



19 A 22 DE SETEMBRO 2010
FOZ DO IGUAÇU/PR

REALIZAÇÃO



APOIO



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA
Apoio ao Desenvolvimento Científico
e Tecnológico de Paraná



PETROBRAS

PATROCÍNIO

ENGEVIX



Departamento de Engenharia Química - UEM
Faculdade de Engenharia Química - UNICAMP
Associação Brasileira de Engenharia Química - ABEQ



ESTUDO DA TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO EM REATOR AIRLIFT CONTENDO BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR

M. N. ESPERANÇA¹, C. S. FARINAS³, M. O. CERRI⁴, A. C. BADINO⁵, F. M. CUNHA⁶ e T. C. ZANGIROLAMI²

¹Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
e-mail: mateusnc@hotmail.com

²Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
e-mail: teresacz@power.ufscar.br

³Embrapa Instrumentação Agropecuária
e-mail: cristiane@cnpdia.embrapa.br

⁴Universidade Federal de São João Del Rei
e-mail: marcelcerri@ufsj.edu.br

⁵Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
e-mail: badinojr@power.ufscar.br

⁶Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
e-mail: cunha_fm@yahoo.com.br

RESUMO – Reatores pneumáticos são uma alternativa promissora para a produção de enzimas provenientes de cultivos de fungos filamentosos *in situ* nas usinas. Investigou-se nesse trabalho a transferência de oxigênio em reator airlift na presença de suspensões de bagaço de cana de açúcar com diferentes concentrações. Utilizou-se um reator tipo airlift com 2 L de volume útil, equipado com fluxômetro de massa e analisador de oxigênio dissolvido, à temperatura de 32°C, para duas faixas de granulometria e partículas de bagaço de cana *in natura* e explodido. Através de um delineamento composto central rotacional investigou-se 9 condições experimentais, permitindo avaliar a variação das respostas $k_L a$, determinado pelo método dinâmico, e ϵ_G , avaliada pela técnica de expansão de volume. Verificou-se que com o aumento da vazão de ar e a diminuição da porcentagem de sólidos é possível manter níveis de transferência de oxigênio semelhantes aos obtidos com água.

PALAVRAS-CHAVE: bagaço de cana de açúcar, reator airlift, transferência de massa.

1. INTRODUÇÃO

A elevada complexidade estrutural da celulose torna necessária a utilização de uma complexa mistura de enzimas celulolíticas para a degradação desse carboidrato. Dentre os vários microorganismos capazes de

produzir o complexo enzimático contendo essas enzimas, o fungo filamentoso *Aspergillus niger* tem sido apontado como uma alternativa promissora ao uso do fungo *Trichoderma reesei*, o mais estudado (Kim *et al.*, 1997). Biorreatores do tipo tanque agitado e aerado são amplamente empregados há anos no cultivo de fungos



filamentosos por fermentação submersa (FS). Mais recentemente, biorreatores não-convencionais do tipo pneumáticos vêm adquirindo importância relevante no campo da Biotecnologia. Nos reatores pneumáticos do tipo coluna de bolha, *airlift* ou *split-cylinder*, a agitação do líquido é promovida pelo borbulhamento de ar ou outro gás a partir da base do reator, dispensando o agitador mecânico. O tipo de agitação promovida nos reatores pneumáticos permite alcançar alta transferência de oxigênio, com menores tensões de cisalhamento, tornando os reatores pneumáticos altamente adequados para cultivos de fungos filamentosos (Kim *et al.*, 1997; Trager *et al.*, 1989). Outros fatores como a ausência de selo mecânico, menor custo e menor consumo de energia frente aos reatores convencionais reforçam o potencial de aplicação do reator *airlift* e de outros reatores pneumáticos em diversos bioprocessos (Cerri, 2005).

A utilização dos reatores pneumáticos em sistemas trifásicos em cultivos visando à produção de enzimas celulolíticas é relatada na literatura recente para diferentes fungos filamentosos e substratos sólidos em suspensão: cultivo de *Trichoderma reesei* em biorreator *airlift* contendo celulose microstalina em suspensão (Ahamed & Vermette, 2010); cultivo de *Aspergillus niger* KKS em biorreatores coluna de bolhas e *airlift* contendo palha de arroz em suspensão (Kim *et al.*, 1997); cultivo de *Aspergillus awamori* também em biorreator *airlift* contendo farelo de trigo (Siedenberg *et al.*, 1997). Estes trabalhos, no entanto, focaram mais no desempenho das diferentes configurações de reatores pneumáticos em comparação com o do reator convencional tipo tanque agitado e aerado, explorando pouco os aspectos hidrodinâmicos da operação do reator pneumático na presença do sólido em suspensão. De fato, parâmetros

como a retenção gasosa (ϵ_G) e o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{LA}) são importantes no desempenho e operação destes reatores, os quais são influenciados tanto pela vazão de ar empregada como pela carga de sólidos em suspensão, densidade e tamanho das partículas. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi estudar a transferência de oxigênio em reator *airlift* de circulação interna, na presença de suspensões de bagaço de cana de açúcar explodido e *in natura*, com diferentes concentrações e granulometrias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Fase Sólida

Utilizou-se bagaço de cana de açúcar *in natura* e explodido como fase sólida, ambos fornecidos pela Usina Nardini (Vista Alegre do Alto, SP). Cada tipo de bagaço foi separado em duas faixas granulométricas, empregando-se peneiras da série Tyler. Para o bagaço *in natura*, os experimentos foram realizados com uma fração de material com diâmetro médio entre 0,425 e 0,710 mm e com outra fração, de granulometria menor, com diâmetro médio entre 0,212 e 0,425 mm. Já para o bagaço explodido, as frações utilizadas nos experimentos foram: $1,000 > d_p > 0,425$ mm (granulometria maior) e $0,425 > d_p > 0,106$ mm (granulometria menor).

2.2 Meio Líquido

Água destilada suplementada com o anti-espumante polipropileno-glicol diluído (emulsão de 30% em água) foi utilizada como fase líquida nos ensaios. Os ensaios foram conduzidos a 32°C.



2.3 Descrição dos Experimentos

Os ensaios foram realizados em um biorreator airlift de circulação interna de tubos concêntricos com 2L de volume útil, sendo este equipado com sistema de controle de temperatura, eletrodo para medida da concentração de oxigênio dissolvido e sistema de aquisição da concentração de oxigênio dissolvido em tempo real. A Figura 1 apresenta uma imagem fotográfica do reator empregado.

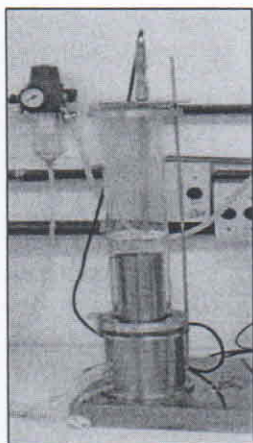


Figura 1 – Reator *airlift* de 2L empregado no estudo.

Para estudar a influência dos fatores “Carga de sólidos em suspensão” e “vazão de ar” no comportamento hidrodinâmico do reator e identificar as melhores condições de operação, foi empregado um delineamento composto central rotacional (DCCR), conforme detalhado em Rodrigues e Iemma (2005). Os valores reais dos fatores “carga de sólidos em suspensão” e “vazão de ar”, correspondentes aos níveis estudados, estão indicados na Tabela 1. Para cada combinação de granulometria e tipo de bagaço, foram realizados 11 ensaios, sendo 4 ensaios correspondentes ao planejamento fatorial (Ensaios 1 a 4, Tabela 2), uma triplica no ponto central (Ensaios 9 a 11, Tabela 2) e 4 ensaios correspondentes ao

pontos axiais (Ensaios 5 a 8, Tabela 2). Um total de 44 ensaios foi realizado contemplando as seguintes combinações: i) bagaço explodido, baixa granulometria; ii) bagaço explodido, alta granulometria; iii) bagaço *in natura*, baixa granulometria e iv) bagaço *in natura*, alta granulometria. Como respostas, foram escolhidas as variáveis coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio e retenção gasosa.

Tabela 1 - Valores reais e codificados para os fatores carga de sólidos e vazão do ar empregados no DCCR.

Nível / Fator	Carga de sólidos (%) $m_{SÓLIDO}/V_{SUSPENSÃO}$	Vazão de ar (L/min)
-1,41	0,013	15,0
-1,00	0,30	17,9
0,00	1,0	25,0
1,00	1,7	32,1
1,41	2,0	35,0

2.4 Determinação do Coeficiente Volumétrico de Transferência de Oxigênio ($k_L a$)

Estimou-se o $k_L a$ através do método dinâmico proposto por Chisti (1989), levando-se em consideração o atraso da resposta do eletrodo (Aiba *et al.*, 1973). Este método consiste em utilizar-se de um eletrodo para determinação da concentração de oxigênio dissolvido (OD). Inicia-se o procedimento com a calibração do eletrodo na saturação. Posteriormente, borbulha-se nitrogênio no meio com o propósito de retirar todo o O_2 presente. Então, inicia-se a aeração do sistema à vazão constante e previamente determinada de ar. Simultaneamente, a aquisição dos dados de



concentração de OD em função do tempo é realizada, até que seja atingida novamente a saturação do meio.

Utilizando-se uma ferramenta computacional (Jesus *et al.*, 2007), os dados obtidos foram ajustados à Eq. 1 utilizando-se o algoritmo de Marquardt, obtendo-se assim o $k_L a$.

$$C = C_{e0} \cdot e^{-k_e(t-t_0)} + C_{eS} \cdot (1 - e^{-k_e(t-t_0)}) + \frac{k_e(C_{eS} - C_0)}{k_e - k_L a} (e^{-k_e(t-t_0)} - e^{-k_L a(t-t_0)}) \quad (1)$$

Onde: C_{e0} é a concentração de O_2 lida pelo eletrodo no início da aeração; C_{eS} é a concentração de O_2 lida pelo eletrodo na saturação; k_e é a constante de atraso do eletrodo.

Estima-se k_e como sendo o inverso do tempo necessário para que o eletrodo atinja uma concentração de 63,2% quando exposto ao ar atmosférico.

2.4 Determinação da Retenção Gasosa Global (ϵ_G)

Determinou-se a retenção gasosa global (ϵ_G) através da técnica de expansão de volume, que consiste em medidas visuais da altura do líquido não aerado (h_L) e da altura da dispersão gás-líquido-sólido (h_D) com o sistema aerado. Calcula-se ϵ_G através da Equação 2 (Chisti, 1989):

$$\epsilon_G = \frac{h_D - h_L}{h_D} \quad (2)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 2 mostra a matriz do planejamento experimental realizado para todas as combinações de tipo de bagaço e granulometria estudados. Nas últimas duas colunas são apresentados os resultados de $k_L a$ e ϵ_G obtidos com o bagaço *in natura* na maior granulometria, a título de ilustração.

Tabela 2 – Matriz do planejamento experimental adotado. Valores de coeficiente volumétrico de transferência de massa e retenção gasosa global referentes aos experimentos realizados com o bagaço de cana *in natura*, na maior granulometria. x_1 e x_2 referem-se aos valores codificados das variáveis carga de sólidos e vazão de ar, respectivamente.

Ensaio	x_1	x_2	$k_L a$	ϵ_G
1	-1	-1	0,04996	0,1247
2	+1	-1	0,03535	0,1106
3	-1	+1	0,09003	0,2138
4	+1	+1	0,06360	0,1699
5	0	-1,41	0,04211	0,1065
6	0	+1,41	0,07993	0,1975
7	-1,41	0	0,06922	0,1857
8	+1,41	0	0,04155	0,0831
9	0	0	0,06932	0,1627
10	0	0	0,07216	0,1627
11	0	0	0,06937	0,1627



A partir dos resultados obtidos nos diferentes experimentos realizados, foram gerados os modelos empíricos por ajuste de polinômios aos dados experimentais e realizada a análise estatística para identificar os termos significativos, a validade do modelo e finalmente construir as superfícies de resposta correspondentes (Rodrigues e Iemma, 2005). Esse procedimento foi aplicado aos 4 DCCRs realizados, gerando 4 superfícies de resposta. A partir da análise dessas superfícies de resposta foi possível identificar a região de ótimo para cada combinação de tipo de bagaço e granulometria estudadas. Todas as regressões e análises estatísticas foram realizadas no programa Statistica 7.0.

Assim, a metodologia resumida acima foi aplicada aos dados apresentados na Tabela 2, para o bagaço *in natura*, com a maior granulometria. O modelo contendo apenas os termos significativos e que descreve a variação do k_{La} em função dos fatores carga de sólidos e vazão de ar é apresentado na Eq. 3, com os respectivos desvios padrão associados a cada coeficiente entre parênteses.

$$k_{La} = 0,070 (\pm 0,002) - 0,010x_1 (\pm 0,001) - 0,007x_1^2 (\pm 0,001) + 0,015x_2 (\pm 0,001) - 0,004x_2^2 (\pm 0,001) \quad (3)$$

O valor do coeficiente de correlação (R^2) para a regressão representada na Eq. (3) é 0,976. Para melhor avaliação da validade do modelo, realizou-se o Teste F. A Tabela 3 apresenta os resultados do Teste F para o modelo proposto.

Tabela 3 – Teste F para modelo de k_{La} na presença de bagaço *in natura* e $0,710 > d_p > 0,425$ mm

	GL	SQ	QM	F _{CALC}
Regressão	4	3,04E-03	7,60E-04	62,70
Resíduo	6	7,28E-05	1,21E-05	

O valor tabelado de F para um intervalo de confiança de 95% é $F_{0,05;4;6} = 4,53$. Esse resultado comprova que o modelo proposto descreve os dados experimentais, visto que $F_{CALC} \gg F_{TAB}$ (Rodrigues e Iemma, 2005).

Diante da confirmação da validade do modelo, pode-se então construir a superfície de resposta (Figura 2) que representa graficamente a Eq. (3). A análise visual da superfície permite identificar facilmente a região de ótimo: os maiores valores de k_{La} são obtidos para cargas de sólidos abaixo de 1 % ($x_1 < 0$) e vazões de ar acima de 32,1 L/min ($x_2 > 1$). Se operado nestas condições, o reator airlift contendo a suspensão de bagaço *in natura* de maior granulometria, de acordo com o modelo, alcançará valores de k_{La} da ordem de $0,08 \text{ s}^{-1}$, ou seja, da mesma ordem de grandeza do k_{La} da água nas mesmas condições de operação.

Campesi (2007) obteve resultados da mesma ordem de grandeza em um reator tipo tanque agitado e aerado de 4 L de volume útil, a uma vazão específica de ar de 1 vvm, rotação de 1000 rpm, utilizando-se de água como fase líquida. Já Thomasi (2010) alcançou valores de k_{La} próximos operando reatores do tipo *airlift* de tubos concêntricos e *airlift "split-cylinder"* de 5 L. As condições de operação foram respectivamente: 5 e 7 vvm. O fluido utilizado foi água destilada a 28°C.

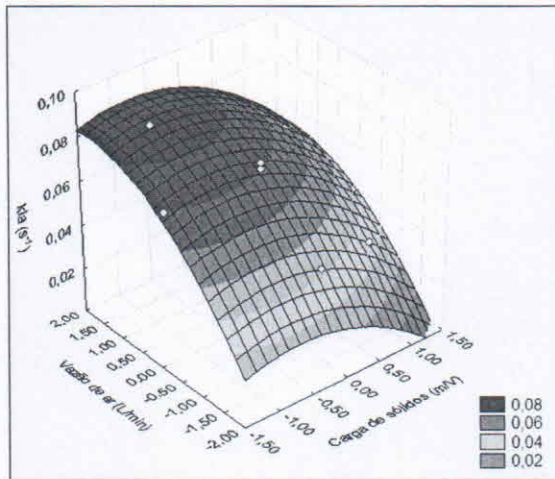


Figura 2 – Superfície de resposta para $k_{L,a}$ na presença de bagaço *in natura* e $0,710 > d_p > 0,425$ mm

Os resultados da regressão para $k_{L,a}$ nos estudos com bagaço *in natura* de menor granulometria estão apresentados na Eq. 4 e na Tabela 4.

$$k_{L,a} = 0,061 (\pm 0,002) - 0,006x_1 (\pm 0,003) + 0,016x_2 (\pm 0,003) \quad (4)$$

O valor de R^2 para a correlação representada na Eq. 4 foi 0,849. A análise da variância (Tabela 4) permite estimar um valor de F 7 vezes superior ao tabelado ($F_{0,10;2;8} = 3,31$), validando o modelo.

Tabela 4 – Teste F para modelo de $k_{L,a}$ na presença de bagaço *in natura* e $0,425 > d_p > 0,212$ mm

	GL	SQ	QM	F_{CALC}
Regressão	2	2,41E-03	1,21E-03	22,55
Resíduo	8	4,28E-04	5,35E-05	

A Figura 3 representa graficamente a equação 4, obtida para o bagaço *in natura* de menor granulometria.

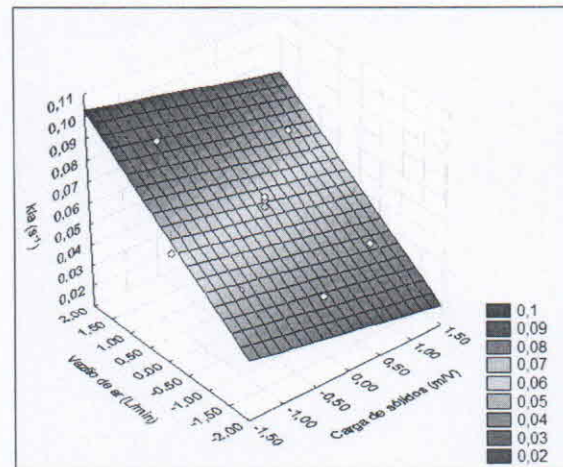


Figura 3 - Superfície de resposta para $k_{L,a}$ na presença de bagaço *in natura* e $0,425 > d_p > 0,212$ mm

Observa-se que a transferência de massa alcançada para o bagaço de cana *in natura* de menor granulometria foi ligeiramente superior à observada com o de maior granulometria. Contudo, Siedenberg *et al.* (1997) observaram que o crescimento de micélios do fungo *Aspergillus awamori* era favorecido no interior de partículas de farelo de trigo de maior tamanho. Desta forma, estudos na presença do microrganismo são necessários para a seleção da melhor granulometria para a operação do reator em condições reais.

Em relação ao bagaço explodido, devido à baixa densidade deste material, a modelagem empírica e a análise estatística correspondente revelaram que a carga de sólidos praticamente não influenciou o $k_{L,a}$, que se mostrou dependente apenas da vazão de ar, como ocorre em líquidos sem sólidos em suspensão (dados não mostrados). De qualquer forma, estudos conduzidos por Gonçalves (2009) mostraram que o fungo *Aspergillus sp.*, o qual será cultivado



futuramente no reator pneumático, cresce significativamente melhor em cultivos em meio semi-sólido contendo bagaço *in natura*.

A fim de complementar os estudos referentes ao bagaço de cana *in natura* de maior granulometria, analisou-se ϵ_G , sendo os resultados apresentados na Eq. 5 e na Tabela 5.

$$\epsilon_G = 0,160 (\pm 0,006) - 0,025x_1 (\pm 0,005) - 0,011x_1^2 (0,006) + 0,035x_2 (\pm 0,005) \quad (5)$$

Obteve-se um R^2 de 0,911 para a correlação apresentada na Eq. 5. A análise da variância (Tabela 5) permite estimar um valor de F aproximadamente 8 vezes superior ao tabelado ($F_{0,10;3;7} = 3,074$), validando o modelo.

Tabela 5 – Teste F para modelo de ϵ_G na presença de bagaço *in natura* e $0,710 > d_p > 0,425$ mm

	GL	SQ	QM	F _{CALC}
Regressão	3	1,54E-02	5,15E-03	23,75
Resíduo	7	1,52E-03	2,17E-04	

A Figura 4 representa graficamente a Eq. 5, obtida para o bagaço *in natura* de maior granulometria.

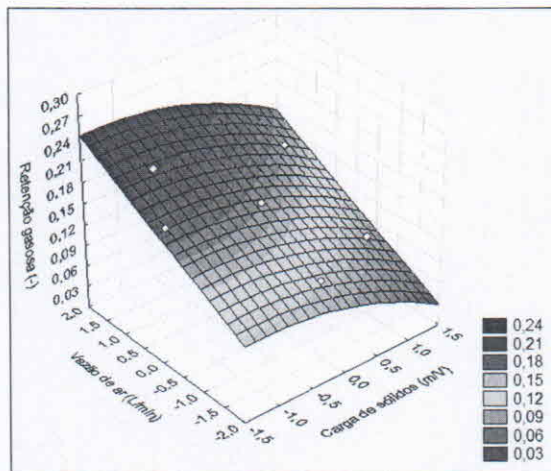


Figura 4 – Superfície de resposta para ϵ_G na presença de bagaço *in natura* e $0,710 > d_p > 0,425$ mm

A análise visual da superfície de resposta confirma o que foi observado anteriormente para o k_{LA} : a região de ótimo é determinada por valores de carga de sólidos abaixo de 1 % ($x_1 < 0$) e vazões de ar acima de 32,1 L/min ($x_2 > 1$).

4. CONCLUSÃO

O estudo e desenvolvimento de tecnologias inovadoras para o cultivo de fungos filamentosos é uma possível solução para o problema do alto custo de produção das enzimas que degradam a celulose, e que compromete a viabilidade econômica da produção de etanol a partir de biomassa renovável. Os resultados aqui apresentados mostraram que é possível operar o reator *airlift* na presença de bagaço de cana de açúcar, mantendo-se altos níveis de transferência de oxigênio. O bagaço de cana *in natura* com granulometria e $0,710 > d_p > 0,425$ mm apresenta um bom potencial para servir de substrato para o crescimento do fungo *Aspergillus niger* em futuros estudos de cultivo desse organismo no reator *airlift*. De acordo com a análise realizada, a faixa



de operação ótima para o biorreator airlift de 2L é com vazão de ar igual ou superior a 32,1 L/min e carga de sólidos de até 1%.

5. NOMENCLATURA

C_{e0} = concentração de O_2 lida pelo eletrodo no início da aeração (%)

C_{eS} = concentração de O_2 lida pelo eletrodo na saturação (%)

d_p = diâmetro da partícula (mm)

$F_{\alpha, v1, v2}$ = valor de F para um intervalo de confiança α com $v1$ graus de liberdade para o modelo e $v2$ graus de liberdade para o erro (-)

k_c = constante de atraso do eletrodo (s^{-1})

k_{La} = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (s^{-1})

Q_{AR} = vazão volumétrica de ar (L/min)

R^2 = coeficiente de correlação do modelo (-)

x_1 = variável codificada carga de sólidos (-)

x_2 = variável codificada vazão de ar (-)

ϵ_G = retenção gasosa global (-)

6. AGRADECIMENTOS

À Embrapa (Projeto 03.08.04.003) e à FAPESP (Projeto BIOEN 2008/56246-0) pelo apoio financeiro.

7. REFERÊNCIAS

AHAMED, A.; VERMETTE, P. Effect of mechanical agitation on the production of cellulases by *Trichoderma reesei* RUT-C30

ina draft tube airlift bioreactor. *Biochem. Eng. J.*, 2010.

AIBA, S.; HUMPHREY, A.E.; MILLIS, N.F. *Biochemical Engineering*, 2nd edition, Tokio, University of Tokio Press, 1973.

CAMPESI, A. Avaliação da velocidade de cisalhamento média em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado. Monografia de mestrado, Departamento de Engenharia Química, São Carlos, SP, Brasil, 2007.

CERRI, M.O. Avaliação das transferências de calor e massa em um biorreator airlift de bancada para a produção de ácido clavulânico. Monografia de mestrado, Departamento de Engenharia Química, UFSCar, São Carlos, SP, Brasil, 2005.

CHISTI, Y. *Airlift bioreactors*. Belfast, Northern Ireland, Elsevier Science Publishers Ltd, 1989.

GONÇALVES, F. M. N. Pré-tratamento de biomassa lignocelulósica visando à produção de enzimas por fermentação semi-sólida. Relatório de Estágio da Embrapa Instrumentação Agropecuária. São Carlos, SP, 2009. 60 p.

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

KIM, S.W.; KANG, S.W.; LEE, J.S. Cellulase and xylanase production by *Aspergillus niger* KKS in various bioreactors. *Bioresource Technology*, v.59, p.63-67, 1997.

RODRIGUES, M.I., IEMMA, A.F. (2005) Planejamento de Experimentos e



Otimização de Processos: Uma estratégia Seqüencial de planejamentos,. Casa do Pão Editora,. 2005.

SIEDENBERG, D.; GERLACH, S.R.; CZWALLINA, A.; SHURGEL, K.; GIUSEPPIN, M.L.F.; HUNIK, J. Production of xylanase by *Aspergillus awamori* on complex medium in stirred tank and airlift tower loop reactors. *Journal of Biotechnology*, v. 56, p.205-216, 1997.

THOMASI, S.S. Avaliação de parâmetros de desempenho de três modelos de biorreatores pneumáticos de bancada. Monografia de mestrado, Departamento de Engenharia Química, São Carlos, SP, Brasil, 2010.

TRAGER, M.; QAZI, G.N.; ONKEN, U.; CHOPRA, C.L. Comparison of airlift and stirred reactors for fermentation with *Aspergillus niger*. *J. Ferment. Bioeng.*, v.68, p.112-116, 1989.