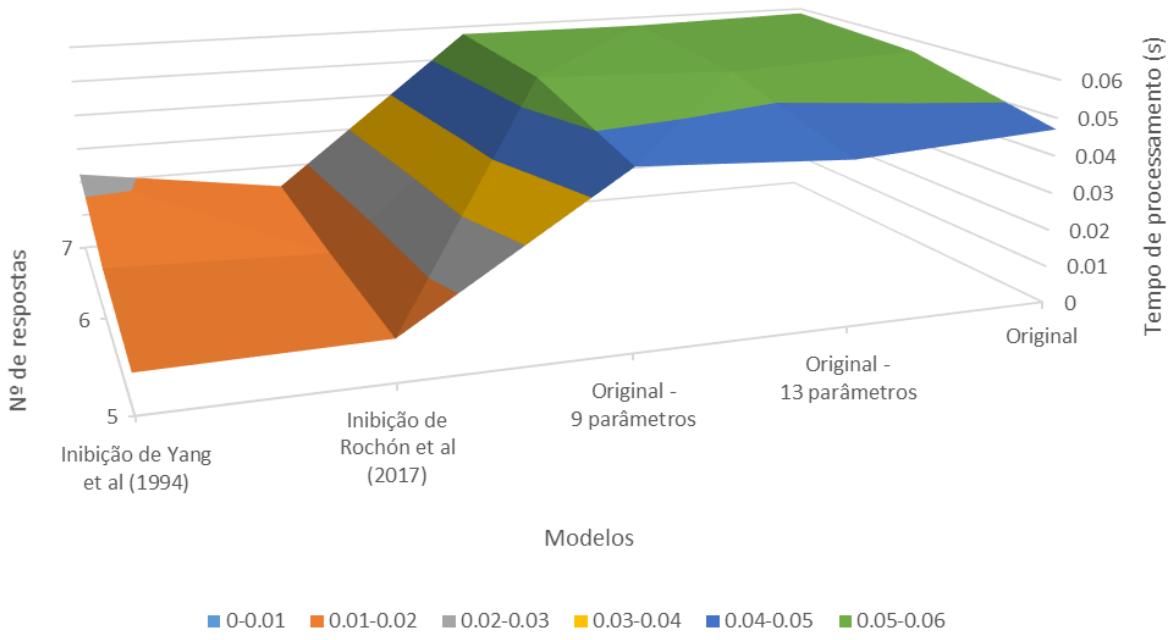


Figura 37 - Comparação entre os tempos de processamento dos diferentes modelos

Como esperado, a remoção de equações diferenciais do modelo e, consequentemente, a retirada de respostas do modelo causa redução no tempo de processamento. Isso faz com que, dentro da região avaliada dos erros quadrados, o Modelo Alternativo com 9 parâmetros se apresenta como um modelo adequado à previsão dos perfis de concentração do sistema.

É possível perceber, também, que os modelos com função de inibição alternativa possuem tempo de processamento cerca de um terço do tempo do modelo original e de suas variações com retirada de parâmetros. Isto pode ser ocasionado

pelo tipo de função de inibição do modelo original, que possui uma forma por partes, como escrita pela Equação (13). As funções de inibição alternativa parecem ter um efeito maior para reduzir o tempo de processamento comparado à remoção de parâmetros.

Dessa forma, o modelo com a função de inibição desenvolvida por Yang e Tsao (1994) também se apresenta como um modelo adequado para representar o sistema com menores desvios com relação ao modelo original. Ele possui erros quadrados similares ao Modelo Alternativo com 9 parâmetros, exibindo um terço do tempo de processamento, tendo potencial para aplicações de controle avançados, como métodos de controle preditivos, que necessitam a predição de forma ágil da concentração dos componentes para atuação em elementos de controle.

5. SIMULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ABE EM ASPEN PLUS®

5.1. METODOLOGIA

A cinética fermentativa de produção de biobutanol foi simulada em Aspen Plus® V10, que conta com recurso de implementação de equações customizadas de reações cinéticas. Foi considerado o processo com entrada e remoção de células e uma operação de *flash* para representar a saída líquida do mosto fermentativo e do gás de exaustão do biorreator. O fluxograma construído é mostrado na Figura 38.

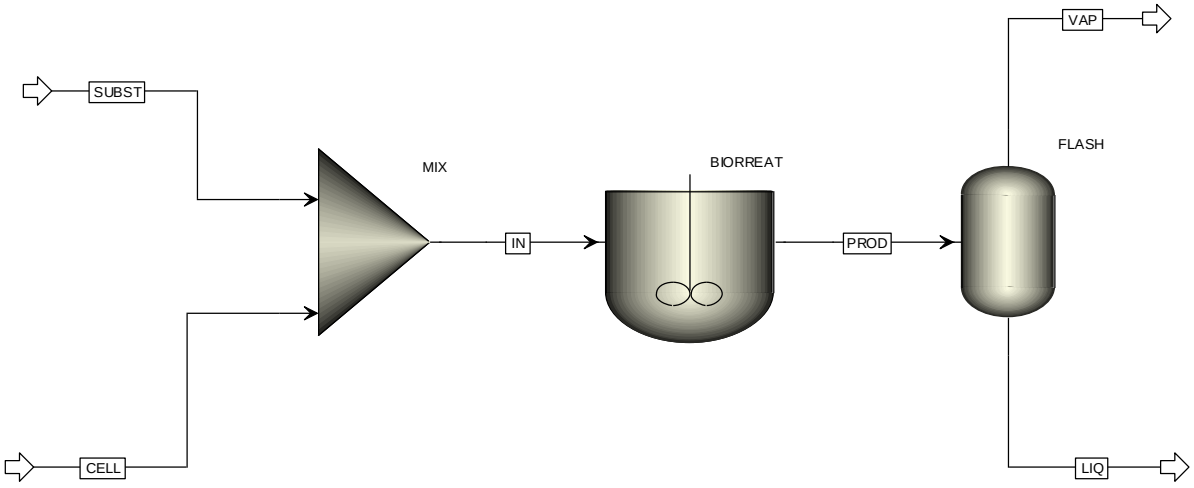


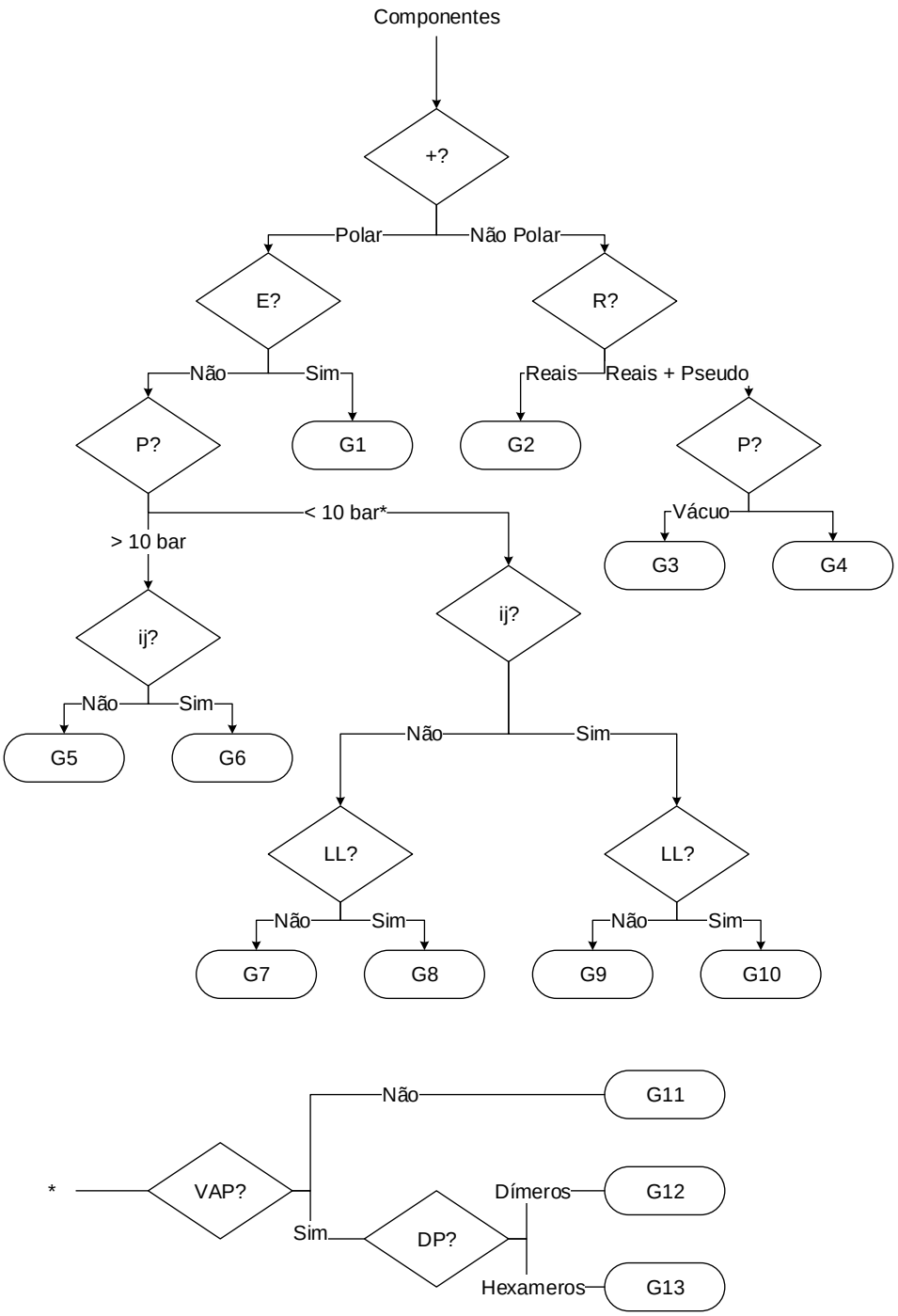
Figura 38 - Fluxograma da simulação da fermentação ABE

Os componentes necessários para a simulação foram inseridos a partir da base de dados do *software*. A representação da biomassa foi feita com a adição de um componente sólido com as propriedades inseridas manualmente como descritas por Wooley e Putsche (1996), pois não existe um componente apropriado na base de dados do simulador para representa-la. A Tabela 16 mostra os componentes utilizados da base de dados.

Tabela 16 - Tabela de componentes utilizados para a simulação do reator ABE

Component ID	Tipo	Nome do componente	*Alias*
WATER	*Conventional*	WATER	H2O
BIOMASS	*Solid*	-	-
GLUCOSE	*Conventional*	DEXTROSE	C6H12O6
AA	*Conventional*	ACETIC-ACID	C2H4O2-1
BA	*Conventional*	N-BUTYRIC-ACID	C4H8O2-1
A	*Conventional*	ACETONE	C3H6O-1
B	*Conventional*	N-BUTANOL	C4H10O-1
E	*Conventional*	ETHANOL	C2H6O-2
CO2	*Conventional*	CARBON-DIOXIDE	CO2
H2	*Conventional*	HYDROGEN	H2
NH3	*Conventional*	AMMONIA	H3N

Com base na Figura 39 e na Tabela 17, o pacote termodinâmico escolhido foi o NRTL, que conta com a disponibilidade dos parâmetros binários dos pares de componentes para previsão do coeficiente de atividade para a fase líquida e utiliza o modelo de gás ideal para a fase gasosa. O bloco utilizado para representar o biorreator foi o RCSTR, reator contínuo de mistura perfeita, que simula a cinética de um conjunto de equações químicas predeterminadas. A Tabela 18 apresenta a especificação do bloco, considerando a temperatura ótima de crescimento microbiano e a taxa de diluição do processo de 0,1 h^{-1}.



Legenda: +? – Polaridade dos componentes?; E? - Presença de eletrólitos?; R? - Componentes reais ou pseudocomponentes?; P? - Pressão?; ij? - Parâmetros de interação disponíveis?; LL? - Separação líquido-líquido?; VAP? - Associação da fase vapor?; DP? - Grau de polimerização?; Gx - Grupo x de modelos indicados

Figura 39 - Árvore de decisão para a escolha do pacote de propriedades termodinâmicas (adaptado de CARLSON, 1996)

Tabela 17 - Grupos de modelos termodinâmicos referenciados na árvore de decisão do pacote de propriedades termodinâmicas

Grupo	Modelos indicados
1	NRTL com eletrólitos
2	Peng-Robinson, Redlich-Kwong-Soave, Lee-Kesler-Plocker, Peng-Robinson/Redlich-Kwong-Soave com modificação de Boston-Mathias
3	Braum K10, Gases ideais
4	Chaos-Seader, Braum K10, Grayson-Streed
5	Modelos preditivos: Redlich-Kwong-Soave Preditivo com ou sem modificação de Huron-Vidal
6	Peng-Robinson/RedlichKwong-Soave com as modificações de Huron-Vidal ou Wong-Sandler, Schwartzenruber-Renon
7	UNIFAC com ou sem modificação de Lingby ou Dortmund
8	UNIFAC para sistemas líquido-líquido
9	Wilson, NRTL, UNIQUAC e suas variações (ver 11, 12, 13)
10	NRTL, UNIQUAC e suas variações (ver 11, 12, 13)
11	Modificações de Lingby ou Dortmund para UNIFAC, Redlich-Kwong associado a NRTL ou UNIQUAC, especificar entalpia de referência para Wilson
12	Utilizar modificações de Hayden O'Connell ou Nothnagel
13	Wilson com modelo de hexamerização

Tabela 18 - Especificação do bloco RCSTR

Especificação	Valor
Temperatura	37 °C
Pressão	1 bar
Volume	1000 L

O conjunto de reações foi especificado na aba *Reactions* como *General Type*. O modelo escolhido para representar a cinética da fermentação ABE foi o Modelo Alternativo com 9 parâmetros (resultado do Capítulo 3). As equações de taxa deste modelo foram vinculadas a equações estequiométricas de consumo de substrato (considerado, para esta simulação, como glicose) para a produção dos compostos da

fermentação, bem como a geração de biomassa. A Tabela 19 apresenta as equações estequiométricas de consumo de glicose.

Tabela 19 - Reações estequiométricas da fermentação ABE (Fonte: VAN DER MERWE, 2010)

Reação	Equação estequiométrica
Biomassa	$C_6H_{12}O_6 + 1{,}1429\ NH_3 \rightarrow 5{,}7143\ CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2} + 0{,}2857\ CO_2 + 2{,}5714\ H_2O$
Ácido acético	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3\ C_2H_4O_2$
Ácido butírico	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_8O_2 + 2\ CO_2 + 2\ H_2$
Acetona	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow C_3H_6O + 3\ CO_2 + 4\ H_2$
Butanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_{10}O + 2\ CO_2 + H_2O$
Etanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ C_2H_6O + 2\ CO_2$

Cada equação estequiométrica foi declarada com sua cinética como *Custom*, que tem sua equação de taxa representada da seguinte forma:

$$r = [Fator\ cinético] * [Força\ motriz] * [Termo\ customizado] \tag{67}$$

onde o fator cinético é definido pela equação de Arrhenius:

$$[Fator\ cinético] = ke^{-E/_{RT}} \tag{68}$$

onde k é a taxa específica de velocidade, E é a energia de ativação, R é a constante universal dos gases ideais e T é a temperatura. A força motriz é definida como:

$$[Força\ motriz] = \prod_i [C_i]^{\alpha_i} \tag{69}$$

onde C_i são os compostos participantes da reação e α_i são suas respectivas ordens de reação. Por fim, o termo customizado é representado pelas equações escritas no próprio simulador. Assim, como *input*, foi declarado no simulador os valores $k = 1$, $E = 0$ e $\alpha_i = 0$ para cada composto i de forma que os termos referentes ao fator

cinéticos e força motriz sejam iguais a 1. A cinética de cada equação estequiométrica, então, é representada apenas pelo termo customizado.

É importante ressaltar que na equação estequiométrica de produção de biomassa, o componente NH_3 não está realmente presente no processo. Este componente foi utilizado para representar de forma aproximada a fonte de nitrogênio do meio de cultura, necessária para o crescimento do micro-organismo. Para a simulação de uma unidade completa de produção, a quantidade de NH_3 presente na corrente de entrada deve ser apenas suficiente para que a cinética ocorra, de forma que não esteja presente nas áreas subsequentes de separação e purificação e não impacte em seus balanços.

As telas de especificação das reações e taxas são mostradas no Apêndice C.

5.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A cinética da produção de biobutanol através de fermentação ABE foi equacionada e simulada em Aspen Plus® em estado estacionário. A dinâmica do mesmo biorreator foi avaliada em Mathematica. As Figuras 40 a 43 mostram a dinâmica do biorreator considerando o modelo utilizado com 9 parâmetros.

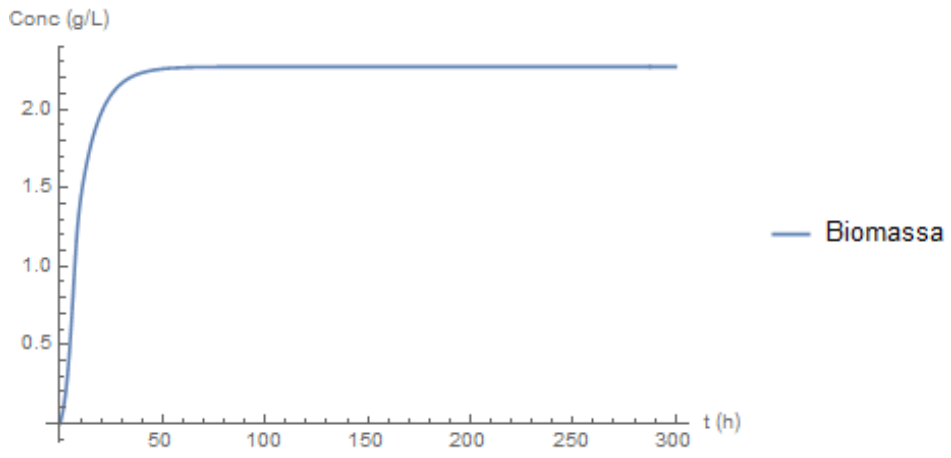


Figura 40 - Perfil de concentração de biomassa do biorreator simulado

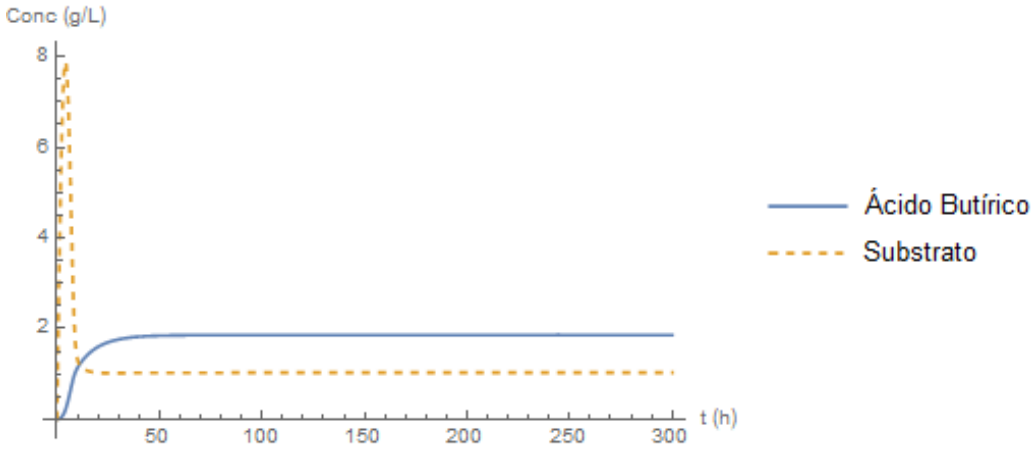


Figura 41 - Perfil de concentração de ácido butírico e substrato do biorreator simulado

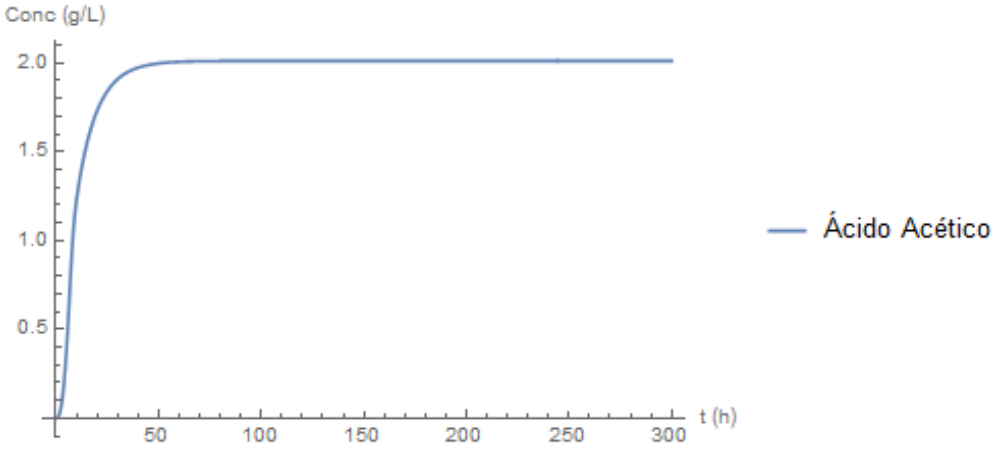


Figura 42 - Perfil de concentração de ácido acético do biorreator simulado

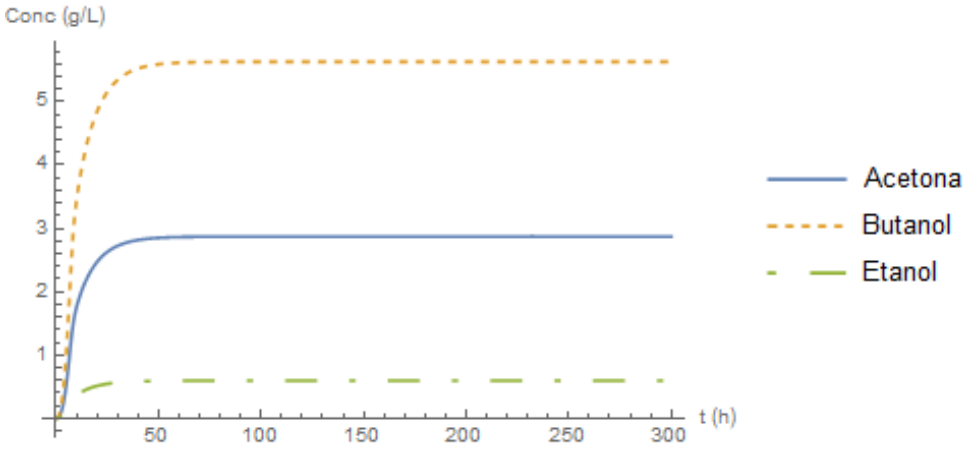


Figura 43 - Perfil de concentração de acetona, butanol e etanol do biorreator simulado

A Tabela 20 mostra o resultado da simulação com as equações implementadas como termos customizados.

Tabela 20 - Resultado da simulação com as taxas customizadas implementadas

Componente	Concentração mássica na corrente de entrada (g/L)	Concentração mássica na corrente de saída (g/L)
Biomassa	0,49	0,49
Substrato	34,98	34,98
Ácido acético	0	0
Ácido butírico	0	0
Acetona	0	0
Butanol	0	0
Etanol	0	0

O resultado da simulação discriminado na Tabela 20 mostra que a cinética das reações estequiométricas não foi calculada, evidenciada pelo fato de que o substrato não foi consumido e os produtos se mantiveram com concentração de 0 g/L. Dentre algumas tentativas graduais para compreender como as contas do programa são realizadas (como a implementação uma a uma das equações de taxas e adição gradual de parâmetros) para tentar encontrar o problema, foi testada a remoção do termo de concentração de biomassa da equação de crescimento celular, chegando no resultado mostrado na Tabela 21.

Este resultado, apesar de valores irreais, porém esperados já que o modelo estava implementado de forma incompleta, mostra que o termo de concentração de biomassa estava impedindo o cálculo da cinética das equações. Esta identificação motivou um contato com o suporte técnico do *software* e constatou-se que há um erro no código do simulador que impede a obtenção do valor correto de componentes sólidos neste novo recurso da versão 10, retornando sempre um valor zero. Foi informado, ainda, que este erro seria consertado no novo *patch* a ser lançado, ainda sem data definida. O contato com o suporte oferecido pela Aspentech para a resolução deste problema está transcrito no Apêndice D.

Tabela 21 - Resultados da simulação removendo o termo de concentração de biomassa dos termos customizados.

Componente	Concentração mássica na corrente de entrada (g/L)	Concentração mássica na corrente de saída (g/L)
Biomassa	0,49	0,31
Substrato	34,98	0,02
Ácido acético	0	0,41
Ácido butírico	0	0,18
Acetona	0	0,19
Butanol	0	0,49
Etanol	0	0,06

Como alternativas a este problema ainda existente nesta versão, algumas formas para a implementação da cinética customizada no simulador pode ser considerada. É possível a utilização do *software* integrado ao pacote Aspen Custom Modeler, que permite a construção de blocos de operação unitária customizadas e integração com o Aspen Plus. É também possível a integração através do Microsoft Excel diretamente ao Aspen Plus, que permite, assim, a comunicação com outros programas como MATLAB para cálculos de otimização (HERNANDÉZ e CASTRO, 2017).

6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e análise de um modelo matemático da cinética de produção de biobutanol através da fermentação ABE para sua implementação em Aspen Plus. Esta implementação permitiria a simulação rigorosa do processo fermentativo e cálculo de balanços de massa e energia para a avaliação técnica e econômica do processo. Além disso, esta implementação pode possibilitar o estudo de otimizações e identificação de oportunidades e metas de pesquisa para tornar esta rota de produção viável economicamente.

O modelo utilizado para estudo e implementação foi escolhido por ser amplamente utilizado na literatura, por não envolver compostos metabólicos em sua modelagem e por representar um processo contínuo, facilitando sua implementação em Aspen Plus, que é um *software* de simulação estático e contínuo. O modelo representa a inibição do crescimento microbiano como uma função da concentração de butanol e ácido butírico e admite que a taxa de consumo de substrato é função da taxa de crescimento celular, do termo de manutenção energética e do consumo de energia necessária à célula para reduzir os ácidos gerados na fase acidogênica aos solventes. A análise estatística realizada com dados cinéticos de Mulchandani e Volesky (1986) chegou à conclusão de que os parâmetros referentes à modelagem deste fenômeno de consumo de substrato não são significativos para o modelo. Além disso, parâmetros importantes que representam a performance do processo foram identificados como provavelmente insignificantes. Removendo-se os parâmetros não significativos e refazendo a análise estatística do modelo, os intervalos de confiança dos parâmetros com 95% de probabilidade se mostraram estreitos, assim como o intervalo de confiança dos perfis de concentração, mostrando que, para este sistema, o modelo com 9 parâmetros se apresenta como um modelo que necessita de menos pontos experimentais para a determinação de seus parâmetros.

Para avaliar a representatividade e a capacidade de extrapolação de diferentes alternativas do modelo original, uma análise de sensibilidade de variáveis de entrada foi realizada. As variáveis de entrada escolhidas para serem perturbadas foram a vazão de alimentação e concentração inicial de substrato. Foram propostas reduções graduais no número de parâmetros do sistema, na função de inibição utilizada e no número de respostas estimadas do modelo matemático do biorreator. Como esperado, o modelo com 9 parâmetros apresentou os menores erros relativos ao

modelo original, corroborando o resultado da análise estatística. O modelo com 13 parâmetros não foi capaz de representar o sistema com concentração de 50 g/L, apresentando resultados irreais, como concentrações negativas de substrato.

Avaliou-se, ainda, o tempo de processamento dos modelos considerados. O modelo com a função de inibição de Yang se apresentou com o menor tempo requerido para resolução matemática. Em aplicações nas quais são necessárias rapidez na resolução das equações diferenciais, como em estratégias de controle preditivo, este modelo possui grande potencial de utilização. Sua desvantagem é o aumento da quantidade de parâmetros do modelo, necessitando um alto número de pontos experimentais temporais para suas estimações.

Com relação à simulação em Aspen Plus, foi identificada uma falha na estrutura de código do *software*, que está com falha na manipulação de concentração de componentes sólidos. Este problema é evidente quando as equações das taxas cinéticas são implementadas, já que são dependentes da concentração de biomassa no sistema, que é declarada como componente sólido. O contato com o suporte técnico do Aspen Plus confirmou o problema e afirmou que um conserto no programa virá em sua próxima atualização.

Sugere-se para trabalhos futuros o levantamento de dados cinéticos com seus respectivos desvios padrão para a realização de uma análise estatística mais rigorosa do modelo. Além disso, sugere-se a modelagem do processo em batelada e, principalmente, de batelada alimentada do processo fermentativo, que são os mais utilizados industrialmente, para simulação e otimização.

Para sanar o problema do tempo de processamento, propõe-se a representação da função de inibição por partes através de uma função de regularização. Esta representação remove a descontinuidade da função de inibição podendo, assim, diminuir seu tempo de processamento.

Por fim, para contornar o problema do manuseio com a concentração de sólidos em Aspen Plus, sugere-se a utilização da cinética implementada em MATLAB e o Microsoft Excel para comunicação com o simulador de forma a representar os cálculos de cinética para simulações de processo para a análise técnica e econômica visando a determinação de metas de pesquisa para a viabilização industrial da fermentação ABE.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAILEY, J. E. Mathematical Modeling and Analysis in Biochemical Engineering: Past Accomplishments and Future Opportunities. **Biotechnology Progress**, v. 14, n. 1, p. 8–20, 1 jan. 1998.

BERTI, A. et al. **Avaliação Técnico-Econômica da Produção de Ácido Succínico via Fermentação Ácida**. . In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. São Carlos: jul. 2017

BHARATHIRAJA, B. et al. Biobutanol – An impending biofuel for future: A review on upstream and downstream processing tecniques. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 68, p. 788–807, 1 fev. 2017.

BILLIG, E. Butyraldehydes. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2000.

BILLIG, E.; BRYANT, D. R. Oxo Process. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2000.

BUEHLER, E. A.; MESBAH, A. Kinetic Study of Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation in Continuous Culture. **PloS One**, v. 11, n. 8, p. e0158243, 2016.

CARLSON, E. Don’t Gamble with Physical Properties for Simulations. out. 1996.

DE GUZMAN, D. **Green Chemicals: Growing number of chemical firms enter bio-butanol space**. Disponível em: <https://www.icis.com/>. Acesso em: 16 fev. 2018.

EZEJI, T. C.; QURESHI, N.; BLASCHEK, H. P. Bioproduction of butanol from biomass: from genes to bioreactors. **Current Opinion in Biotechnology**, Energy biotechnology / Environmental biotechnology. v. 18, n. 3, p. 220–227, 1 jun. 2007a.

EZEJI, T.; QURESHI, N.; BLASCHEK, H. P. Production of acetone–butanol–ethanol (ABE) in a continuous flow bioreactor using degermed corn and Clostridium beijerinckii. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 34–39, 1 jan. 2007b.

GOLDRICK, S. et al. Control of an Industrial Scale Bioreactor using a PAT Analyser. **IFAC Proceedings Volumes**, 19th IFAC World Congress. v. 47, n. 3, p. 6222–6227, 1 jan. 2014.

GOTTUMUKKALA, L. D.; HAIGH, K.; GÖRGENS, J. Trends and advances in conversion of lignocellulosic biomass to biobutanol: Microbes, bioprocesses and industrial viability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 963–973, 1 set. 2017.

GREEN, E. M. Fermentative production of butanol—the industrial perspective. **Current Opinion in Biotechnology**, Energy biotechnology – Environmental biotechnology. v. 22, n. 3, p. 337–343, 1 jun. 2011.

HAHN, H.-D. et al. Butanols. In: **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. [s.l.] Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000.

JIANG, W. et al. Stable high-titer n-butanol production from sucrose and sugarcane juice by Clostridium acetobutylicum JB200 in repeated batch fermentations. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 172–179, 1 jul. 2014.

JIANG, Y. et al. Disruption of the acetoacetate decarboxylase gene in solvent-producing Clostridium acetobutylicum increases the butanol ratio. **Metabolic Engineering**, v. 11, n. 4, p. 284–291, 1 jul. 2009.

LEE, S. Y. et al. Fermentative butanol production by clostridia. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 209–228, 1 out. 2008.

LEHMANN, D.; RADOMSKI, N.; LÜTKE-EVERSLOH, T. New insights into the butyric acid metabolism of Clostridium acetobutylicum. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 5, p. 1325–1339, dez. 2012.

LÉPIZ-AGUILAR, L. et al. Acetone-Butanol-Ethanol (ABE) production in fermentation of enzymatically hydrolyzed cassava flour by Clostridium beijerinckii BA101 and solvent separation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 8, p. 1092–1098, ago. 2013.

LEVASSEUR, A. et al. Assessing butanol from integrated forest biorefinery: A combined techno-economic and life cycle approach. **Applied Energy**, v. 198, p. 440–452, 15 jul. 2017.

LI, R.-D. et al. An improved kinetic model for the acetone-butanol-ethanol pathway of Clostridium acetobutylicum and model-based perturbation analysis. **BMC Systems Biology**, v. 5, n. Suppl 1, p. S12, 20 jun. 2011a.

LI, S.-Y. et al. Performance of batch, fed-batch, and continuous A-B-E fermentation with pH-control. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4241–4250, mar. 2011b.

LI, S.-Y.; SRIVASTAVA, R.; PARNAS, R. S. Study of in situ 1-butanol pervaporation from A-B-E fermentation using a PDMS composite membrane: validity of solution-diffusion model for pervaporative A-B-E fermentation. **Biotechnology Progress**, v. 27, n. 1, p. 111–120, fev. 2011.

LIU, S. **Bioprocess Engineering: Kinetics, Sustainability, and Reactor Design**. [s.l.] Elsevier, 2016.

LUEDEKING, R.; PIRET, E. L. A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH. **Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering**, v. 1, n. 4, p. 393–412, 1 dez. 1959.

MAYANK, R.; RANJAN, A.; MOHOLKAR, V. S. Mathematical models of ABE fermentation: review and analysis. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 419–447, dez. 2013.

MONOD, J. The Growth of Bacterial Cultures. **Annual Review of Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 371–394, 1949.

MULCHANDANI, A.; VOLESKY, B. Modelling of the acetone-butanol fermentation with cell retention. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 64, n. 4, p. 625–631, 1 ago. 1986.

NALELI, K. **Process Modelling in Production of Biobutanol from Lignocellulosic Biomass via ABE Fermentation**. Dissertação de Mestrado—Stellenbosch: Universidade de Stellenbosch, mar. 2016.

NDABA, B.; CHIYANZU, I.; MARX, S. n-Butanol derived from biochemical and chemical routes: A review. **Biotechnology Reports**, v. 8, p. 1–9, 1 dez. 2015.

NI, Y.; SUN, Z. Recent progress on industrial fermentative production of acetone–butanol–ethanol by <Emphasis Type="Italic">Clostridium acetobutylicum</Emphasis> in China. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 83, n. 3, p. 415, 1 jun. 2009.

PAPOUTSAKIS, E. T. Equations and calculations for fermentations of butyric acid bacteria. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 2, p. 174–187, 1 fev. 1984.

PIRT, S. J. Principles of microbe and cell cultivation. **Principles of microbe and cell cultivation.**, 1975.

QURESHI, N. et al. Acetone butanol ethanol (ABE) recovery by pervaporation using silicalite–silicone composite membrane from fed-batch reactor of Clostridium acetobutylicum. **Journal of Membrane Science**, v. 187, n. 1, p. 93–102, 15 jun. 2001.

RAGANATI, F. et al. Butanol Production from Leftover Beverages and Sport Drinks. **BioEnergy Research**, v. 8, n. 1, p. 369–379, 1 mar. 2015.

REHM, H.-J.; REED, G. **Biotechnology: A Multi-Volume Comprehensive Treatise**. 2ª ed. Alemanha: Wiley-VCH, 1996.

ROCHÓN, E.; FERRARI, M. D.; LAREO, C. Integrated ABE fermentation-gas stripping process for enhanced butanol production from sugarcane-sweet sorghum juices. **Biomass and Bioenergy**, v. 98, p. 153–160, 1 mar. 2017.

SAUER, M. Industrial production of acetone and butanol by fermentation-100 years later. **FEMS microbiology letters**, v. 363, n. 13, 2016.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. 1ª ed. Brasil: [s.n.]. v. 2

SETLHAKU, M. et al. Investigation of gas stripping and pervaporation for improved feasibility of two-stage butanol production process. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 102–108, 1 maio 2013.

SHAO, M.; CHEN, H. Feasibility of acetone–butanol–ethanol (ABE) fermentation from Amorphophallus konjac waste by Clostridium acetobutylicum ATCC 824. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 8, p. 1301–1307, 1 ago. 2015.

SHINTO, H. et al. Kinetic modeling and sensitivity analysis of acetone–butanol–ethanol production. **Journal of Biotechnology**, v. 131, n. 1, p. 45–56, 1 ago. 2007.

TAO, L. et al. Comparative techno-economic analysis and reviews of n-butanol production from corn grain and corn stover. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 8, n. 3, p. 342–361, 1 maio 2014.

TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Advances in butanol production by clostridia. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, 1 jan. 2010.

TRINDADE, W. R. DA S.; SANTOS, R. G. DOS. Review on the characteristics of butanol, its production and use as fuel in internal combustion engines. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 69, p. 642–651, 1 mar. 2017.

VAN DER MERWE, A. **Evaluation of Different Process Designs for Biobutanol Production from Sugarcane Molasses**. Dissertação de Mestrado—Stellenbosch: Universidade de Stellenbosch, mar. 2010.

VENTURA, J.-R. S.; HU, H.; JAHNG, D. Enhanced butanol production in Clostridium acetobutylicum ATCC 824 by double overexpression of 6-phosphofructokinase and pyruvate kinase genes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 16, p. 7505–7516, ago. 2013.

VILLADSEN, J.; NIELSEN, J.; LIDÉN, G. **Bioreaction Engineering Principles**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2011.

WEIZMANN, C. **Production of acetone and alcohol by bactebiological processes.**Londres, 9 set. 1919.

WOOLEY, R.; PUTSCHE, V. **Development of an ASPEN PLUS Physical Property Database for Biofuels Components**. Colorado: NREL, abr. 1996.

WU, Y.-D. et al. Effect of zinc supplementation on acetone–butanol–ethanol fermentation by Clostridium acetobutylicum. **Journal of Biotechnology**, v. 165, n. 1, p. 18–21, 10 maio 2013.

XUE, C. et al. Recent advances and state-of-the-art strategies in strain and process engineering for biobutanol production by Clostridium acetobutylicum. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 310–322, 1 mar. 2017.

YANG, X.; TSAO, G. T. Mathematical Modeling of Inhibition Kinetics in Acetone–Butanol Fermentation by Clostridium acetobutylicum. **Biotechnology Progress**, v. 10, n. 5, p. 532–538, 1 set. 1994.

ZVERLOV, V. V. et al. Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, n. 5, p. 587–597, 1 ago. 2006.

APÊNDICE A – MODELO DE FERMENTAÇÃO ABE COM 9 PARÂMETROS

Este modelo foi proposto com a remoção dos parâmetros insignificantes identificados pelo teste F no Capítulo 3. Em relação às equações das taxas originais, foram removidos os parâmetros k_1, k_2, k_6, k_9, k_{14}, k_{15}, K_{AA} e K_{BA}, fazendo com que as taxas de consumo e geração dos componentes tenham as seguintes formas:

$$r_x = \begin{cases} \dfrac{\mu_{max} S}{K_S + S} \exp[-0{,}01(B + BA)]X\,, & (B + BA) < 8{,}0\ g/L \\ \dfrac{\mu_{max} S}{K_S + S}[-0{,}153(B + BA) + 2{,}16]X, & 8{,}0 \leq (B + BA) \leq 13{,}9\ g/L \end{cases} \tag{70}$$

$$-r_S = \left(\frac{1}{Y_{X/S}}\mu + m\right)X \tag{71}$$

$$r_{AA} = \left(\frac{Y_{AA/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{AA/S}.m\right)X \tag{72}$$

$$r_{BA} = \left(\frac{Y_{BA/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{BA/S}.m\right)X \tag{73}$$

$$r_A = \left(\frac{Y_{A/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{A/S}.m\right)X \tag{74}$$

$$r_B = \left(\frac{Y_{B/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{B/S}.m\right)X \tag{75}$$

$$r_E = \left(\frac{Y_{E/S}}{Y_{X/S}}\mu_{max}\frac{S}{K_S + S}f(I) + Y_{E/S}.m\right)X \tag{76}$$

A dinâmica do biorreator se mantém, considerando um reator com mistura perfeita e retenção celular.

$$\frac{dX(t)}{dt} = r_X \tag{77}$$

$$\frac{dS(t)}{dt} = D(S_0 - S) + r_S \tag{78}$$

$$\frac{dAA(t)}{dt} = -D.AA + r_{AA} \tag{79}$$

$$\frac{dBA(t)}{dt} = -D.BA + r_{BA} \tag{80}$$

$$\frac{dA(t)}{dt} = -D.A + r_A \tag{81}$$

$$\frac{dB(t)}{dt} = -D.B + r_B \tag{82}$$

$$\frac{dE(t)}{dt} = -D.E + r_E \tag{83}$$

APÊNDICE B – MATRIZES DE VARIÂNCIA-COVARIÂNCIA DOS MODELOS ANALISADOS

Neste apêndice, são apresentadas as representações gráficas das matrizes de variância-covariância dos parâmetros e das respostas estimadas por ambos os modelos avaliados na análise estatística.

A.1 – MODELO ORIGINAL COM 17 PARÂMETROS

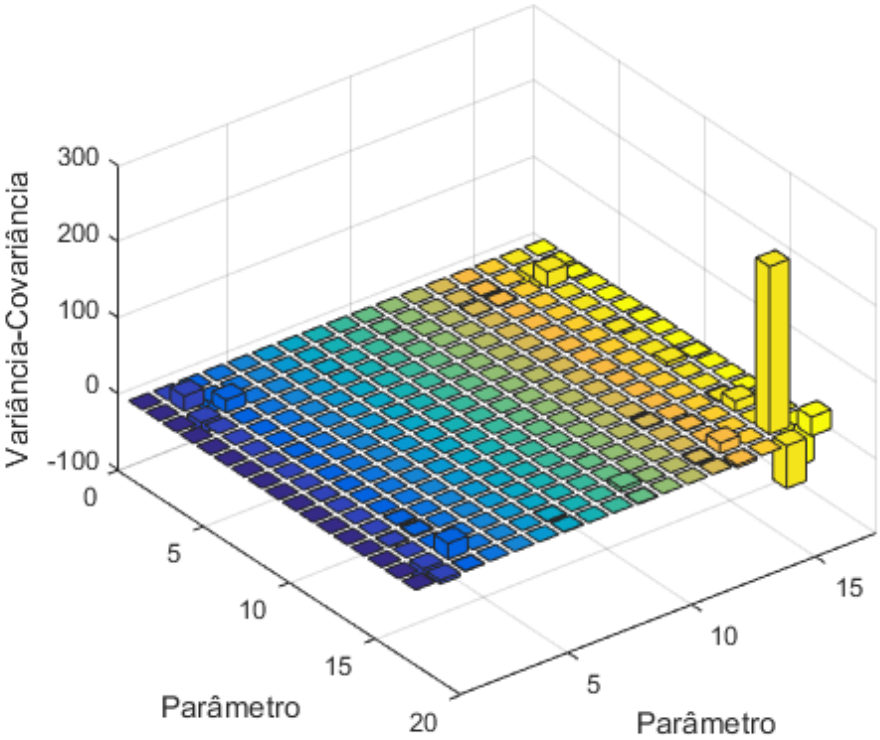


Figura 44 - Matriz de variância-covariância dos parâmetros estimados

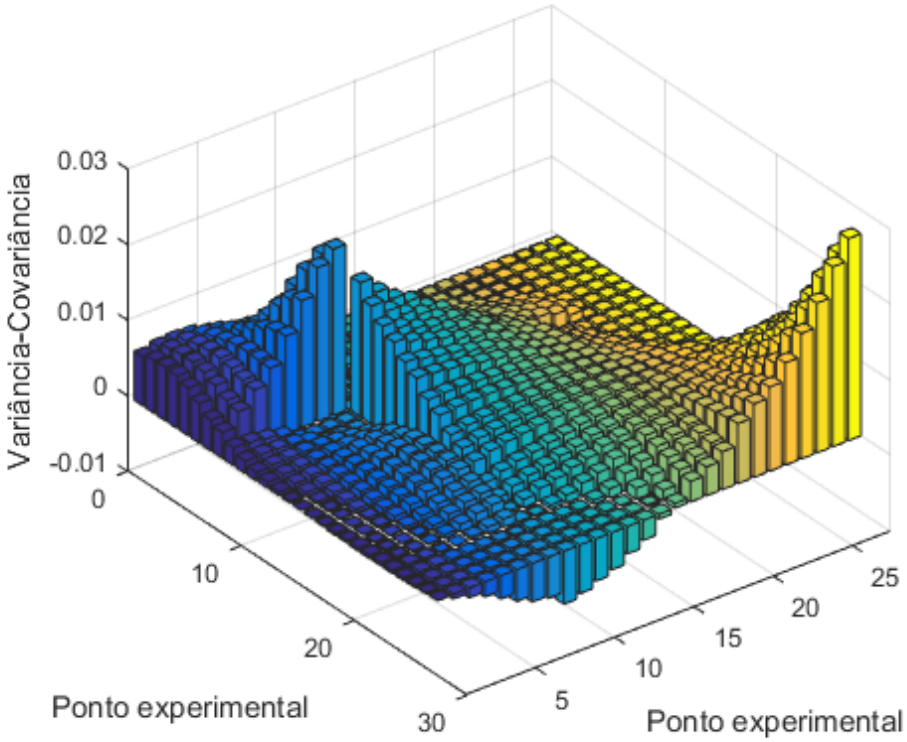


Figura 45 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de biomassa

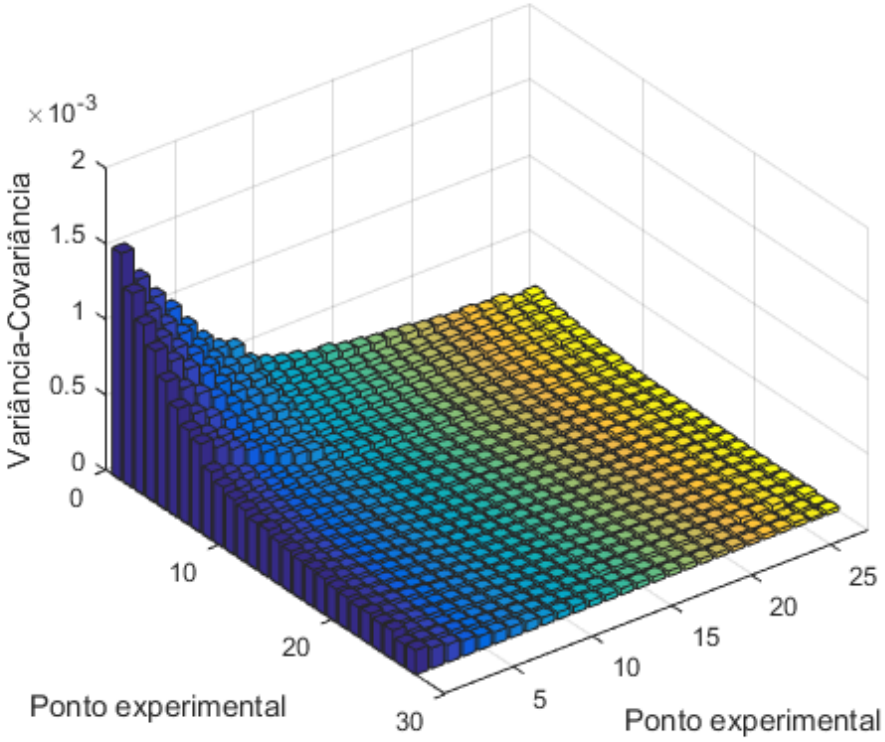


Figura 46 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de substrato

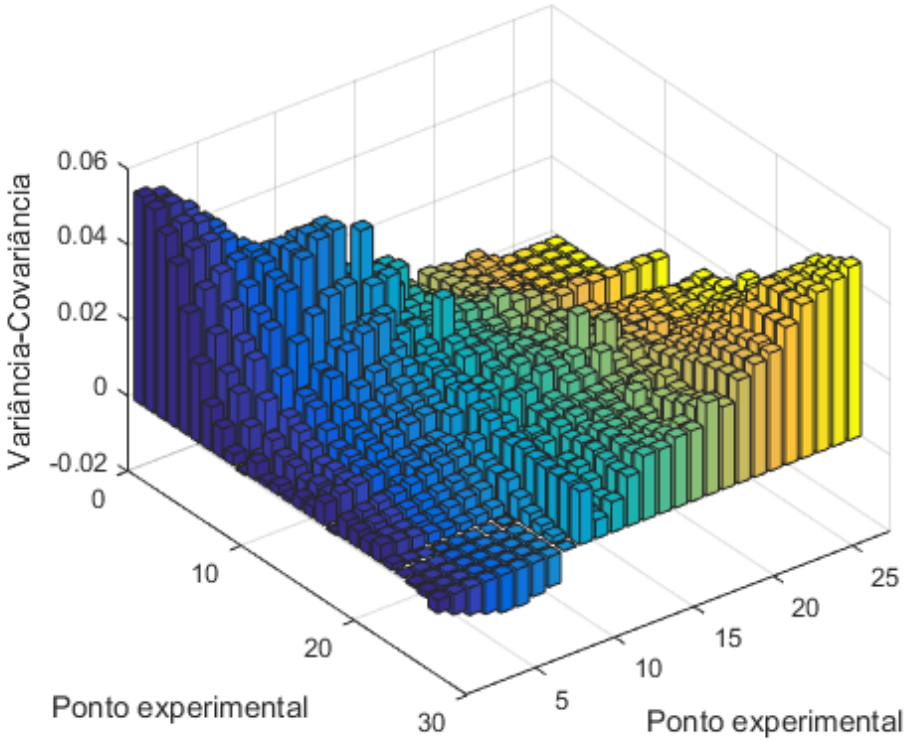


Figura 47 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido acético

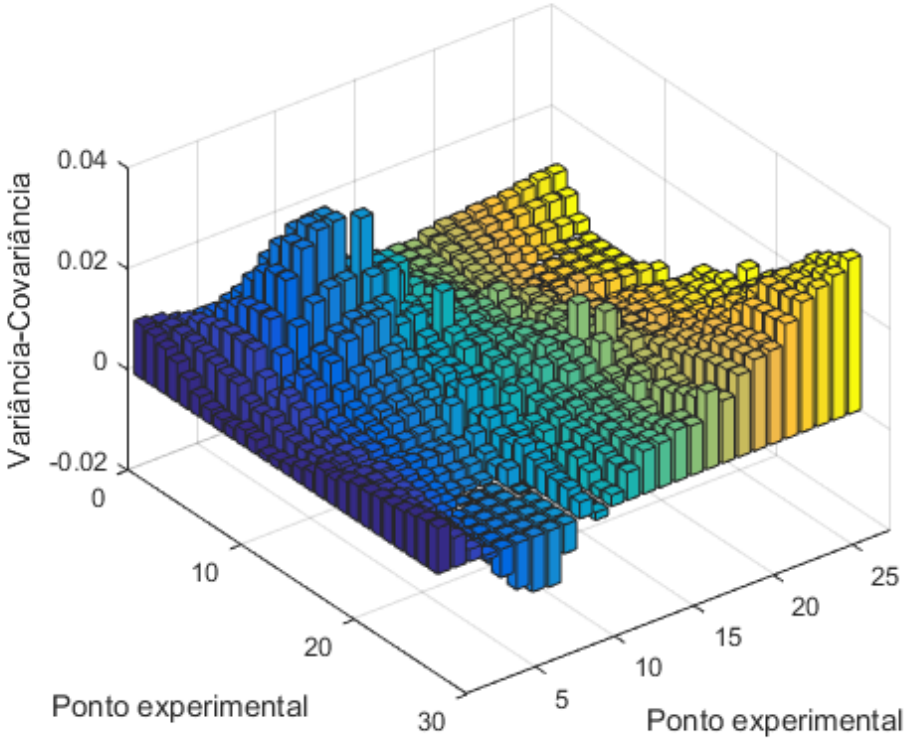


Figura 48 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido butírico

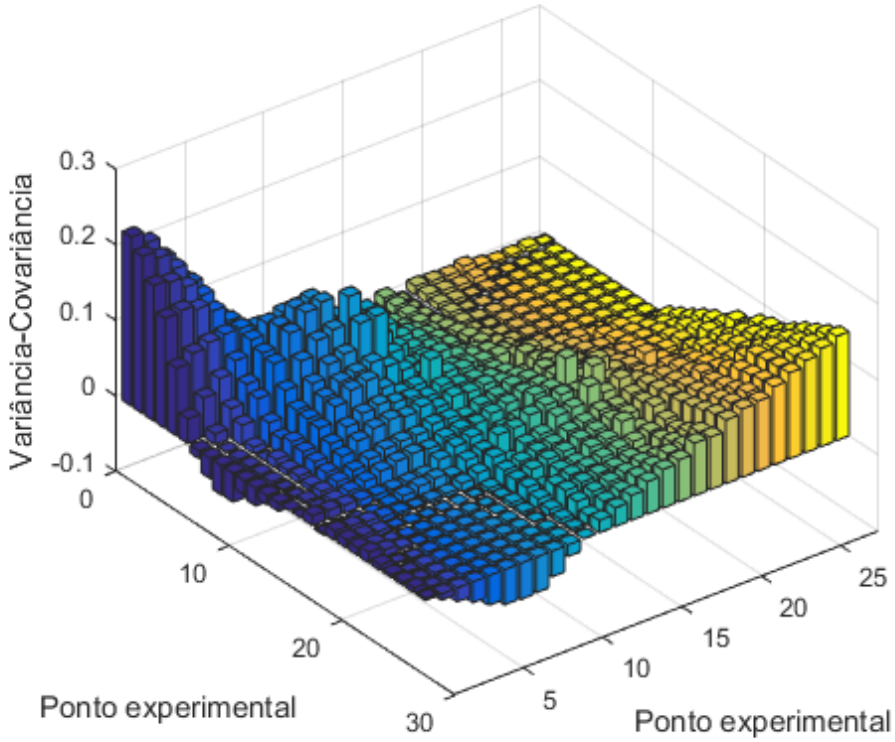


Figura 49 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de acetona

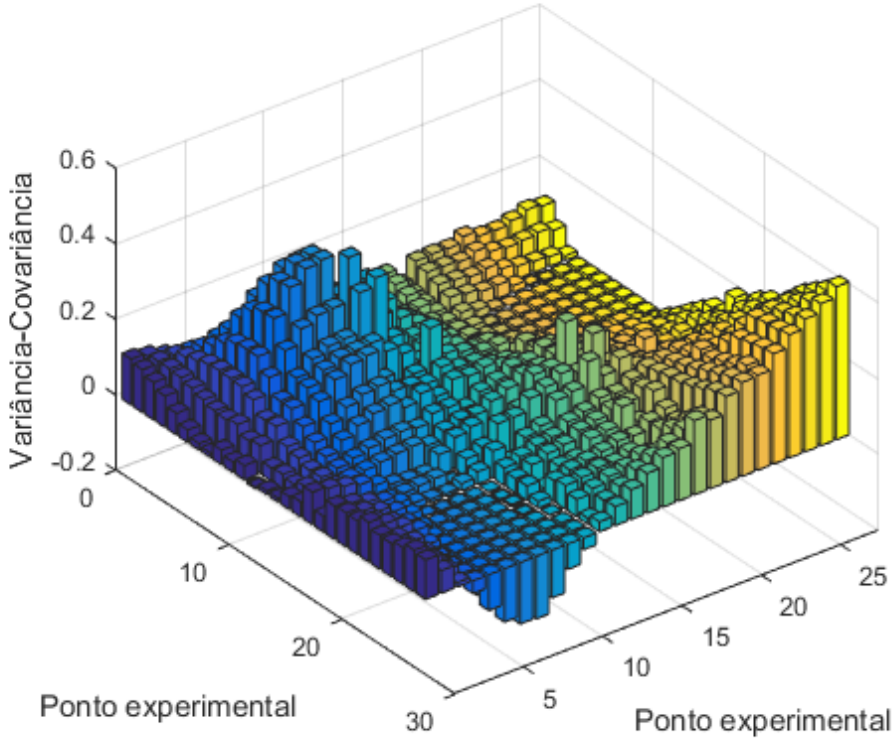


Figura 50 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de butanol

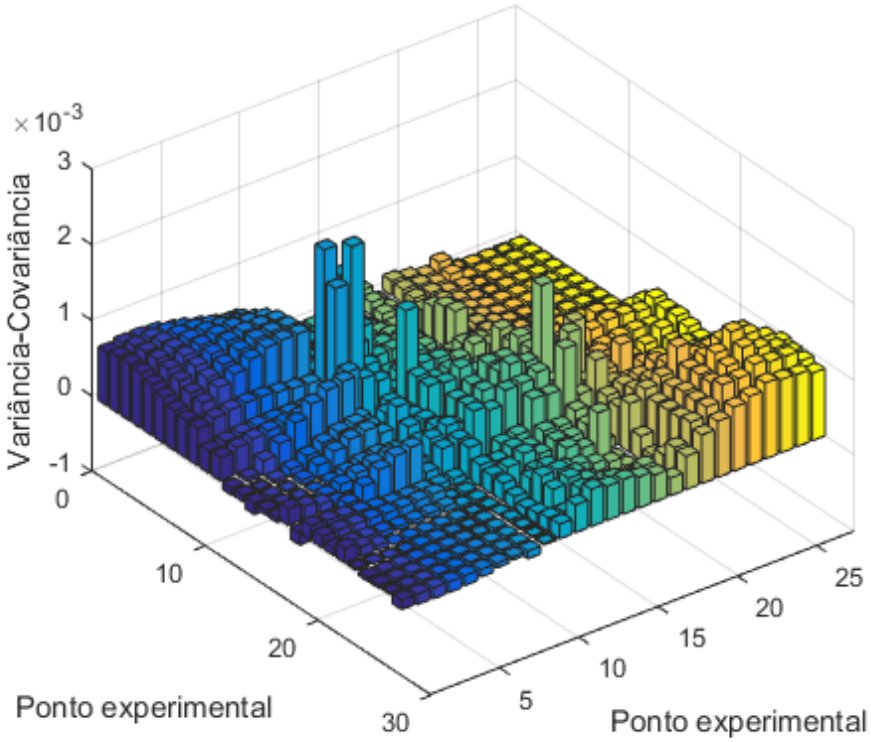


Figura 51 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de etanol

A.2 – MODELO ALTERNATIVO COM 9 PARÂMETROS

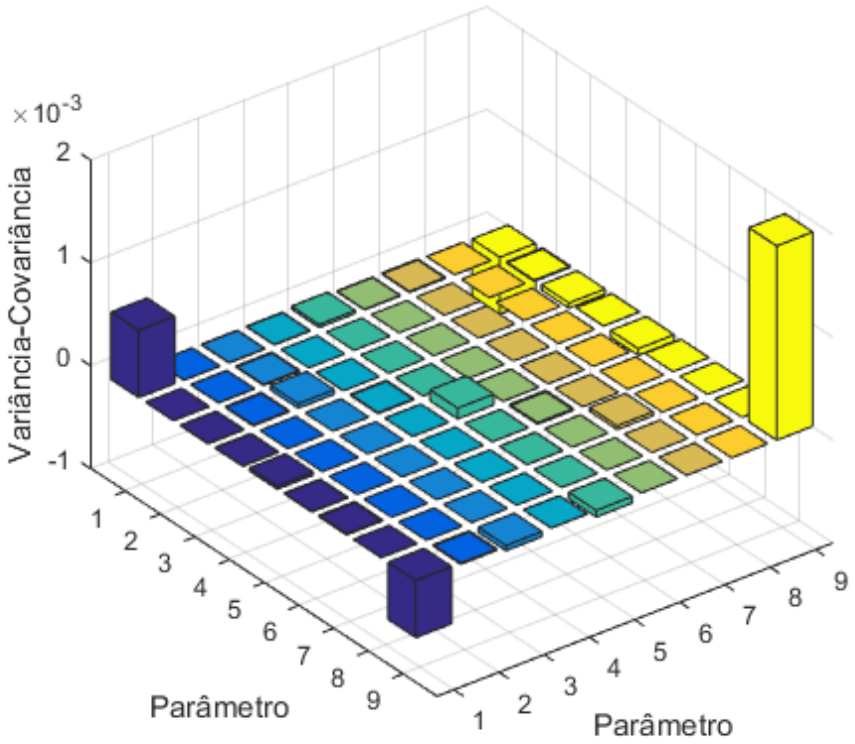


Figura 52 - Matriz de variância-covariância dos parâmetros estimados do modelo de 9 parâmetros

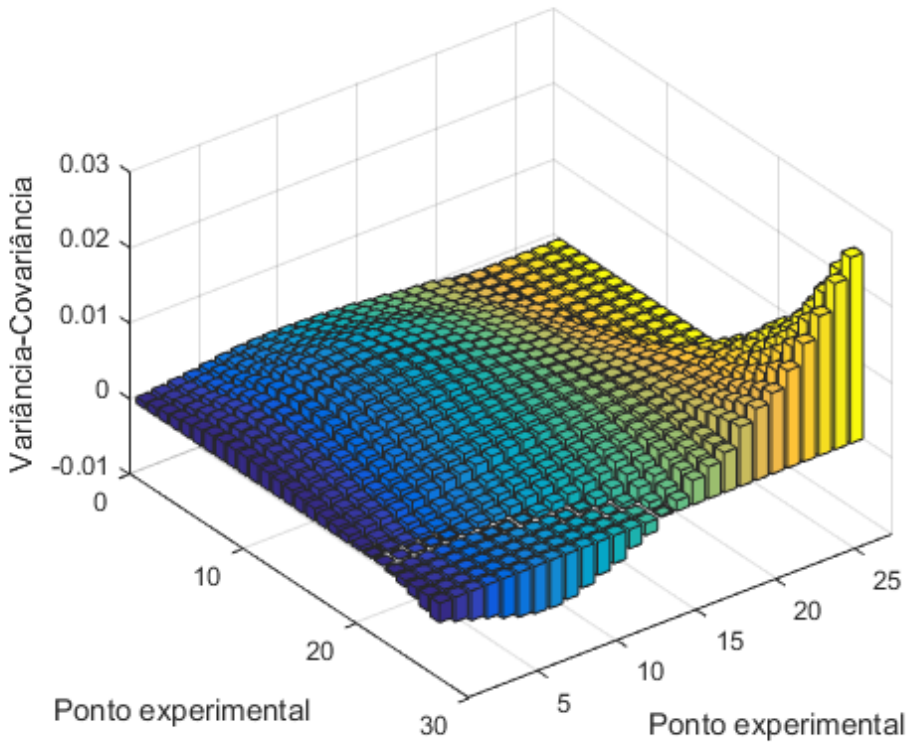


Figura 53 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de biomassa (modelo de 9 parâmetros)

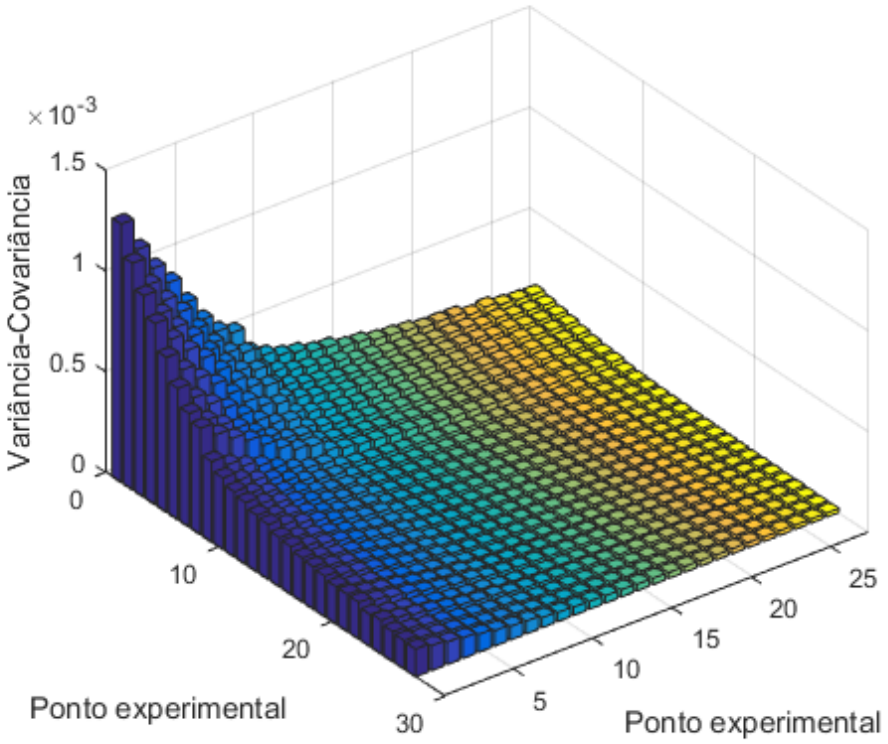


Figura 54 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de substrato (modelo de 9 parâmetros)

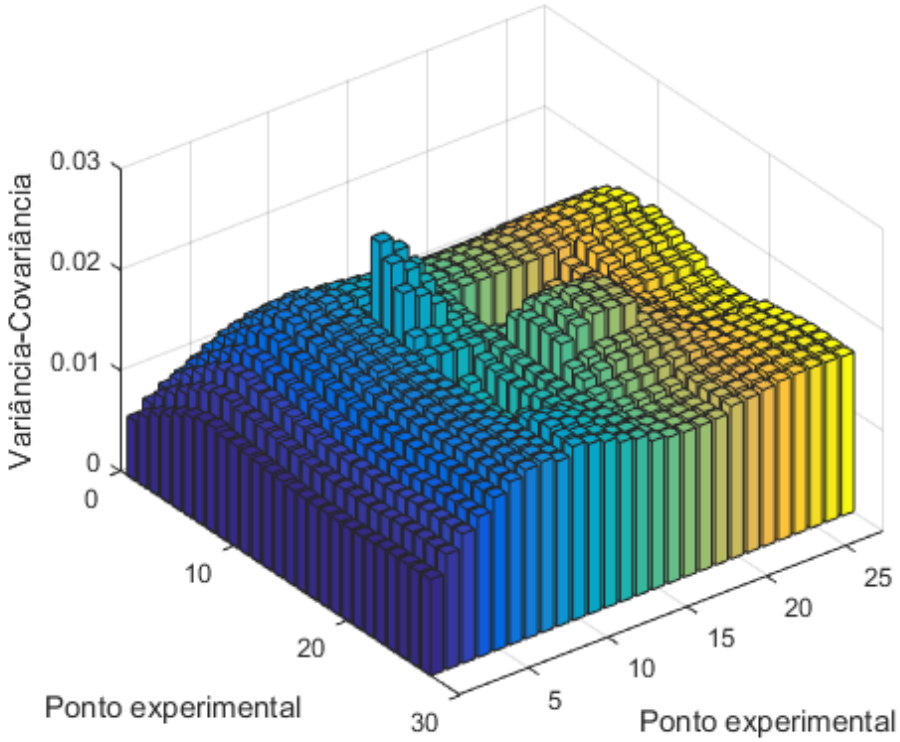


Figura 55 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido acético (modelo de 9 parâmetros)

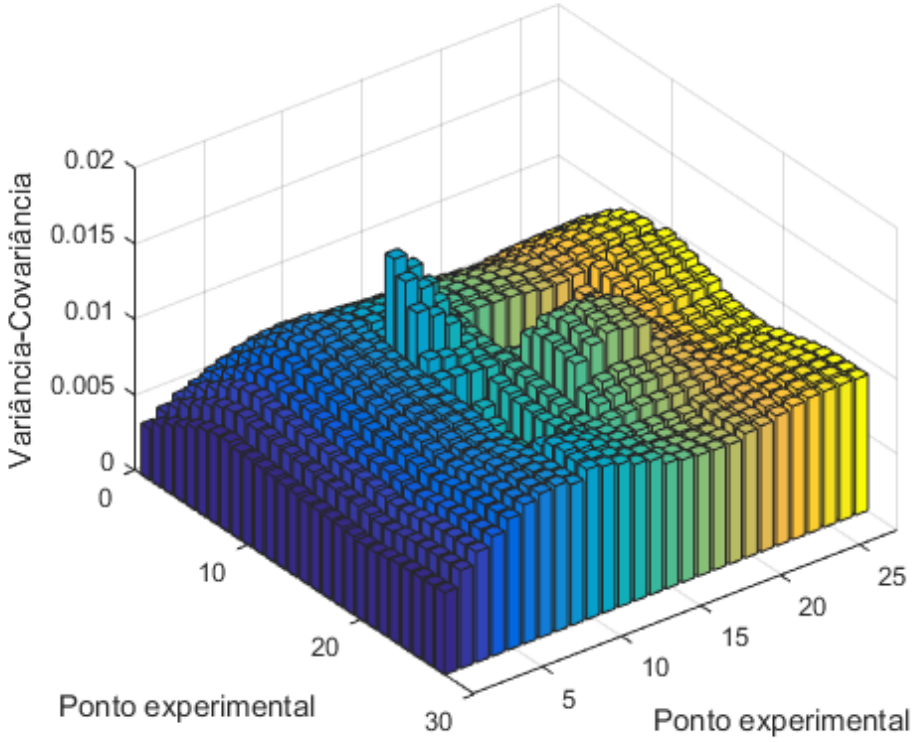


Figura 56 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de ácido butírico (modelo de 9 parâmetros)

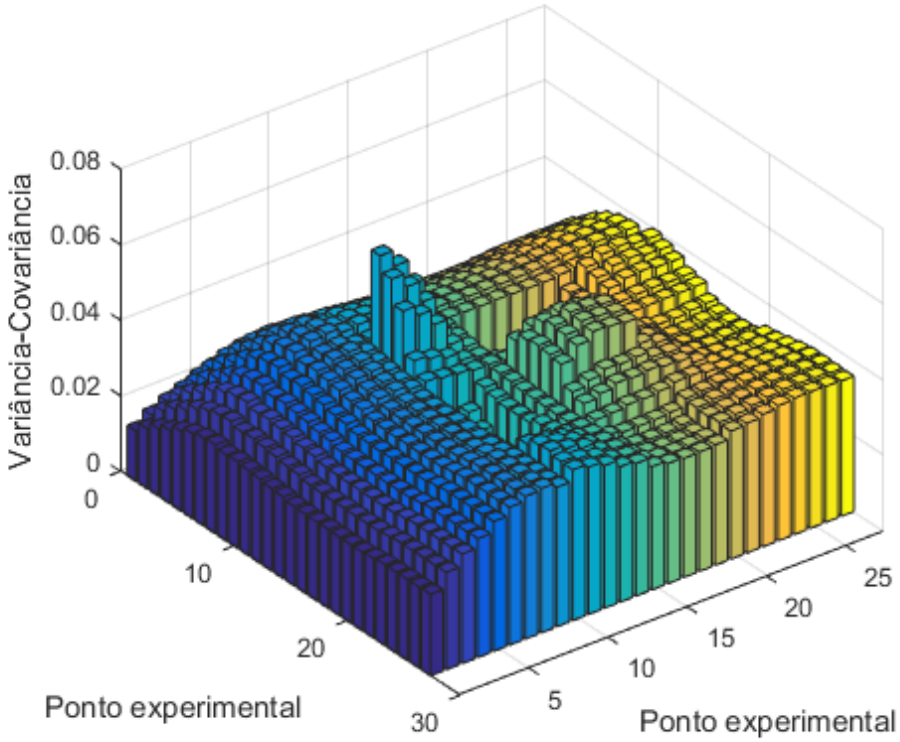


Figura 57 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de acetona (modelo de 9 parâmetros)

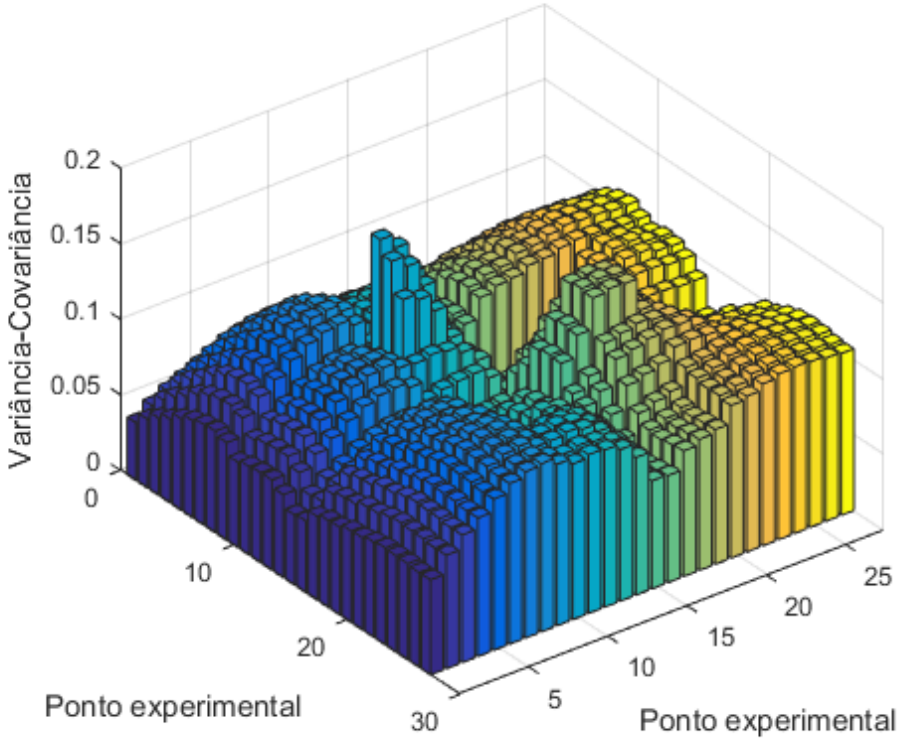


Figura 58 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de butanol (modelo de 9 parâmetros)

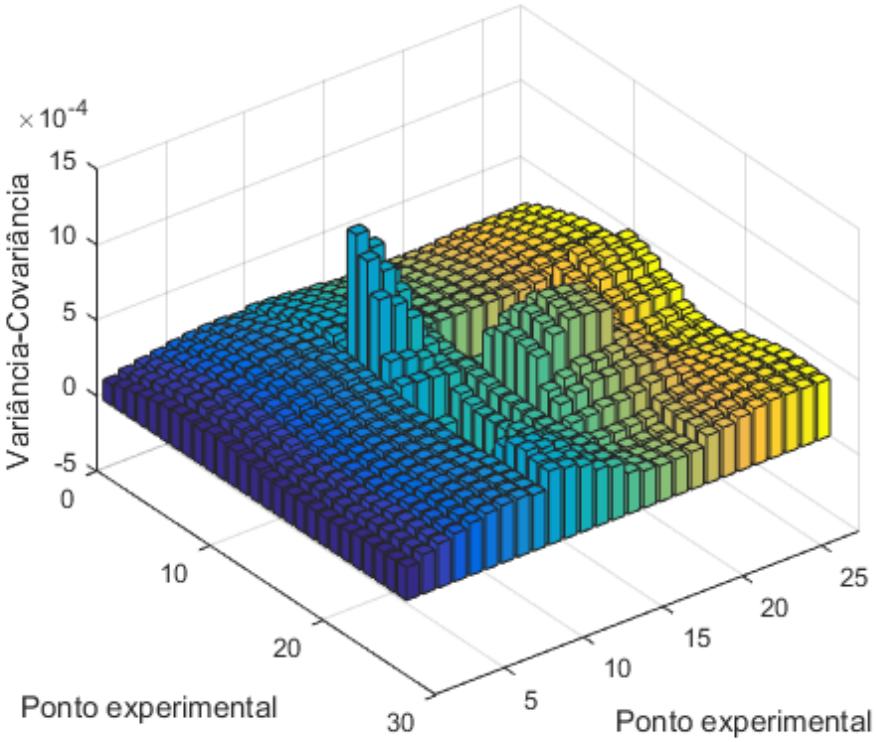


Figura 59 - Matriz de variância-covariância do perfil estimado de etanol (modelo de 9 parâmetros)

APÊNDICE C – CONFIGURAÇÃO DA CINÉTICA EM ASPEN PLUS

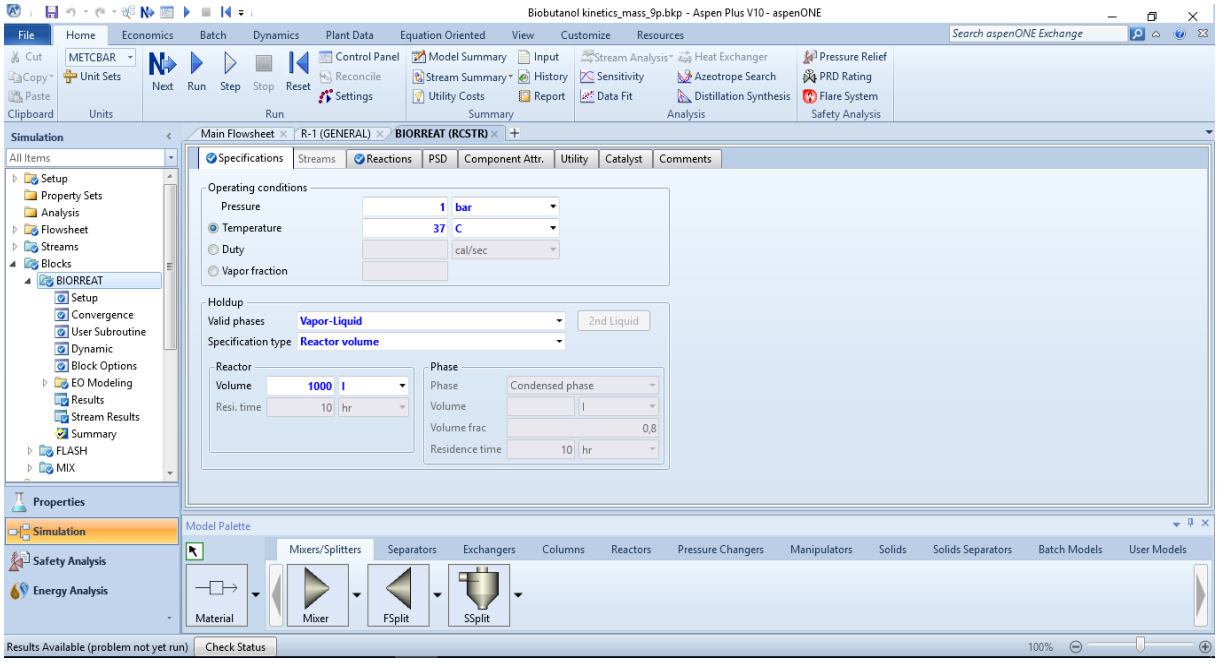


Figura 60 - *Inputs* do bloco RCSTR

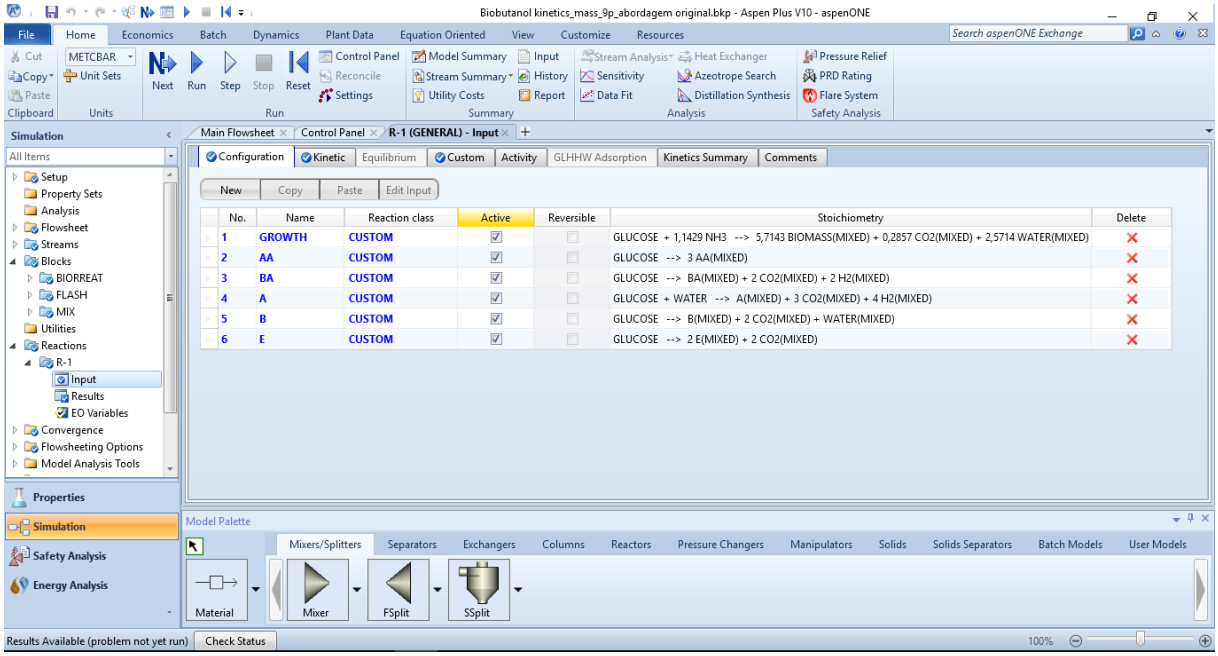


Figura 61 - *Inputs* das reações estequiométricas

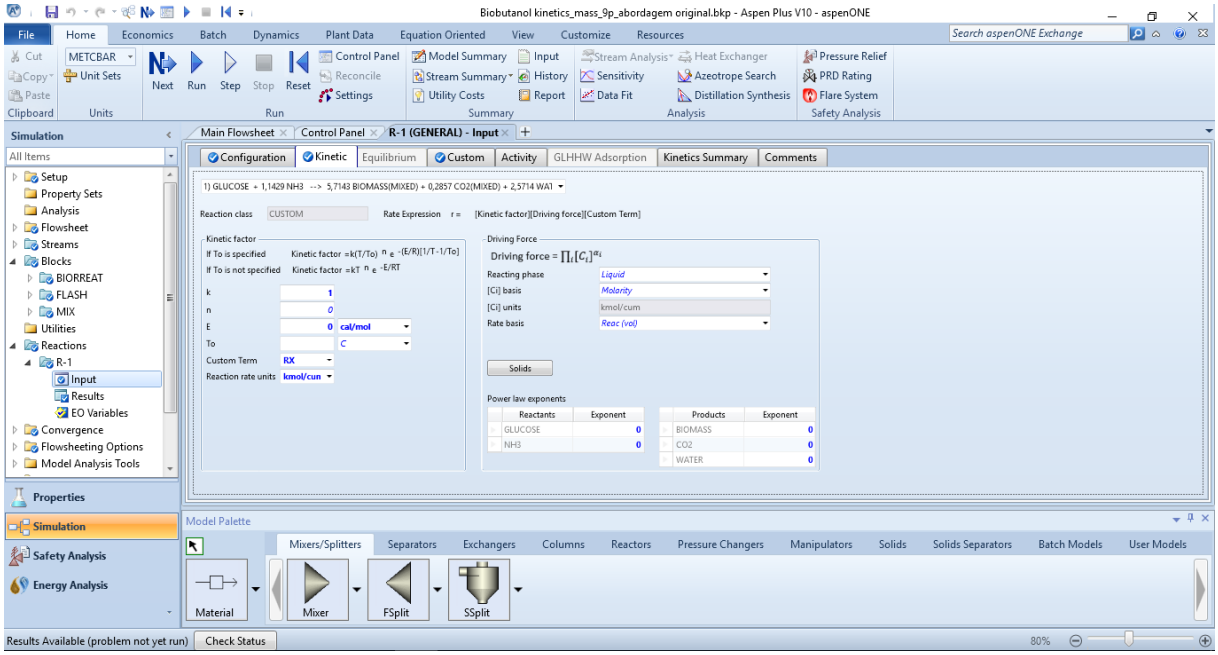


Figura 62 - *Input* da taxa de reação para ser representada pela taxa customizada

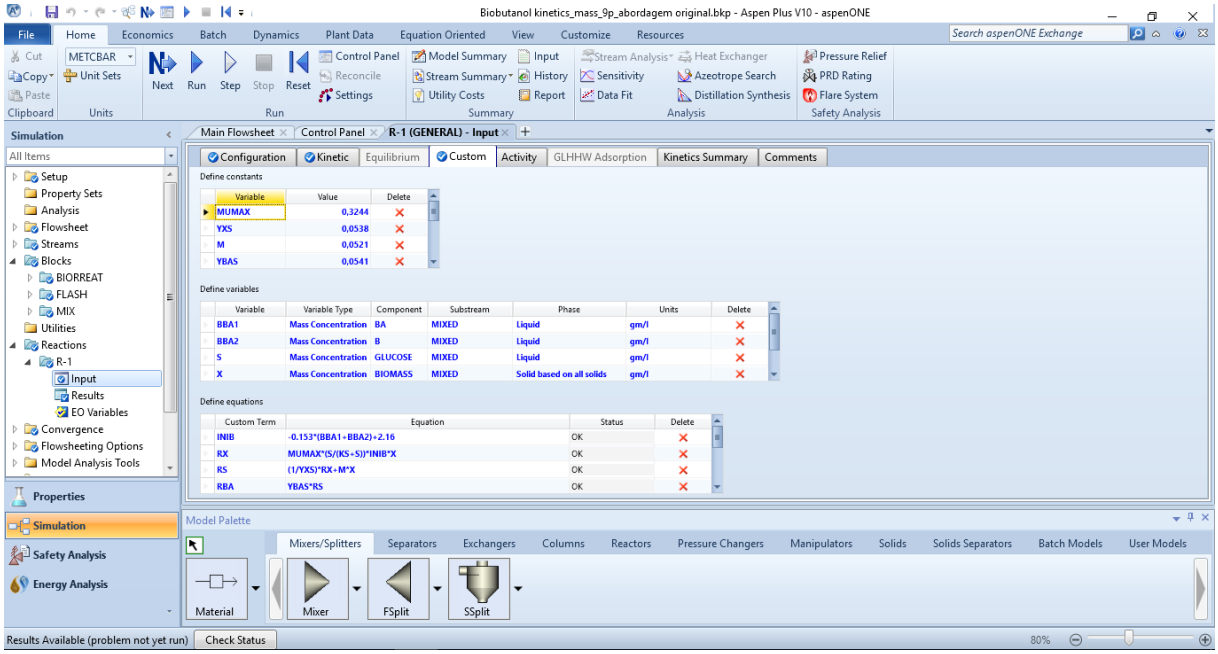


Figura 63 - Input dos parâmetros, declaração de variáveis e das equações customizadas

APÊNDICE D – TRANSCRIÇÃO DO SUPORTE DA ASPENTECH

Dear Felipe Moura,

Case# 01696026 has been created

Company: Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI
Caller Site: Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI
Contact Name: Felipe Moura
Product Family: Aspen Plus
Product: Aspen Plus

Description: Hello,

I would like to simulate a microorganism growth kinetics using the new custom reaction feature in Aspen Plus V10. I defined the cell component as a solid custom component and I would like to represent the growth kinetics as a Monod type equation (rx = dX/dt = (MUMAX*S/(KS+S))*X). All my declarations are shown in Figure 1, attached.

I am having issues, however, on how to use the concentration of a solid component in the rate equation. When I declare the rate equation including the "X" variable, nothing happens (Figure 2). When I write the equation without the "X" variable, however, the substrate consumption and cell growth is calculated (Figure 3). Therefore, I am understanding that the software is giving a zero value to the "X" variable.

How can I represent the solid concentration in this rate appropriately?

All figures mentioned and the .bkp of my simulation are attached.

I thank you in advance.

Best Regards,

Aspen Technology, Inc.

www.aspentech.com

De: esupport@aspentech.com
Enviada em: segunda-feira, 11 de dezembro de 2017 17:52
Para: Felipe Moura
Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Felipe,

I think that the reaction is set up properly. I just think that the very small amount of BIOMASS in the feed is making it look as if there is no reaction.
If I increase the amount of BIOMASS in the feed, I start to see reaction. I have attached my modified file.
Please let me know if you have any questions.

Thank you,
Lorie Roth
Aspen Technology, Inc.

De: Felipe Moura <FMoura@cetiqt.senai.br>
Enviada em: terça-feira, 12 de dezembro de 2017 08:11
Para: esupport@aspentech.com
Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Lorie,

I thank you for your help.

I noticed that on the file that you sent me, the exponent of BIOMASS within the Kinetic tab was declared as “1”. I was able to perform the reaction with this declaration, but I would like to include the BIOMASS concentration value within the equation RX written in the Custom tab. This will help me later when I will further represent the product generation equations.

That is where I am having trouble, when I declare all exponents 0 for the driving force and I write the solid concentration in the Custom Term. When I declare the exponents 0 and all components are liquid, I can perform the reaction. Because BIOMASS is solid, I am not able to do it.

I am sending you my file with the declarations I am talking about.

Thank you again for the support.

Best regards,

Felipe Moura
ANALISTA | GISI - GERENCIA INSTITUTO SENAI DE INOVACAO

De: esupport@aspentech.com
Enviada em: terça-feira, 12 de dezembro de 2017 16:30
Para: Felipe Moura
Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Felipe,

I am not sure why it was not working. The attached file seems to work with the X in the custom term.
I will report the initial problem to development.

Thank you,
Lorie Roth
Aspen Technology, Inc.

De: Felipe Moura <FMoura@cetiqt.senai.br>
Enviada em: terça-feira, 12 de dezembro de 2017 17:08
Para: esupport@aspentech.com

Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Lorie,

In the attached file that you have sent me, I noticed that in the Kinetic tab the Custom Term associated with the reaction was R, which doesn't have X in it, and the reaction works. When I change the Custom Term to RX, the reaction stops working. I'm guessing that, in terms of solids, the variable X is returning a zero value and the reaction is not happening.

Thank you again for the support and let me know if you have any update on this subject.

Best regards,

Felipe Moura
ANALISTA | GISI - GERENCIA INSTITUTO SENAI DE INOVACAO

De: esupport@aspentech.com
Enviada em: terça-feira, 12 de dezembro de 2017 18:20
Para: Felipe Moura
Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Felipe,

Sorry, You are correct. I think that you currently have to have the concentration of the solid specified with the exponent. I have submitted the issue to development so that they can fix it.
I also tried other bases, but that did not work either.

Thank you,

Lorie Roth

Aspen Technology, Inc.

De: esupport@aspentech.com
Enviada em: quinta-feira, 11 de janeiro de 2018 11:51
Para: Felipe Moura
Assunto: Case 01696026: Solids on reaction custom term

Dear Felipe,

This issue will be fixed in the next release and V10 will be patched when a fix is available.

Thank you,
Lorie Roth
Aspen Technology, Inc.