



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – CAMPUS I  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

EVANILDO FRANCISCO DE SOUZA JÚNIOR

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO FENOMENOLÓGICA DE BIORREATOR PARA A  
PRODUÇÃO DE XILITOL A PARTIR DE SISAL (*Agave sisalana*) EM MEIO COM  
*Candida guilliermondii*.**

João Pessoa

2017

Evanildo Francisco de Souza Júnior

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO FENOMENOLÓGICA DE BIORREATOR PARA A  
PRODUÇÃO DE XILITOL A PARTIR DE SISAL (*Agave sisalana*) EM MEIO COM  
*Candida guilliermondii*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em  
Engenharia Química, do Departamento de  
Engenharia Química, da Universidade Federal da  
Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

João Pessoa

2017

S729m Souza Júnior, Evanildo Francisco de

Modelagem e Simulação fenomenológica de biorreator para a produção de xilitol a partir de sisal (*Agave sisalana*) em meio com *Candida guilliermondii*./ Evanildo Francisco de Souza Júnior. – João Pessoa, 2017.

78f. il.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Flávio Honorato da Silva.

Monografia (Curso de Graduação em Engenharia Química) Campus I  
- UFPB / Universidade Federal da Paraíba.

-  
1. Simulação matemática 2. Bioprocessos 3. Fermentação I. Título.

Evanildo Francisco de Souza Júnior

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO FENOMENOLÓGICA DE BIORREATOR PARA A  
PRODUÇÃO DE XILITOL A PARTIR DE SISAL (*Agave sisalana*) EM MEIO COM  
*Candida guilliermondii*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em  
Engenharia Química, do Departamento de  
Engenharia Química, da Universidade Federal da  
Paraíba.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva (CT/UFPB)  
(Orientador)

---

Dr<sup>a</sup> Andrea Lopes de Oliveira Ferreira (CT/UFPB)  
(Examinador)

---

Ms. Débora Jamila Nóbrega de Melo (CT/UFPB)  
(Examinador)

João Pessoa

2017

*Aos meus pais, Evanildo F. de Souza e Maria*

*Ivete de Souza.*

*Por tudo, por serem tudo.*

## AGRADECIMENTOS

A jornada tem sido longa e cheia de descobertas, encontros, cheia de saudade, incertezas e horizontes. Hoje percebo o quanto evolui, graças aos esforços, dedicação, noites mal dormidas e um propósito... fazer valer a pena as escolhas que fiz!

Certamente, estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Gostaria de deixar registrado o meu reconhecimento à minha família, amigos e professores: eles são o substrato sobre o qual se erguem minhas construções, e sempre foram a inspiração e o combustível dos meus desafios.

Aos meus pais, Evanildo e Ivete, que lutaram tanto quanto eu, que fizeram dos meus sonhos o deles, se doaram, me acalentaram e, mesmo na dor da saudade, acreditaram, mais do que ninguém, no meu sucesso.

A meus irmãos Fabricio de Souza, Fabiana de Souza e Ângela de Souza, meus parceiros nas caminhadas ao longo dessa caatinga agreste e bela que nos foi provida por Evanildo e Ivete, e através da qual temos construídos nossos caminhos. Eles sempre me incentivaram e me ofereceram suporte.

Aos meus amigos de longa data Amanda Sampaio, Barbara Alves, José Rotiélio, Priscila Fernandes, Karol Helen e Thuyanne Saraiva, que, apesar da distância, se fizeram presentes e me fortaleceram com seus gestos de carinho e demonstração de afeto. E aos mais recentes e que tem estado ao meu lado diariamente, Alessandra Sipriano, Ananda Muniz, Ana Elizabeth, Mariana Fortini, Natane Tavares, Elayne Andrade, Pábula Vieira, Priscylla Ventura, Romário Ewerton, Vanessa Oliveira, Aleff Castro, Ranielson Dantas e Felipe Muniz, me apoiando, estudando, compartilhando momentos, aprendendo e crescendo junto comigo.

Ao amigo Robson Tamar, pela parceria constante e apoio durante essa jornada.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, pela sabedoria com que me guiou nessa trajetória.

Às professoras Sharline Florentino e Josilene Calvocante, que compartilharam seus conhecimentos com maestria, se mostraram sempre preocupadas e prestativas em âmbitos além dos acadêmicos, sendo um exemplo durante esses anos, me inspirando e me motivando a buscar sempre mais.

Aos meus colegas de pesquisa do LABIO, especialmente Lorena Lucena, Debora Jamile, Ysrael Simoes, Ellen Alves e William Araújo.

Ao Gustavo Bezerra e ao Franklin Xavier, pela concessão de uso de suas dissertações, base para culminância desse trabalho.

À Coordenação do Curso, pela cooperação.

Enfim, a todos os que contribuíram para a realização desse trabalho.

*“Leave it to me as I find a way to be  
Consider me a satellite forever orbiting  
I knew all the rules but the rules did not know me  
Guaranteed”*  
*Eddie Vedder, “Guaranteed”*

*Um viva para ciência! Uau!  
Bart Simpson, em “O cometa Bar”.*

## RESUMO

Resíduos lignocelulósicos submetidos a processos biotecnológicos têm despertado o interesse da ciência, dado o seu alto valor agregado, na busca de se obter viabilidade econômica e reduzir o lançamento de resíduos no meio ambiente. Este trabalho consistiu na avaliação de parâmetros cinéticos previamente obtidos e posterior modelagem um biorreator perfeitamente agitado em escala industrial, operando em regime contínuo. Inicialmente, avaliou-se utilizar dados de duas dissertações de mestrado realizados na UFPB, uma das quais estudou a produção biotecnológica de xilitol a partir do bagaço do sisal (*Agave sisalana*), a outra, a partir de sua fibra, ambas em meio inoculado com *Candida guilliermondii*. As análises preliminares demonstraram que apenas uma das dissertações continha dados passíveis de serem modelados. As variáveis manipuladas na simulação foram concentração inicial de substrato e de células, tempo de residência e vazão de alimentação. As simulações foram realizadas com concentrações iniciais de substrato e células, respectivamente, de  $12,5 \text{ kg m}^{-3}$  e  $5 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $37,5 \text{ kg m}^{-3}$  e  $10 \text{ kg m}^{-3}$ , e  $60,2 \text{ kg m}^{-3}$  e  $15 \text{ kg m}^{-3}$ , cada uma dessas concentrações iniciais avaliadas em tempos residência de 1, 2 e 3 horas, e vazão de 10, 5 e  $3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ . Os parâmetros cinéticos utilizados foram:  $Y_{x/s}=0,50$ ,  $Y_{p/s}=0,34$ ,  $\mu_{\text{máx}}=0,04$  e  $K_s = 4$ , e estes, seguindo a cinética de Monod, foram utilizados para modelar, fenomenologicamente, o biorreator. A maior conversão (2,9164%) foi observada quando a concentração inicial de xilose foi de  $12,5 \text{ kg m}^{-3}$ , e a concentração inicial de células foi de  $5 \text{ kg/m}^3$ , na menor vazão de alimentação ( $F= 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ) e no maior tempo de residência ( $tr = 3 \text{ h}$ ). A maior produtividade obtida ( $0,0134 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) foi aquela com substrato inicial de  $60,2 \text{ kg m}^{-3}$  e biomassa inicial de  $15 \text{ kg m}^{-3}$ . Quando essa mesma a simulação foi testada com parâmetros cinéticos otimizados, tomados da literatura, a conversão do processo biotecnológico aumentou significativamente, obtendo-se uma conversão de 67,10%, produtividade de  $0,40 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  e consumo de xilose de 90,01%. Assim, pode-se inferir que os baixos resultados obtidos no presente estudo são decorrentes de fatores que influenciam o metabolismo da levedura: operacionais (pH, temperatura e/ou aeração); presença de inibidores (derivados de lignina, ácido acético, HMF, furfural); ajuste de parâmetros cinéticos de regime batelada para contínuo; produção conjunta de etanol.

**Palavras-chave:** Simulação matemática. Bioprocessos. Fermentação.

## ABSTRACT

Lignocellulosic residues submitted to biotechnological processes have aroused the interest of science due to its economic viability, aiming to reduce the release of waste into the environment. This work consisted in the evaluation of kinetic parameters previously obtained and in the modeling of a perfectly agitated bioreactor on industrial scale, operating on a continuous basis. Initially, it was evaluated the use of data from two previous works carried out at the UFPB, which studied the biotechnological production of xylitol from the bagasse and fiber of sisal (*Agave sisalana*), both in inoculated medium with *Candida guilliermondii*. Preliminary analyzes showed that only one of the dissertations evaluated contained data that could be modeled. The variables manipulated in the simulation were initial substrate and cell concentration, residence time and feed flow. The simulations were performed at initial concentrations of substrate and cells, respectively, of  $12.5 \text{ kg m}^{-3}$  and  $5 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $37.5 \text{ kg m}^{-3}$  and  $10 \text{ kg m}^{-3}$ , and  $60.2 \text{ kg m}^{-3}$  and  $15 \text{ kg m}^{-3}$ , each of these initial concentrations evaluated at residence times of 1, 2 and 3 hours, and flow rate of 10, 5 and  $3.33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ . The kinetic parameters used were:  $Y_x/s = 0.50$ ,  $Y_p/s = 0.34$ ,  $\mu_{\max} = 0.04$  and  $K_s = 4$ , which were used to model the bioreactor, according to the Monod kinetics. The highest conversion (2.9164%) was observed when the initial xylose concentration was  $12.5 \text{ kg m}^{-3}$ , and the initial cell concentration was  $5 \text{ kg m}^{-3}$ , at the lowest feed rate ( $F = 3.33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ) and the longest residence time ( $tr = 3\text{h}$ ). The highest productivity ( $0.0134 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) was obtained with initial substrate of  $60.2 \text{ kg m}^{-3}$  and initial biomass of  $15 \text{ kg m}^{-3}$ . The biotechnological process increased significantly when the same simulation was tested with the optimized kinetic parameters, with a conversion of 67.10%, productivity of  $0.40 \text{ kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  and consumption of xylose of 90, 01%. Thus, it can be inferred that the low results obtained in the present study are due to factors influencing the yeast metabolism: operational (pH, temperature and / or aeration); presence of inhibitors (lignin derivatives, acetic acid, HMF, furfural); adjustment of kinetic parameters from batch to continuous; production of ethanol.

**Keywords:** Mathematical simulation. Bioprocesses. Fermentation.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	14
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	16
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	17
<b>3.1 Biorrefinarias e materiais lignocelulósicos.....</b>	17
<b>3.2 Sisal .....</b>	23
3.2.1 Aspectos Gerais .....	23
3.2.2 Produção do sisal no Brasil .....	24
3.2.3 Fibras do Sisal: características.....	25
3.2.4 Resíduo do desfibramento – Bagaço .....	26
3.2.5 Aplicações do sisal .....	27
<b>3.3 Xilitol: histórico e aplicações .....</b>	27
3.3.1 Produção de xilitol.....	29
3.3.2 Variáveis que afetam o crescimento microbiano para produção de xilitol.....	33
<b>3.4 Biorreatores e processos fermentativos .....</b>	36
<b>3.5 Modelagem e simulação matemática .....</b>	41
3.5.1 Derivação do Método de Runge-Kutta de Segunda Ordem .....	43
3.5.2 Método de Runge-Kutta Terceira Ordem .....	44
3.5.3 Método de Runge-Kutta Quarta Ordem .....	44
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	46
<b>4.1 Cinética da fermentação .....</b>	46
<b>4.2 Obtenção de parâmetros cinéticos da equação de Monod .....</b>	46
4.2.1 Determinação da velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) .....	46
4.2.2 Fatores de conversão .....	47
4.2.3 Constante de Saturação de Monod .....	47
<b>4.3 Modelagem fenomenológica do Biorreator .....</b>	48

4.3.1 Balanço material de biomassa .....	48
4.3.2 Balanço material para o substrato.....	49
4.3.3 Balanço de material para o produto.....	50
<b>4.4 Simulação em Excel com o método de Runge-Kutta de quarta ordem .....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 Respostas analisadas .....</b>	<b>52</b>
4.5.1 Produtividade volumétrica (Q <sub>p</sub> ) .....	52
4.5.2 Rendimento (η).....	52
4.5.3 Consumo de Xilose (C <sub>x</sub> ) .....	52
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>5.1 Análise de parâmetros cinéticos: Bezerra (2016) e Xavier (2016).....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 Simulação em Excel .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO 3.....</b>	<b>78</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Diagrama de conceito de biorrefinaria .....	17
<b>Figura 2</b> - Estrutura linear da celulose. As linhas construídas por pequenos traços esquematizam as possíveis ligações de hidrogênio .....	19
<b>Figura 3</b> - Fluxograma de produtos obtidos a partir da fração hemicelulósica .....	20
<b>Figura 4</b> - Estrutura da parede celular de uma fonte de biomassa lignocelulósica.....	21
<b>Figura 5</b> - Desconstrução estrutural de material lignocelulósico com auxílio do pré-tratamento .....	22
<b>Figura 6</b> - <i>Agave sisalana</i> , a planta do sisal .....	24
<b>Figura 7</b> - Produção do sisal no Brasil de 1980 a 2014 .....	25
<b>Figurab 8</b> - Fibra da planta do sisal após desfibrilamento.....	26
<b>Figura 9</b> - Bagaço (material esverdeado na base da figura) gerado do processo de desfibrilamento por pequenos agricultores .....	27
<b>Figura 10</b> - Características e propriedades físico químicas do xilitol .....	29
<b>Figura 11</b> - Fluxograma da produção de xilitol por rota química empregando fibra de milho como matéria-prima.....	30
<b>Figura 12</b> - Esquema simplificado do metabolismo de xilose em leveduras .....	32
<b>Figura 13</b> - Tipos de biorreatores mais utilizados: (a) tanque agitado (b) coluna de bolhas (c) air-lift (d) fluxo pistonado (e) leito fixo com células immobilizadas (f) leito fluidizados com células (g) membrana plana (h) fibra oca .....	36
<b>Figura 14</b> - Curvas idealizadas de $X = X(t)$ , $P = P(t)$ e $S = S(t)$ para um cultivo genérico .....	38
<b>Figura 15</b> - Fluxograma representativo das etapas executadas na pesquisa.....	46
<b>Figura 16</b> - Gráfico genérico de Lineweaver-Burk para determinar a constante de Monod.....	48
<b>Figura 17</b> - Esquema simplificado de um CSTR contínuo.....	48
<b>Figura 18</b> - Algoritmo para resolução de Runge-Kutta de quarta ordem em Excel .....	51
<b>Figura 19</b> - Curvas de consumo de substrato, formação de células e produto .....	53
<b>Figura 20</b> - Curvas de consumo de substrato, formação de células e produto .....	54

**Figura 21** - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 12,5 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 5 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  ..... 57

**Figura 22** - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 37,5 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 10 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  ..... 58

**Figura 23** - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 60,2 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 15 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  ..... 59

**Figura 24** - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 60,2 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento de células ( $X_0 = 15 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção xilitol com  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  ..... 62

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição química parcial de alguns resíduos lignocelulósicos.....	21
<b>Tabela 2</b> - Classificação taxonômica do Sisal. ....	23
<b>Tabela 3</b> - Principais fatores que influenciam a bioconversão de xilose em xilitol .....	35
<b>Tabela 4</b> - Modelos cinéticos que levam em conta a inibição pelo substrato, produto e concentração de biomassa. ....	40
<b>Tabela 5</b> - Parâmetros calculados a partir da fermentação do licor hidrolisado do bagaço de sisal por Bezerra (2016).....	53
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros calculados a partir da fermentação do licor hidrolisado da fibra do sisal por Xavier (2016). ....	54
<b>Tabela 7</b> - Dados iniciais de biomassa, substrato, tempo de residência, volume, vazão de alimentação e temperatura utilizadas na simulação e modelagem proposta. ....	56
<b>Tabela 8</b> - Valores de conversão, produtividade e consumo de xilose para cada condição considerada nesse estudo.....	60

## 1 INTRODUÇÃO

As principais fontes energéticas utilizadas no século atual ainda estão diretamente atreladas aos combustíveis fósseis. Panwar et al. (2011) afirmam que o consumo de energia proveniente destes combustíveis aumentou nas últimas décadas, associada ao aumento da qualidade de vida e industrialização das nações ricas, assim como motivado pelo aumento da população mundial.

Mekhilef et al. (2011) afirmam que 80% do consumo mundial atual de energia realizado pelas indústrias vem de fontes convencionais, produtoras de CO<sub>2</sub>. Por outro lado, Panwar et al. (2011) afirmam que a consciência de que tais fontes de energia têm reservas finitas e que, ao mesmo tempo, têm reconhecidos impactos negativos sobre o equilíbrio natural do planeta, têm tornado a busca por energia renovável um tema politicamente aceitável.

Uma das possíveis formas de amenizar esse impacto e reduzir o uso de resíduos fósseis é a utilização de biomassa vegetal, a qual é constituída de uma potencial fonte de carbono e energia, e que pode ser empregada em bioprocessos para a produção de diversos produtos de valor agregado, com relevantes aplicações nas indústrias farmacêutica e de alimentos. Vários autores destacam o uso de rejeitos vegetais como substrato para produção de bicombustíveis e bioproductos, tais como xilitol (SILVA; MUSSATO; ROBERTO, 2001), etanol (NIGAM, 2001), proteína microbiana (ALMEIDA et al., 1995), combustíveis líquidos, como 2,3-butanodiol (GROVER et al., 1990), butanol e vários outros produtos que se utilizam das vias das fosfopentoses.

Neste contexto, Souza e Santos (2002) salientaram que o Brasil é indicado como sendo um dos países com alto potencial na produção destes materiais lignocelulósicos, tais como: produtos agrícolas, florestais e resíduos como o bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de sisal, a palha de arroz, a palha de trigo, a casca de aveia e as aparas de madeira. Estes autores informam também que a produção destes materiais é de, aproximadamente, 250 milhões de toneladas/ano, e que a utilização adequada destes resíduos ajuda a minimizar problemas ambientais e energéticos.

O sisal – *Agave sisalana*, espécie pertencente à família *Agavaceae*, originária do México e cultivada na região semiárida do Nordeste brasileiro, desempenha um papel de crescente importância para economia brasileira. Na fibra do sisal existe uma quantidade superior de celulose, equivalente a 10% a mais que no bagaço de cana, principal resíduo utilizado na atualidade, destacando a quantidade significativa de material gerador de açúcares

fermentáveis, cerca de 90%. Estas informações reforçam a pertinência de se estudar o sisal como matéria prima na obtenção de bioproductos (DEBNATH et al., 2013).

Além de agregar valor ao sisal, há uma redução bastante considerável de custos de processos. O uso dessa matéria prima é uma alternativa de grande importância para a indústria química: tanto a fibra quanto o resíduo do sisal possuem baixo valor econômico, além de assegurar alternativas para minimizar os impactos ambientais, valorizar a manutenção da produtividade agrícola de sisal e a produção dos polióis na indústria, com retornos econômico-financeiros adequados, ao mesmo tempo em que responde a desafios de sustentabilidade (BOTURA et al., 2013).

Anualmente, cerca de 550 mil toneladas de rejeitos do sisal são despejadas de forma incorreta no meio ambiente (IBGE, 2016). A utilização desta matéria lignocelulósica como matéria prima para bioconversão em etanol de segunda geração e xilitol vem sendo estudada por diversos autores. Para haver o aproveitamento deste material, utiliza-se pré-tratamentos (ácidos ou básicos), os quais buscam deixar a celulose mais exposta, facilitando a solubilização dos açúcares. Xilose, arabinose e glicose são os principais açúcares encontrados, que são pentoses e hexoses originadas da fração hemicelulósica da biomassa e que são convertidas a xilitol e etanol a partir do processo de fermentação utilizando a levedura *Candida guilliermondii* e/ou outros microrganismos (BEZERRA, 2016).

Em vista do que foi tratado acima, foi concebido um estudo simulatório a partir do método numérico de integrações de Runge-Kutta de quarta ordem, utilizando como base os dados decorrentes dos trabalhos de Xavier (2016) e Bezerra (2016) para o cálculo da produção de xilitol a partir do hidrolisado de sisal, o qual justifica-se pela grande disponibilidade da fibra e do bagaço de sisal na região, pelo custo relativamente baixo para a obtenção desses materiais, e pelo fato de que não são utilizados na produção de alimentos. Ademais, o tratamento desenvolvido nesse estudo vai de encontro à necessidade de se instaurar uma via biotecnológica para esse tipo de processo, que assegure o aproveitamento da fibra e bagaço do sisal, incentivo à produção da cultura do sisal (produção predominante por pequenos agricultores) e que agregue valor à biomassa resultante de rejeitos vegetais.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi modelar um biorreator contínuo e perfeitamente agitado, em escala industrial, por meio dos balanços dinâmicos de massa para as concentrações de substratos obtidos a partir do licor hidrolisado de sisal, de produtos (xilitol) e de células (*Candida guilliermondii*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Estudar a cinética fermentativa da bioconversão do hidrolisado da fibra do sisal para produção de xilitol, utilizando a levedura *Candida guilliermondii* a partir dos dados fornecidos na dissertação de Xavier (2016);
- Estudar a cinética fermentativa da bioconversão do hidrolisado do bagaço do sisal para produção de xilitol, utilizando a levedura *Candida guilliermondii* a partir dos dados fornecidos na dissertação de Bezerra (2016);
- Modelar biorreator contínuo e perfeitamente agitado por meio dos balanços dinâmicos de massa.

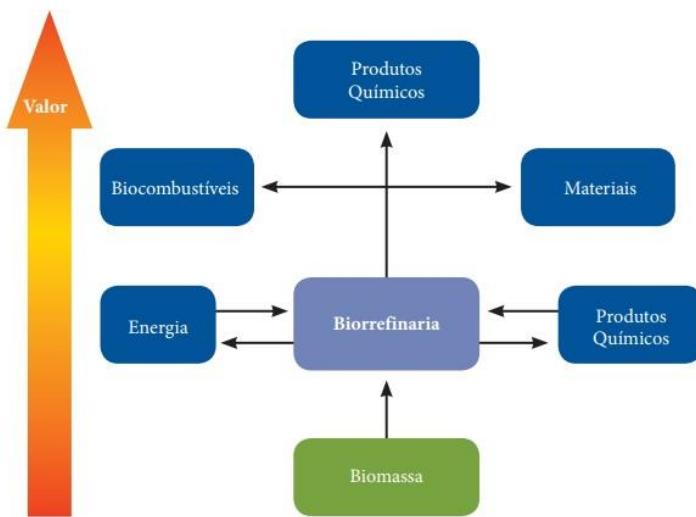
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Biorrefinarias e materiais lignocelulósicos

Biorrefinaria é definida por Bastos (2007) como um termo relativamente novo que se refere ao uso de matérias primas renováveis e seus resíduos, de maneira integral e diversificada, para a produção de uma variedade de substâncias e de energia através de rotas químicas ou biotecnológicas, com mínima geração de resíduos e emissões de gases poluidores.

Por sua vez, Vaz Jr. (2011) entende o conceito de biorrefinaria como o aproveitamento otimizado de matérias primas decorrentes de cadeias produtivas da biomassa, de forma a lhes agregar valor e reduzir impactos ambientais decorrentes dessas cadeias. Segundo o mesmo autor, a finalidade de uma biorefinaria consiste na produção de cadeias de valor similares àquelas dos derivados do petróleo, porém com menor impacto ao meio ambiente – uma biorrefinaria é concebida como um espaço no qual podem ser desenvolvidos processos de obtenção de biocombustíveis, produtos químicos, energia elétrica e calor, conforme representado na figura 1.

**Figura 1 - Diagrama de conceito de biorrefinaria**



**Fonte:** Vaz Jr. (2011)

Os bioproductos decorrentes dos vários tratamentos que se podem desenvolver em uma biorrefinaria podem ser utilizados como antioxidantes, resinas fenólicas, solventes, agentes

antivirais, agentes sequestrantes, preservantes de madeira, estabilizantes enzimáticos, controladores de vazamento de óleo, dentre outros, segundo Vaz Jr. (2011).

Os derivados de maior potencial industrial são ácidos carboxílicos, como ácidos lático e succínico, etanol, sorbitol, os quais poderão ser utilizados como solventes, combustíveis, monômeros para plásticos, intermediários químicos para a indústria farmacêutica e de química fina em geral (UNITED STATES DEPARTMENT OF ENERGY, 2004).

A *United States Department of Energy*, importante entidade norte-americana que, entre outras atribuições, ocupa-se de pesquisa relacionadas à produção e conservação de energia, comenta a importância do biocarvão, obtido através de incineração de biomassa em presença controlada de oxigênio. O biocarvão pode ser utilizado como fertilizante de liberação controlada (SOHI et al., 2010), na prevenção da poluição ambiental e na descontaminação de corpos d'água e de solo impactados por metais tóxicos (MOHAN et al., 2007).

Fontes de energia a partir de biomassa são variadas e podem ser qualquer tipo de matéria vegetal ou mesmo restos animais. Da biomassa de origem vegetal se utilizam materiais celulósicos ou lignocelulósicos. Em geral, a biomassa lignocelulósica é definida como um recurso natural renovável que pode ser processado para fornecer formas bioenergéticas mais elaboradas e adequadas para o uso final (BNDES, 2008).

Recentemente, a biomassa lignocelulósica vem ganhando atenção como matéria-prima para a produção de bioenergia e bioproductos. Os resíduos lignocelulósicos são abundantes fontes de carboidratos e sua bioconversão tem recebido grande atenção nos últimos anos. Processos utilizando esse tipo de resíduo como matéria-prima podem minimizar a falta de alimentos para as populações humanas, assim como reduzir desperdícios e a dependência do homem em relação aos combustíveis fósseis, dado que essas matérias podem prover uma fonte renovável de energia na forma de glicose (OJUMU et al., 2003).

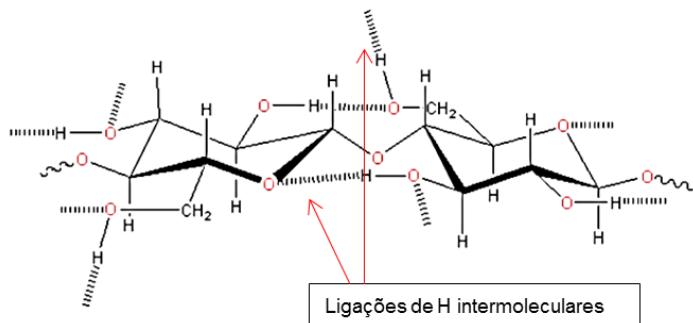
O Brasil dispõe de uma grande variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais cujo bioprocessamento seria de grande interesse econômico e social. Dentre estes exemplos figuram os resíduos derivados de atividades como as indústrias de papel e celulose, serrarias, usinas de açúcar e álcool e unidades de produção agrícola geradoras de resíduos como a palha de culturas de cereais, como o milho, sisal entre outros.

As fibras lignocelulósicas são originárias de várias partes de um vegetal, tais como tronco, folhas ou frutos, e têm a mesma constituição, independente da parte da qual se origina de um vegetal. Essas fibras são constituídas de celulose e lignina cementadas por polissacarídeos denominados conjuntamente como hemicelulose. Ao conjunto formado pela

celulose e hemicelulose se denomina holocelulose, e é ele que forma a estrutura das plantas (KLOCK et. al., 2005).

A celulose é o principal e mais abundante elemento estrutural das plantas cuja forma geral é ( $C_6H_{10}O_5$ ) (Figura 3) e consiste de unidades de celobiose com ligações intermoleculares unidas por pontes de hidrogênio e forças de Van der Walls envelopadas em uma matriz de hemicelulose e lignina que impedem os ataques químicos (IOELOVICH, 2008). A celulose pode ter regiões cristalinas (em virtude da posição de ligações de hidrogênio entre as cadeias) ou não cristalinas (baixo nível de organização dessas pontes). Nelson (2002) destaca que a molécula de celulose é um homopolímero linear e não ramificado, de 10 a 15 mil unidades de D-glicose unidas por ligações glicosídicas.

**Figura 2 - Estrutura linear da celulose. As linhas construídas por pequenos traços esquematizam as possíveis ligações de hidrogênio**

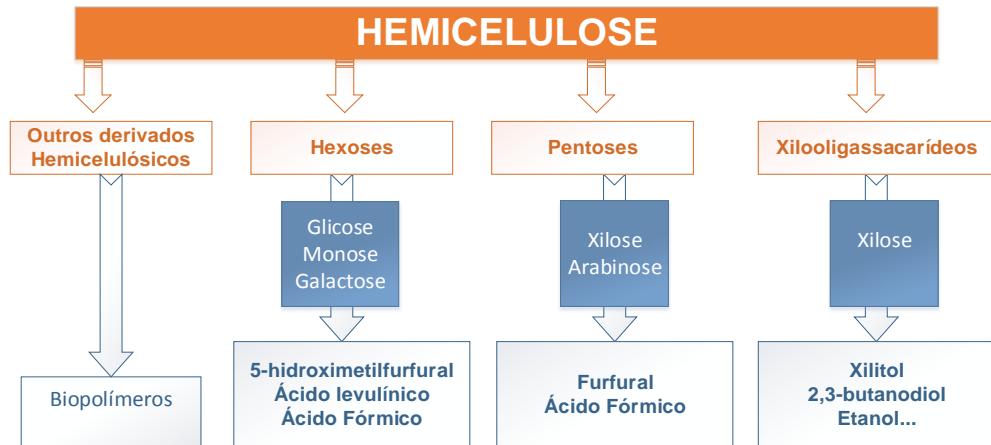


Fonte: Adaptado de Coughlan et al. (1985)

A hemicelulose é a denominação dada a um conjunto de polissacarídeos (glicose, manose, galactose, xilose, arabinose, ácido 4-o-metil-glucurônico e resíduos de ácido glucurônico) que promovem a ligação entre a celulose e a lignina (ROWELL, 1984). Esses açúcares têm sempre configuração irregular, portanto, não cristalina, e são responsáveis pela flexibilidade das plantas (TABIL; ADAPA; KASHANINEJAD, 2011).

Na conversão de bioprodutos, a porção hemicelulósica destaca-se por possibilitar múltiplas derivações de produtos (Figura 3) sendo facilmente hidrolisada a pentoses e hexoses, transformada em xilitol e demais substâncias de valor agregado (CANILHA et al., 2003).

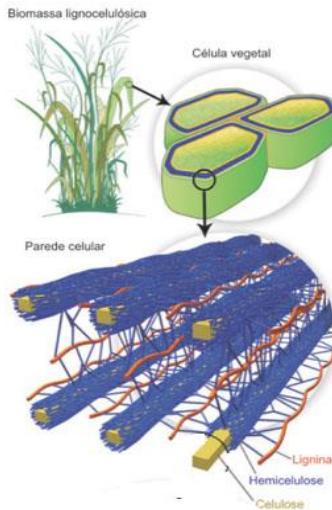
**Figura 3 - Fluxograma de produtos obtidos a partir da fração hemicelulósica**



Fonte: Adaptado de PENG et. al (2012)

As fibras mais flexíveis, ricas em celulose e hemicelulose, estão ligadas à lignina, material mais abundante na planta, depois da celulose. Consideradas uma classe de matérias, dado que diferem, dependendo da espécie, da parte do corpo da planta ou da sua idade, as ligninas podem ser divididas em duas classes: ligninas guaiacila e ligninas guaiacila-ciringila, ambas também constituídas de uma proporção menor de unidades p-hidroxifenila. As ligninas são constituídas de três compostos fenólicos e conferem à parede dos vegetais rigidez e resistência ao impacto, compressão e dobra (LEE, 1997). Na figura 4, vê-se a estrutura de uma biomassa lignocelulósica, destacando-se a celulose, hemicelulose e lignina, seus principais constituintes.

**Figura 4 - Estrutura da parede celular de uma fonte de biomassa lignocelulósica**



**Fonte:** Adaptado de GENOMICS (2010)

A Tabela 1 abaixo mostra as quantidades de celulose, hemicelulose e lignina presentes nos resíduos destacados e promissores para produção de xilitol.

**Tabela 1 - Composição química parcial de alguns resíduos lignocelulósicos**

Resíduos lignocelulósicos	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
<b>Farelo de cevada</b>	23,0	32,7	24,4	CRUZ et al. (2000)
<b>Sabugo de milho</b>	31,7	34,7	20,3	CRUZ et al. (2000)
<b>Palha de arroz</b>	43,5	22,0	17,2	MUSSATO e ROBERTO (2002)
<b>Casca de aveia</b>	30,5	28,63	23,09	FELIPE et al. (2003)
<b>Bagaço da cana</b>	32-48	19-24	23-32	SANTOS et al. (2012)
<b>Bagaço do Sisal</b>	36,40	19,81	15,46	VANDENBOSSCHE et al (2014)
<b>Fibra do sisal</b>	45,34	23,13	11,56	SOUZA JR et al. (2017)

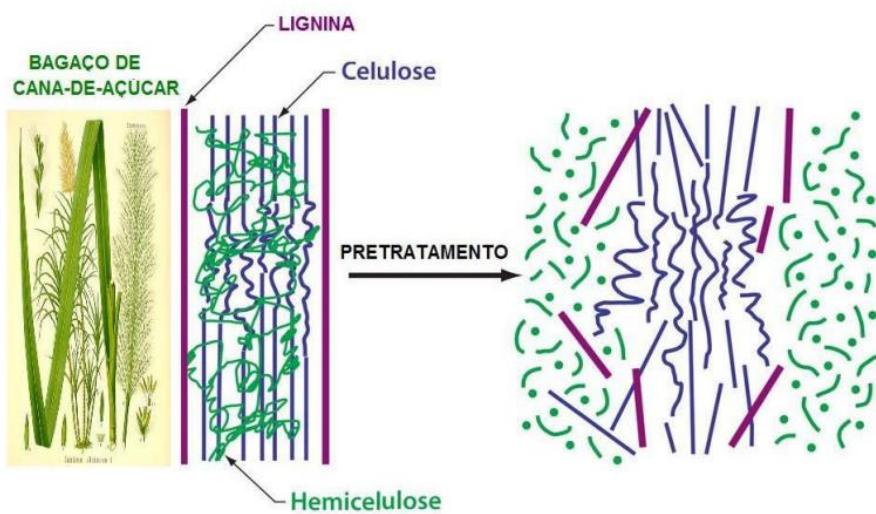
**Fonte:** Autor (2017)

Dentre as diferentes biomassas que compõem os materiais lignocelulósicos o bagaço e a fibra do sisal são fontes promissoras para bioprodução de xilitol e etanol de segunda geração.

A viabilidade de se utilizar resíduos vegetais na produção de produtos biotecnológicos requer a utilização de pre-tratamentos a fim de romper as estruturas lignina-celulose-hemicelulose (TEIXEIRA et al., 2008). Saha (2005) enfatizou que a ausência de etapa de pré-tratamento nos processos industriais resultam numa redução da efetividade do processo, devido à inacessibilidade dos açúcares presentes na biomassa.

Os processos convencionais de separação (cristalização, extração ou precipitação) não são utilizados neste complexo de lignina-celulose-hemicelulose, visto que, pelo menos um, pode ser degradado (PARAJÓ, 1998). Quando submetidos a hidrólise, cuja representação está provida na Figura 5, esses resíduos liberam os açúcares fermentescíveis, tornando-os úteis para serem utilizados em bioprocessos (KUMAR et al., 2009). Dawson e Boopathy (2008) destacam o uso da hidrólise alcalina; Pan et al., (2005) utilizaram em seu estudo a hidrólise enzimática, e Zhao, Wang e Liu (2008) fizeram uso da hidrólise ácida para pré-tratamento de materiais lignocelulósicos.

**Figura 5 - Desconstrução estrutural de material lignocelulósico com auxílio do pré-tratamento**



Fonte: Department of energy – USA (2009)

### 3.2 Sisal

#### 3.2.1 Aspectos Gerais

A classificação botânica do Sisal, segundo Medina (1954) e Sanches Potes et al. (1991) consta da Tabela 2. Estes autores reforçaram que o gênero *Agave* engloba aproximadamente 300 espécies nativas das zonas tropicais e subtropicais da América do Norte e América do Sul. Deste gênero, somente duas espécies se destacam por sua importância comercial para a produção de fibra: *A. sisalana* e *A. fourcroydes*.

**Tabela 2 - Classificação taxonômica do Sisal**

<b>Classe</b>	Monocotiledônea
<b>Série</b>	<i>Liliflorea</i>
<b>Família</b>	<i>Agavaceae</i>
<b>Subfamília</b>	<i>Agavoidea</i>
<b>Gênero</b>	<i>Agave</i>

**Fonte:** Sanches Potes et al. (1991)

A *Agave sisalana*, popularmente conhecida como Sisal, é uma planta nativa da península de Yucatan, México, trazida para o Nordeste brasileiro em 1903 e sua exploração comercial só iniciou-se por volta da década de 1930 (RECURSOS HÍDRICOS, 2004).

Silva (1999) define o sisal como sendo uma planta semixerófila e, por isso, ela foi introduzida principalmente nos estados da Paraíba, Rio Grande do Norte e Bahia, devido às características ambientais nesses estados (incluem áreas com menores índices pluviométricos da caatinga, especialmente os dois primeiros), que estão de acordo com as características de adaptabilidade da planta.

Pinto (1996) descreve:

O sisal é uma planta de folhas rígidas, lisas, de cor verde brilhante, em forma de espada de 10 a 15 cm de largura por 1 a 2 metros de cumprimento; na extremidade da folha encontra-se um espinho redondo, marrom de 20 a 25 cm de cumprimento. Cada planta desenvolve de 10 a 40 folhas por ano. Essas folhas têm uma inclinação variada em relação ao eixo vertical da planta. (PINTO, 1969. p. 17).

O principal produto de interesse extraído desta planta são suas fibras, que se encontram na folha da planta. Na figura 6 vê-se a planta do sisal.

**Figura 6 - *Agave sisalana*, a planta do sisal**



**Fonte: CONAB (2010)**

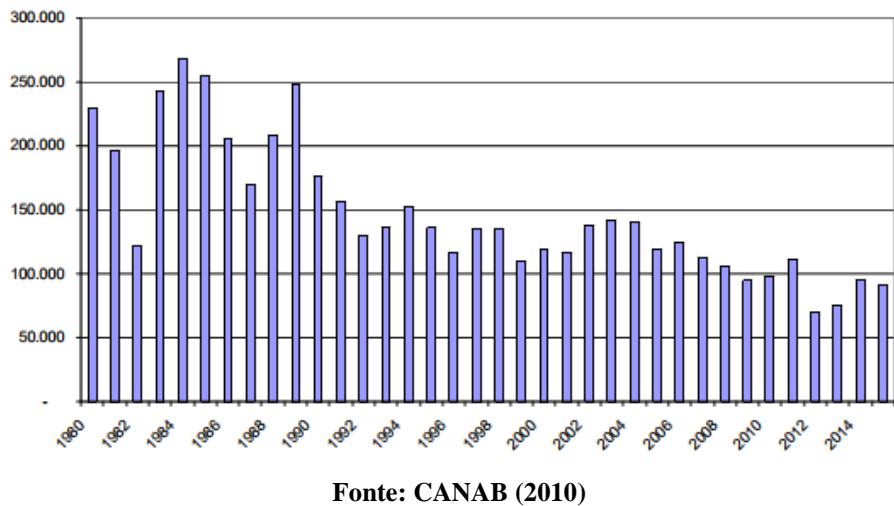
Prossiga (2004) destacou que o desenvolvimento perfeito do sisal requer altitude entre 200 e 800 metros acima do nível do mar, temperatura com média em torno de 20 – 28° C, precipitação pluvial entre 600 e 1500 mm/ano, solos silicosos, sílico-argilosos, permeáveis, de média fertilidade, com teor de calcário, ricos em potássio e fósforo, e relativamente profundos. Suportam estiagens, todavia, médias inferiores a 400 mm interferem negativamente no rendimento e qualidade da fibra.

### 3.2.2 Produção do sisal no Brasil

O sisal foi introduzido na Bahia, mais especificamente, no município de Santa Luz, área hoje denominada região sisaleira. Posteriormente, foi difundida pelo Nordeste (Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Pernambuco) devido ao fato do clima da região ser propício ao desenvolvimento desta planta.

Em 2010, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), o Brasil foi responsável por mais de 50% da produção mundial do sisal, obtendo posição de destaque entre vários outros países produtores. Adicionalmente, o Brasil destaca-se por ser o maior exportador de fibra de sisal do mundo, sendo mais de 80% da produção destinados para exportações (destinada ao México, Estados Unidos e Portugal). A produção brasileira de sisal em 2015, estimada pela CONAB, foi de 91,1 mil toneladas. Tal volume é 4,7 % inferior às 95,4 mil toneladas verificadas em 2014, como pode ser observado na Figura 7.

**Figura 7- Produção do sisal no Brasil de 1980 a 2014**



**Fonte: CANAB (2010)**

Ainda em 2015, foram exportadas 66,2 mil toneladas do produto, 5% a menos do total exportado em 2014. Todavia, essa retração, foi compensada pelo aumento no valor *Free On Board* (FOB) médio obtido, em dólares, e pela valorização cambial ocorrida no período. As exportações somaram US\$ 124 milhões, 7% a mais que em 2014.

A produção de sisal na Paraíba se concentra em propriedades de agricultores familiares. As principais microrregiões produtoras de sisal no Estado estão localizadas em Picuí, Barra de Santa Rosa, Casserengue e Nova Floresta.

### 3.2.3 Fibras do Sisal: características

De acordo com os postulados de Rowel et al., (1997) e Fengel e Wegener (1984), há diversas fontes de onde podem ser retiradas as fibras vegetais: do caule da planta (juta, malva, bagaço de cana-de-açúcar, bambu), das folhas (sisal, bananeira, abacaxi, curauá), fruto (algodão, coco), tronco (madeira), entre outros. A constituição destes materiais degradáveis varia consideravelmente, todavia, são constituídos basicamente de celulose, lignina e hemicelulose.

O sisal aparece como uma matéria prima ideal, igualando-se ao bagaço da cana-de-açúcar, tanto pelo seu custo relativamente baixo de biomassa e por não ser usado como fonte de alimento e, ao mesmo tempo, apresentar alto teor de celulose (cerca de 10% a mais que a cana de açúcar). Considerando também a hemicelulose, a fibra de sisal tem cerca de 90% de material gerador de açúcares fermentáveis, que formam polióis a partir do processo de fermentação. Apresenta também excelente resistência à ruptura e ao alongamento, além de

notável resistência à água salgada (aumento de resistência quando molhada). Possui uma aplicabilidade bastante significativa e houve um aumento considerável, na última década, com relação ao seu uso como fonte de biomassa (VASCONCELOS, 2009).

Sua constituição e utilização é base de estudo para diversos autores. Medina (1954) determinou que a fibra de sisal é composta por 65,8% de celulose, 12% de hemicelulose e 9,9% de lignina e 0,8% de pectina. Mwaikambo *et. al.* (2002), por outro lado, reportaram 73% de celulose, 13% de hemicelulose, 11% de lignina e 2% de pectina.

Na Figura 8, abaixo, estão dispostas imagens da fibra de sisal após desfibrilamento.

**Figura 8 - Fibra da planta do sisal após desfibrilamento**



**Fonte: CONAB (2010)**

### 3.2.4 Resíduo do desfibrramento – Bagaço

O resíduo do desfibrramento do sisal, denominado bagaço, é constituído de suco e seiva vegetal, partículas de tecido parenquimatoso esmagado e pedaços da folha e fibras de diferentes tamanhos (SILVA, 1999). Laksesvela e Said (1970), Gohl (1975) e Harrison (1984) relatam o uso do bagaço como fonte de alimentação para animais. Estas afirmações corroboram as afirmações de Paiva *et al.* (1986), que mencionam o uso deste bagaço como fonte alimentar para bovinos, ovinos e caprinos, principalmente no Nordeste brasileiro, em período de estiagens.

Souza (2001) e Brandão *et al.* (2008) consideram viável a utilização deste resíduo, visto que não sendo utilizado para complementar a ração animal, será apenas descartado no meio ambiente, provocando grandes efeitos nocivos ao ecossistema. Todavia, a presença de grande quantidade de fibra (bucha) e suco (seiva) ocasiona a oclusão do rúmen do animal em função da sua não degradação pela flora bacteriana, causando timpanismo (FIGUEIREDO, 1974).

Diante disto, Silva & Bretão (1999) sugerem que haja uma mucilagem deste bagaço in natura antes de ser fornecido aos animais.

Na Paraíba, a produção do sisal (Figura 9) é concentrada principalmente pelos pequenos produtores, o que torna inviável economicamente utilizar o processo de mucilagem, e, assim, esses dejetos são apenas lançados no meio ambiente. Recentemente, estudos apontam este bagaço como fonte de biomassa promissora para produção de polióis.

**Figura 9 - Bagaço (material esverdeado na base da figura) gerado do processo de desfibramento por pequenos agricultores**



**Fonte: CONAB, 2010**

### 3.2.5 Aplicações do sisal

A aplicabilidade das fibras do sisal é bastante ampla. Quando industrializada, vê-se seu uso na indústria automobilística e também na fabricação de cordas, barbante, cabos marítimos, tapetes, sacos, vassouras, estofamentos, e artesanato; além disso, são empregadas na fabricação de pasta celulósica para produção do papel Kraft de alta resistência, e de outros tipos de papel fino, como para cigarro, filtro, absorvente higiênico, fraldas, entre outros (MARTIN, 2009).

## 3.3 Xilitol: histórico e aplicações

O xilitol foi descoberto em 1891 por Emil Fischer e, desde 1960, sua utilização como edulcorante tem crescido exponencialmente. No Brasil, em 1980, foi aprovado como produto dietético pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos do Ministério da Saúde (DIMED), conforme processo nº 4624/79, comunicado nº 730/80, de 07 de julho de 1980 (AGUIAR et. al., 1999).

Wei et al. (2010) reportaram que o xilitol é um poliol ou açúcar-álcool como o sorbitol, maltitol, manitol, eritritol, lactol e isomalte de cinco carbonos, com a fórmula:  $C_5H_{12}O_5$  (1,2,3,4,5 pentahidroxi pentano), e peso molecular 152,15 g mol<sup>-1</sup>. O xilitol é um adoçante natural encontrado em muitas frutas e outras partes de plantas (MURPHY et al., 2005) e, também, encontrado em organismos de mamíferos (MATILA et al., 2005). Por ser um adoçante natural, este poliol tem despertado o interesse crescente nas indústrias farmacêuticas, odontológicas e de alimentação, principalmente pelo fato de possuir baixo teor de açúcar e valor calórico, e por possuir algumas propriedades físicas e químicas superiores à sacarose (MISTRA et al., 2011).

O xilitol é caracterizado como um aditivo atóxico, tipo GRAS (*Generally Recognised as Safe*) pela FDA (*Food and Drug Administration*) dos EUA, podendo ser incorporado em alimentos (HAHN-HAGERDAL et al., 1984) e a ANVISA classifica-o como sendo aditivo alimentar (umectante) usado na produção de gomas de mascar, compotas, caramelos, chocolates, geléias, sobremesas e pudins; na área de dentifrícios, os cremes dentais e as soluções para lavagem bucal também incluem essa substância. No cenário mundial da produção deste poliol, 42% são utilizados em processamentos de alimentos, 22% em preparação de cosméticos e produtos de higiene, 21% como intermediário na produção de químicos e 15% em aplicações farmacêuticas (BUSINESS COMMUNICATIONS Co. INC., 2002).

Leathers (2003) descreve o xilitol como sendo um substituto adequado do açúcar para pessoas portadoras de diabetes, visto que ele é metabolizado por vias independentes de insulina. Aguirrezero (1993) ressalta que o xilitol previne ataques bacterianos ao esmalte dos dentes e age sobre as lesões já existentes. Há também a retenção de glicose na boca, que auxilia na prevenção de caries. Na Figura 10 estão descritas algumas propriedades físicoquímicas do xilitol.

**Figura 10 - Características e propriedades físico químicas do xilitol**

Propriedades	Características ou Valores
Fórmula empírica	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>
Massa molar	152,15 g/mol
Aparência	Pó cristalino
Cor	Branca
Sabor	Doce
Odor	Nenhum
Ponto de Fusão	92-96 °C
Ponto de Ebulação	216 °C (1 atm)
pH (solução aquosa a 10%)	5-7
Densidade (solução aquosa a 10%)	1,03 g/mL
Solubilidade em água a 20 °C	63 g/100 g solução
Viscosidade (solução aquosa a 10%)	1,23 cP (a 20 °C)
Calor de Solução (endotérmico)	34,8 cal/g
Valor Calórico	2,4 kcal/g
Índice de Refração (25 °C)	1,3471 (solução aquosa a 10%)
Higroscopidade	Em elevada umidade relativa, é mais higroscópico que a sacarose e menos que o sorbitol
Poder adoçante	Similar ao da sacarose, superior ao do sorbitol e manitol
Estabilidade	Estável a 120 °C (não carameliza)

Fonte: Mussatto e Roberto (2002)

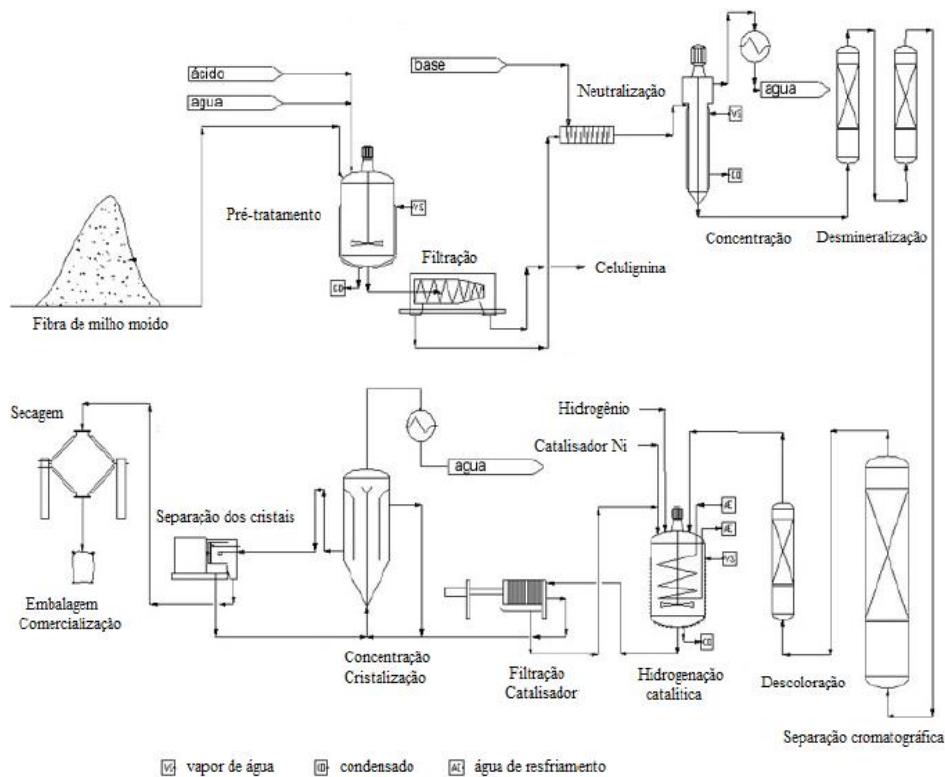
### 3.3.1 Produção de xilitol

Como mencionado anteriormente, o xilitol é encontrado naturalmente em frutas e vegetais, todavia, em pequenas quantidades. A obtenção do deste poliol, neste caso, é feita a partir de extração sólido-liquido, porém, em função de sua baixa concentração (900 mg/100g), este processo é inviável economicamente (EMODI, 1978).

Para produção em alta escala do xilitol, recorre-se muito à rota química. Quimicamente, o xilitol é obtido a partir da xilose que provém de biomassa lignocelulósica (rica em xilana). Inicialmente, há a pré-hidrolise do material de forma que os açúcares fiquem mais acessíveis para a continuidade do processo. O próximo passo é a obtenção do xarope de xilose puro através de trocas iônicas e/ou cromatografia; posteriormente, o xarope de xilose será

hidrogenado na presença de catalisador de níquel de Raney em reatores de altas temperaturas e pressão, pois, a presença de outros açúcares geram subprodutos que são indesejados (arabitol, ribitol, manitol e sorbitol). O produto obtido é cristalizado (99,7% de pureza e rendimento entre 50% e 60% em relação à xilose inicial). Um fluxograma simplificado da via química de produção, a partir da fibra de milho, está ilustrado na Figura 11:

**Figura 11 - Fluxograma da produção de xilitol por rota química empregando fibra de milho como matéria-prima**



**Fonte:** Adaptado de Larosa (2002) e Sarrouh (2009)

Visto que a via química é um processo que resulta em impactos ao meio ambiente, a rota biotecnológica tem se tornado uma via alternativa e promissora para obtenção do xilitol. É importante ressaltar que, nesse bioprocesso, há o emprego de condições mais brandas de temperatura e pressão (CUNHA, 2006) e não é necessário a utilização de D-xilose pura, desde que se utilize o agente biológico indicado (SARROUH e SILVA, 2008) e não se produz resíduos tóxicos cujas remoções sejam necessárias durante a purificação (TADA et al., 2004).

Pandey et al., (2000) destacam que vários microrganismos podem ser utilizados para bioconversão microbiana de xilose em xilitol. Bactérias e fungos filamentosos são os microrganismos mais reportados na literatura. Yoshitake et al. (1971) mostraram em seu

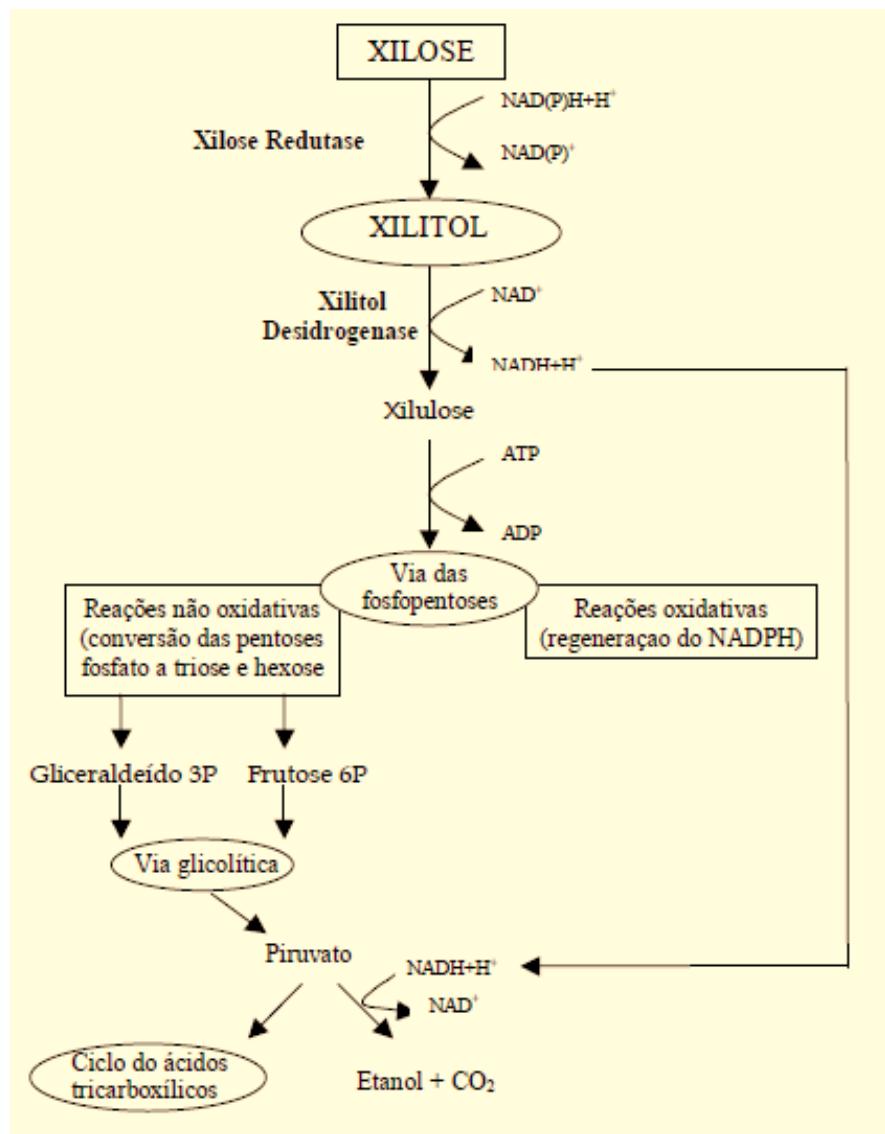
estudo que as espécies de bactérias *Cornynebacterium* e *Enterobacter* são capazes de sintetizar pentoses e, a partir delas, obter-se xilitol e outros póliois. Rangaswamy e Agblevor (2002) mencionam em seus trabalhos que os gêneros de bactérias *Serratia*, *Cellulomonas* e *Corynebacterium* possuem potencial para produção de xilitol. *Gluconobacter oxydans* é citada por Suzuki et al. (2002) na produção de xilitol e D-arabitol.

Os fungos e leveduras mais promissores na bioconversão de xilose em xilitol são do gênero *Candida* (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). As espécies mais reportadas na literatura para produção de xilitol são: *C. guilliermondii*, *C. boidinii*, *C. tropicalis* e *C. aethensis* (SILVA; MUSSATO; ROBERTO, 2006), RODRIGUES (2005). Outras espécies também apresentam uma ótima redução de xilose em xilitol, como *Rhodotorula mucilaginosa*, *Pichia guilliermondii* e *Debaryomyces hansenii* (PÉREZ-BIBBINS et al., 2013; WILKINS et al., 2008; BURA; VAJZOVIC; DOTY, 2012).

Essa bioconversão ocorre como um intermediário durante o metabolismo da D-xilose devido às reações redox que são catalisadas pelas enzimas xilose redutase (NADPH ou NADH dependente) e xilitol desidrogenase (NAD<sup>+</sup> ou NADP<sup>+</sup> dependente). Ocorrem duas reações sequenciais: a xilose redutase promove a redução de D-xilose em xilitol, em presença de NADPH; e a xilitol desidrogenase promove a oxidação do metabólito D-xilulose por NADP<sup>+</sup> (RAVELLA et. al., 2012).

A D-xilulose também é convertida a xilulose-5-fosfato de forma a possibilitar que as pentoses possam ser utilizadas nas vias metabólicas centrais, com a consequente inserção no ciclo das pentoses-fosfato, o qual é composto de duas fases: uma oxidativa, responsável pela conversão de hexoses-fosfato em pentoses-fosfato, com geração concomitante de NADPH, e outra etapa não-oxidativa em que as pentose-fosfato são convertidas a hexose e triose fosfato, sendo gerados gliceraldeído 3-fosfato e frutose 6-fosfato, os quais podem ser convertidos a piruvato na Glicólise (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Um esquema simplificado do metabolismo de D-xilose em leveduras pode ser visualizado na Figura 12:

Figura 12 - Esquema simplificado do metabolismo de xilose em leveduras



Fonte: Adaptado de Parajó, Domínguez e Domínguez (1998)

Mussato e Roberto (2002) destacam que o piruvato obtido pode ser descarboxilado a acetaldeído e reduzido a etanol ou a acetil-CoA pode entrar no ciclo dos ácidos tricarboxílicos que, acoplado à cadeia de transporte de elétrons, regenera NAD+ e ATP.

Barbosa (1988) concebeu um rendimento teórico de produção de xilitol a partir de D-xilose, considerando uma situação na qual o crescimento celular não ocorra, de forma que a conversão de D-xilose em xilitol seria otimizada, considerando, também, quatro características dos processos biológicos da produção de xilitol a partir de bioprodução por *C. guilliermondii*, como descrito a seguir.

1. Natureza do cofator envolvido nos dois primeiros passos do catabolismo da D-xilose:

A xilose redutase reduz a D-xilose a xilitol, utilizando principalmente NADPH como cofator;

A xilitol desidrogenase oxida xilitol a D-xilulose usando, principalmente, NAD.

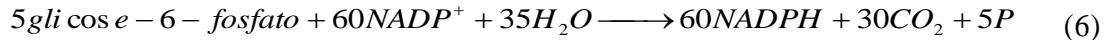
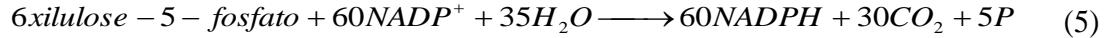
2. Os mecanismos de geração do cofatores:

Em presença de oxigênio, o NADPH é regenerado a partir do NADP através da via das pentoses-fosfato;

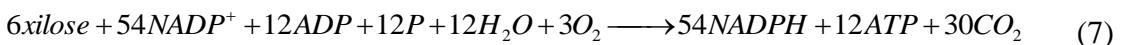
O NAD é regenerado a partir do NADH, via cadeia respiratória.

3 e 4. Uma vez que leveduras, geralmente, não dispõem de mecanismos, tais como ação de transhidrogenase, para a interconversão NADH/NADPH, e, na ausência de crescimento celular, a produção de xilitol seria otimizada, uma vez que esse seria utilizado apenas na regeneração do NADPH, sendo o xilitol excretado pela célula.

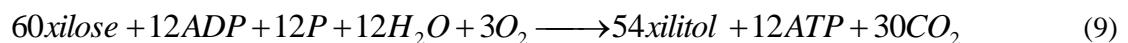
Assim, nessas condições teóricas, nas quais o substrato de carbono os cofatores estariam balanceados, o rendimento teórico seria de 0,9 mol de xilitol por mol de D-xilose utilizado. As equações que fundamentam esse rendimento teórico são listadas a seguir.



Do balanço das equações (1) e (6):



E, finalmente, a partir das equações (7) e (8), tem-se a equação geral:



### 3.3.2 Variáveis que afetam o crescimento microbiano para produção de xilitol

O crescimento celular pode ser influenciado por diversos fatores, os quais devem ser ajustadas de acordo com especificidade de cada micro-organismo. A temperatura, pH, taxa de

aeração, concentração do inóculo e nutrientes (fontes de carbono, nitrogênio, vitaminas, etc.) são os fatores de crescimento microbiano que mais influenciam bioprocessos, razão pela qual é importante que se dê especial atenção ao controle desses parâmetros para se obter produtos de eficiência e qualidade adequados. A Tabela 3 cita os principais fatores que influenciam o crescimento de leveduras e a sua produção de xilitol.

**Tabela 3 - Principais fatores que influenciam a bioconversão de xilose em xilitol**

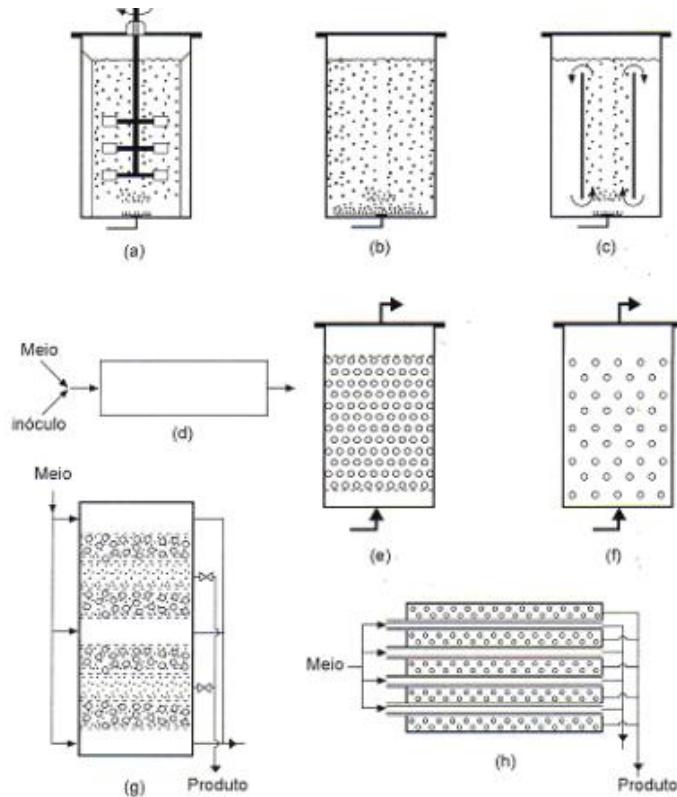
<b>Fatores que influenciam a bioconversão de xilose em xilitol</b>	
<b>Concentração de inóculo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A concentração inicial de inóculo exerce grande influência sobre a bioconversão de xilose em xilitol e é dependente de outros fatores como o tipo de micro-organismo, a composição do meio e as condições da fermentação (SILVA, 1999).</li> <li>• CAO <i>et al.</i> (1994) verificaram que a densidade celular inicial, de 3,8 a 26 g/L, provocaram um incremento linear na taxa de produção de xilitol. Contudo, a taxa específica de formação do xilitol (g/g.h) apresentou decréscimo.</li> </ul>
<b>Presença de glicose</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A presença de glicose no meio pode ser considerada um fator limitante para a bioconversão de xilose em xilitol (BICHO <i>et. al.</i>, 1988);</li> <li>• Quanto maior a proporção de glicose/xilose maior é a inibição causada pela glicose (FELIPE <i>et. al.</i>, 1993);</li> <li>• Altas concentrações de glicose favorecem a repressão catabólica sobre as enzimas-chaves responsáveis pela bioconversão (GÍRIO <i>et. al.</i>, 2000).</li> </ul>
<b>pH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PARAJÓ <i>et al.</i>, (1998b) descrevem o pH como um relevante fator para a bioconversão de xilose em xilitol e o valor ótimo depende da levedura adotada no processo</li> <li>• Para <i>C. guilliermondii</i>, o pH ótimo varia entre 5,5 e 6,0 (CONVERTI <i>et. al.</i>, 2003).</li> <li>• Felipe <i>et al.</i> (1997) em estudo acerca do efeito do pH na bioconversão de D-xilose a xilitol utilizando <i>Candida guilliermondii</i> FTI 20037, informa que os níveis de pH inferiores a 4,5 o consumo de açúcar e, consequentemente, a formação de xilitol, foram inibidos. Os melhores resultados ocorreram a pH 5,5, com uma produtividade volumétrica de 0,57 g/L.h e um fator <math>Y_{P/S}</math> equivalente a 0,75 g/g.</li> </ul>
<b>Aeração</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A aeração é vista como um dos principais fatores experimentais para produção de xilitol, sendo a quantidade de fornecimento de oxigênio que determina se D-xilose será fermentada ou entrará no ciclo respiratório, regulando o equilíbrio do consumo de carbono para bioconversão e crescimento (EL-BAZ, SHETAIA, e ELKHOULI, 2011).</li> </ul>
<b>Temperatura</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• As leveduras produzem xilitol entre 24°C-45°C, porém, a temperatura ótima é geralmente entre 28°C e 30°C, variando de acordo com o microrganismo.</li> <li>• Segundo CONVERTI <i>et.al.</i>, (2003) a temperatura ótima da <i>Candida guilliermondii</i> é 28°C</li> <li>• Para BARBOSA <i>et al.</i> (1988) as células de <i>Candida guilliermondii</i>, ótima para possuir bom rendimento em xilitol na faixa de temperatura de 30 e 35°C.</li> </ul>

**Fonte: Autor (2017)**

### 3.4 Biorreatores e processos fermentativos

Biorreatores, reatores bioquímicos, ou ainda reatores biológicos, correspondem a um volume onde decorre uma série de reações bioquímicas catalisadas por biocatalisadores. Esses biocatalisadores podem ser enzimas ou células vivas (SCHMIDELL et al., 2001). Há relatos de diversas configurações para os biorreatores em processos industriais, todavia, as mais usuais possuem formato cilíndrico e são, ou não, agitados. Pradella (2001) destaca os biorreatores mais utilizados industrialmente, conforme mostrado na Figura 13.

**Figura 13 - Tipos de biorreatores mais utilizados: (a) tanque agitado (b) coluna de bolhas (c) air-lift (d) fluxo pistonado (e) leito fixo com células imobilizadas (f) leito fluidizado com células (g) membrana plana (h) fibra oca**



**Fonte: Pradella (2001)**

Kuorkoutas et al., (2004) ressaltaram a importância que a configuração dos biorreatores desempenha em um processo industrial. Este mesmo autor afirma que a grande maioria das usinas utilizam biorreatores de tanque agitado, que pode ser designado tanto para células quanto para enzimas livres ou imobilizadas; citam, também, que uma das desvantagens é a degradação do biocatalisador, devido à agitação. Schmidell (2001) define esses biorreatores

como sendo de mistura perfeita, e sua capacidade é bastante variável, dependendo do processo que esteja sendo utilizado.

Outro fator que afeta a produção de biorreatores é a forma como o processo é conduzido. Schmidell e Facciotti (2001) afirmaram que há infinitas formas de se conduzir esses processos, e isto está diretamente relacionado com as características do microrganismo, meio de cultivo e objetivos específicos do processo produtivo. Os autores ainda afirmaram que os processos mais usuais e assim, mais importantes, são: batelada – ou descontínuo simples – e o contínuo.

De acordo com a *American Production and Inventory Control Society* – (APICS) um processo em batelada, prioritariamente, programa curtos ciclos de produção de produtos, e no processamento contínuo, as interrupções são mínimas em qualquer corrida de produção ou entre corridas de produção de produtos que exibam características de processo, tais como líquidos, fibras, pulverizados, gases.

As principais vantagens do processo contínuo são: as células podem ser mantidas em estado fisiológico e crescimento constante; ajuste da taxa de diluição pela mudança na vazão de alimentação; cultivo mais longo que a batelada; pequena produtividade no início da fermentação; permite que o cultivo seja acoplado a outras operações da planta, otimizando assim a produtividade total do bioprocesso (SCHMIDELL, 2001).

Todavia, nem todos os produtos são bem produzidos em sistemas contínuos. Algumas bebidas e alimentos requerem que os produtos celulares sejam liberados em diferentes fases do crescimento, como ocorre no sistema em batelada. Como a cultura contínua mantém as células no mesmo estado fisiológico, o produto resultante é, geralmente, de qualidade inferior. Além disso, ocorre maior risco de contaminação.

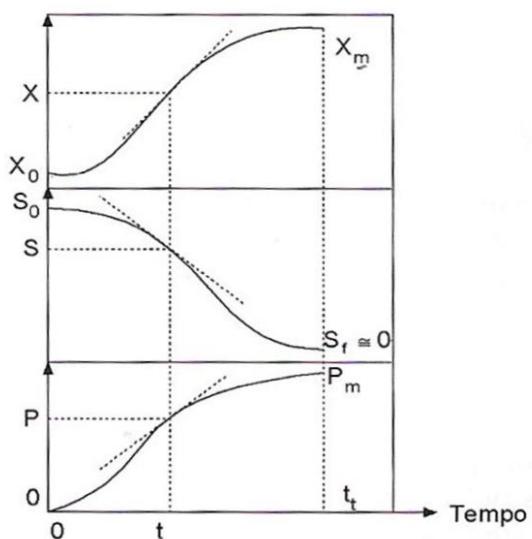
Os processos de fermentação alcoólica são utilizados desde os tempos mais remotos, especialmente na fabricação de bebidas, e passaram a ser utilizados em escala industrial apenas a partir do século XIX. O grande avanço se deu na década de 30, com o desenvolvimento do método Melle-Boinot (Batelada alimentada com recirculação de células), cujo uso se tornou generalizado no Brasil, nas décadas de 60 e 70 (ANDRIETTA, 1994). Ao longo da década de 80, se estabeleceu no Brasil o processo de Fermentação Contínua, por ser mais eficientes e de custo mais reduzido (ZARPELLON; ANDRIETTA, 1992).

### 3.4.1 Modelo cinético

O estudo da cinética de fermentação não é um tema de discussão recente. No século passado, Monod (1946) descreveu um modelo cinético que relaciona velocidade específica de crescimento de microrganismo com a concentração de substrato. Um estudo cinético de um determinado processo fermentativo consiste na análise de variáveis como as velocidades de transformação e os fatores de conversão.

Mensura-se a evolução dos valores por intermédio da concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação. Entende-se por componentes, o microrganismo ou concentração celular ( $X$ ), os produtos do metabolismo ( $P$ ) e os nutrientes ou substrato ( $S$ ) que compõem o meio de cultura; esses valores experimentais de concentração, quando representados em função do tempo, originarão as curvas de ajuste que são indicadas por  $X = X(t)$ ,  $P = P(t)$  e  $S = S(t)$ , representando parte de um conjunto de dados necessários ao dimensionamento de uma instalação produtiva (Figura 14) (SCHMIDELL et al., 2001).

**Figura 14 - Curvas idealizadas de  $X = X(t)$ ,  $P = P(t)$  e  $S = S(t)$  para um cultivo genérico**



**Fonte:** Schmidell et al. (2001)

Andrietta (1994) ressalta que, para descrever a fermentação alcoólica, é aconselhável fazer-se uso de modelos não-estruturados e não-segregados. Tais modelos recorrem apenas à determinação da velocidade específica de crescimento do microrganismo ou da produção de álcool pelo decréscimo da velocidade específica máxima através de alguns termos de inibição.

Este autor salienta que a utilização de modelos de maior complexidade (que considerem as células como indivíduos distintos) possa resultar em numa quantidade maior de parâmetros cinéticos e concomitante imprecisão do modelo.

A equação mais simples para se determinar a velocidade específica de crescimento dos microrganismos é a de Monod, apresentada na equação (10) abaixo:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (10)$$

em que  $\mu$  é a taxa de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ );  $\mu_{\max}$  é a máxima taxa de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ );  $S$  é a concentração do substrato limitante ( $\text{kg/m}^3$ );  $P$  é a concentração do produto formado ( $\text{kg/m}^3$ ) e  $KS$  é a constante de saturação de Monod.

Santos (2013) afirma que quanto menor o valor da constante de saturação de Monod maior será a duração da fase exponencial de crescimento; isso implica num processo com uma velocidade específica de crescimento próxima da máxima. A expressão de Monod é a mais simples e só é válida para modelos que não levem em consideração os efeitos inibidores (tanto pelo substrato como pelo produto formado). A Tabela 4 sumariza outros modelos cinéticos.

**Tabela 4 - Modelos cinéticos que levam em conta a inibição pelo substrato, produto e concentração de biomassa**

MODELO CINÉTICO	CARACTERÍSTICAS DO MODELO	REFERÊNCIA
$\mu = \mu_{máx} \frac{s}{K_s + S + \frac{s^2}{k_4}}$	Há inibição pelo substrato. K4 é a constante de inibição pelo substrato.	KELLER & DUNN (1978), DAUGULIS & SWAINE (1987) e DOURADADO et al (1987),
$\mu = \mu_{máx} \left( \frac{s}{1 + \frac{K_{s,x}}{s} + \frac{s}{k_{i,s}}} \right)$	Há inibição pelo substrato. Ks,x = constante de Monod; Ki,s = constante de inibição pelo substrato;	ANDREWS e NOACK citado BIROL et al.; (1998)
$\mu = \mu_{máx} \left( \frac{s}{K_{s,x} + S} \right) e^{\left( \frac{-s}{k_{i,s}} \right)}$	Há inibição pelo substrato;	AIBA citado BIROL et al.; (1998)
$\mu = \mu_{máx} \left( \frac{s}{K_{s,x} + S} \right) \left( 1 - \frac{S}{S_{s,máx}} \right)^n$	Representa o termo de inibição pelo substrato; Ss,máx = concentração limite do substrato inibidor;	LUONG citado BIROL et al.; (1998)
$\mu = \mu_{máx}^{-K_b P}$	Relação exponencial; Kb, é a constante empírica e $\mu_{máx}$ tem dependência exponencial com P.	AIBA et al., (1968), MOULIN et al. (1980) e BONOMI et al.; (1981)
$\mu = \mu_{máx} * e^{-K_1 P}$	Relação exponencial; K1 é a constante de inibição empírica.	DOMIANO et al (1985) e LUONG (1985)
$\mu = \mu_{máx} \left( \frac{s}{K_{s,x} + S} \right) \left( \frac{K_{1,Px}}{K_{1,Px} + P} \right)$	Há inibição pelo produto; Ks,x é a constante de Monod e K1,Px é a constante de inibição pelo produto.	JERUSALIMSKY citado BIROL et al.; (1998)
$\mu = \mu_{máx} \left( \frac{s}{K_{s,x} + S} \right) (1 - K_{Px} P)$	Há inibição pelo produto; Ks,x é a constante de Monod; K1,Px é a constante de inibição pelo produto.	HINSHEL WOOD citado BIROL et al.; (1998)
$\mu = \mu_{máx} \left( 1 - \frac{P}{P_{x,máx}} \right)$	Há inibição pelo produto; Px,máx =concentração limite do produto inibidor.	GHOSE & THYAGI citado BIROL et al., (1998)
$\mu = \mu_{máx} \left[ 1 - \left( \frac{P}{P_{máx}} \right)^n \right]$	Há inibição pelo produto; equação exponencial.	LUONG (1985) e GROOT et al., (1992)
$\mu = \mu_{máx} \left[ 1 - \left( \frac{P}{P_{máx}} \right)^n \left( \frac{S}{K_s + S} \right) \right]$	Há inibição pelo produto; para uma concentração de P bem menor que o valor de Pmáx,	LEVENSPIEL (1980)
$\mu = \mu_{máx} \left[ 1 - \left( \frac{X}{X_{máx}} \right) \right]$	Há inibição pela concentração celular;	CHATTAWAY et al., (1988)

$\mu = \mu_{máx} \left[ 1 - \left( \frac{X}{X_{máx}} \right) \right]^m$	Há inibição pela concentração celular;	LEE et al (1983), JARZEBSKI et al., (1989) e MONBOUQUETTE (1992)
$\mu = \mu_{máx} \frac{s}{K_s + S + \frac{s^2}{k_i}} * \left( 1 - \frac{P}{P_L} \right)$	Há inibição conjunta: produto e substrato.	GHOSE & THYAGI (1979a)
$\mu = \mu_{máx} \frac{s}{K_s + S + P + K_P} \left( 1 - \frac{P}{P_m} \right)$	Há inibição conjunta: produto e substrato.	SEVELY et al (1981):
$\mu = \mu_{máx} \frac{s}{K_s + S} e^{(-K_1 P)(-K_2 S)} \frac{S}{Ks + S}$	Há inibição conjunta: produto e substrato.	JIN, CHIANG e WANG (1981)

Fonte: Autor (2017)

### 3.5 Modelagem e simulação matemática

Aguirre (2004) define a modelagem e simulação matemática como sendo a ciência que desenvolve e programa modelos matemáticos para prever comportamentos reais. A simulação é aplicada em diversos processos (químicos e biotecnológicos) de maneira a predizer o comportamento das variáveis de estado que os influencia. Por meio de simulações, pode-se obter vantagens técnicas e econômicas no processo estudado e, pode-se aperfeiçoá-lo, permitindo estudar e alcançar as melhores condições para o referido processo, o que deve culminar em um produto com melhor qualidade, menos esforços e custos.

A modelagem matemática pode ser utilizada para averiguar determinado problema numa planta industrial; a análise desse problema pode compreender o processo completo ou em partes; se realizado em partes, é depois unido para formar o modelo do processo (DOBRE; MARCANO, 2007). Pode ser utilizada, também, como estratégia para ampliação de dados obtidos a partir de dados laboratoriais. Para processos fermentativos, a modelagem matemática tenta representar, por equações matemáticas, os balanços de massa para cada componente nos biorreatores, associados às complexas transformações bioquímicas que ocorrem no processo e às velocidades com que essas transformações se processam (SCHMIDELL, 2001).

Há diversos modelos utilizados para descrever o comportamento do processo. Os modelos são descritos como sendo empíricos e/ou fenomenológicos. Os empíricos utilizam equações para descrever o comportamento de dados experimentais e estão apoiados em preceitos teóricos, sendo válidos somente até onde haja dados experimentais, não podendo ser extrapolado para as diversas condições do processo. O fenomenológico é válido para um

processo completo e é apenas suportado por bases teóricas (termodinâmica, fenômenos de transporte de massa e calor e conservação de massa e energia). Quando ocorre a junção de equações empíricas e fenomenológicas, surge um modelo híbrido, bastante utilizado atualmente (PINTO; LAGE, 2001).

Os modelos podem ser classificados também como parâmetros concentrados ou distribuídos. Os parâmetros concentrados possuem variáveis que não mudam ao longo do espaço. Este tipo de modelo pode ser empregado em reatores perfeitamente agitados (CSTR). Os distribuídos variam com o espaço e se aplicam em reatores do tipo *Plug flow* (variação da concentração com o comprimento do reator).

Para processos contínuos, a simulação matemática abrange a resolução de equações diferenciais. Na maioria dos casos, obter uma solução analiticamente é impossível e, portanto, resolve-se a equação diferencial, de forma aproximada, por métodos numéricos (AGUIRRE, 2004). Os métodos de Runge-Kutta são uma família de métodos iterativos para aproximar numericamente a solução de uma equação diferencial ordinária.

Os matemáticos alemães Carl David Runge (1856-1927) e Martin Wilhelm Kutta (1867-1944), construíram os métodos de tal modo que sejam equivalentes a aproximar a solução exata de uma equação diferencial pelos primeiros  $n$  termos de uma expansão em série de Taylor. Cunha (2003) destaca que os métodos de Runge-Kutta são muito utilizados para a integração de sistemas de equações diferenciais ordinárias devido sua simplicidade, alta precisão e versatilidade de aplicações.

Quando executado o método numérico de Runge-Kutta e ocorre problema de validação, deve-se verificar se o modelo empregado é válido ou não (se ele se incorpora as características requeridas). A validação do modelo é de extrema importância e a forma mais usual de se observar isso, é comparar os dados obtidos com dados calculados e definir se o modelo é reproduzível (AGUIRRE, 2004).

O Método de Runge-Kutta é determinado a partir da Série de Taylor e sua expressão de recorrência é:

$$y_{i+1} = y_i + \phi(x_i, y_i, h) \cdot h$$

no qual  $\phi(x_i, y_i, h)$  é chamada de função incremento, interpretada como uma inclinação média sobre o intervalo. Diz-se que:

$$\phi(x_i, y_i, h) = a_1 k_1 + a_2 k_2 + \dots + a_n k_n$$

$$\begin{aligned}
k_1 &= f(x_i, y_i) \\
k_2 &= f(x_i + p_1 h, y_i + q_{11} k_1 h) \\
k_3 &= f(x_i + p_2 h, y_i + q_{21} k_1 h + q_{22} k_2 h) \\
&\vdots \\
k_n &= f(x_i + p_{n-1} h, y_i + q_{(n-1)1} k_1 h + q_{(n-1)2} k_2 h + \dots + q_{(n-1)(n-1)} k_{n-1} h)
\end{aligned}$$

### 3.5.1 Derivação do Método de Runge-Kutta de Segunda Ordem

$$y_{i+1} = y_i + (a_1 k_1 + a_2 k_2) \cdot h \quad (11)$$

$$k_1 = f(x_i, y_i) \quad (12)$$

$$k_2 = f(x_i + p_1 h, y_i + q_{11} k_1 h) \quad (13)$$

Deve-se determinar os valores das constantes  $a_1, a_2, q_1$  e  $q_{11}$ . Para isso segue-se as etapas abaixo:

I. Expande-se  $(y_{i+1})$  em Série de Taylor:

$$y_{i+1} = y_i + f(x_i, y_i) \cdot h + f'(x_i, y_i) \frac{h^2}{2!} \quad (14)$$

Determina-se a  $f'(x_i, y_i)$  com auxílio da Regra da Cadeia e substituindo na equação (12), tem-se:

$$f'(x_i, y_i) = \frac{\partial f}{\partial x} + \frac{\partial f}{\partial y} \frac{dy}{dx} \quad (15)$$

$$y_{i+1} = y_i + f(x_i, y_i) \cdot h + \left( \frac{\partial f}{\partial x} + \frac{\partial f}{\partial y} \frac{dy}{dx} \right) \frac{h^2}{2!} \quad (16)$$

II. A partir de manipulações algébricas, aplica-se o Método de Runge-Kutta tornando as expressões (11) e (16) equivalentes. Expande-se a expressão em Série de Taylor:

$$f(x_i + p_1 h, y_i + q_{11} k_1 h) = f(x_i, y_i) + p_1 h \frac{\partial f}{\partial x} + q_{11} k_1 h \frac{\partial f}{\partial y} + O(h^2) \quad (17)$$

substituindo:

$$y_{i+1} = y_i + a_1 h f(x_i, y_i) + a_2 h f(x_i, y_i) + a_2 p_1 h^2 \frac{\partial f}{\partial x} + a_2 q_{11} h^2 f(x_i, y_i) \frac{\partial f}{\partial y} + O(h^3) \quad (18)$$

Reagrupando os termos:

$$y_{i+1} = y_i + [a_1 f(x_i, y_i) + a_2 f(x_i, y_i)]h + [a_2 p_1 \frac{\partial f}{\partial x} + a_2 q_{11} f(x_i, y_i) \frac{\partial f}{\partial y}]h^2 + O(h^3) \quad (19)$$

Por intermédio de comparações dos termos das equações (15) e (18), temos:

$$(a_1 + a_2 = 1); (a_2 p_1 = \frac{1}{2}); (a_2 q_{11} = \frac{1}{2}).$$

Assim pode-se assumir que:

$$a_1 = a_2 = \frac{1}{2}$$

$$p_1 = q_{11} = 1$$

Temos que as expressões para o Runge-Kutta de segunda ordem são:

$$y_{i+1} = y_i + \left(\frac{1}{2} k_1 + \frac{1}{2} k_2\right) \cdot h \quad (20)$$

$$k_1 = f(x_i, y_i)$$

$$k_2 = f(x_i + h, y_i + k_1 h) \quad (21)$$

$$(22)$$

### 3.5.2 Método de Runge-Kutta Terceira Ordem

De forma semelhante ao que se fez para o Método de Runge-Kutta de Segunda Ordem, pode-se determinar para ordens mais elevadas. A seguir, as equações de terceira ordem.

$$y_{i+1} = y_i + \left[\frac{1}{6} (k_1 + 4k_2 + k_3)\right] \cdot h$$

$$k_1 = f(x_i, y_i) \quad (23)$$

$$k_2 = f(x_i + \frac{1}{2} h, y_i + \frac{1}{2} k_1 h) \quad (24)$$

$$k_3 = f(x_i + h, y_i - hk_1 + 2hk_2) \quad (25)$$

### 3.5.3 Método de Runge-Kutta Quarta Ordem

De forma análoga, o modelo de Runge-Kutta de ordem quatro, está expresso abaixo:

$$y_{i+1} = y_i + [\frac{1}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4)] \cdot h \quad (26)$$

$$k_1 = f(x_i, y_i) \quad (27)$$

$$k_2 = f(x_i + \frac{1}{2}h, y_i + \frac{1}{2}hk_1) \quad (28)$$

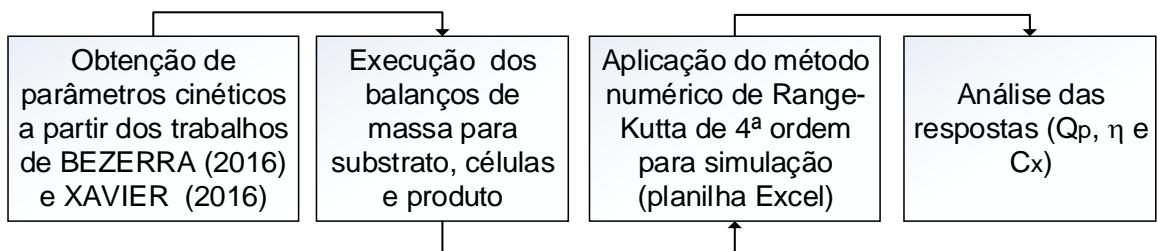
$$k_3 = f(x_i + \frac{1}{2}h, y_i + \frac{1}{2}hk_2) \quad (29)$$

$$k_4 = f(x_i + h, y_i + hk_3) \quad (30)$$

## 4 METODOLOGIA

Este trabalho utilizou dados secundários de fermentação do licor hidrolisado de sisal em meio *C. guilliermondii*, a partir de duas dissertações: Xavier (2016) e Bezerra (2016). Foram executadas as etapas apresentadas na Figura 15.

**Figura 15 - Fluxograma representativo das etapas executadas na pesquisa**



Fonte: Autor (2017)

### 4.1 Cinética da fermentação

De acordo com postulados de Viegas (2013), para se projetar adequadamente um biorreator é necessário quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato e formação de produtos, além de avaliar a influência de fatores externos como pH, temperatura e inibidores, nessas taxas.

O modelo usado para descrever a relação entre a velocidade específica de crescimento e a concentração de substrato limitante, com todas as demais variáveis mantidas constantes, foi proposto por Monod (ver equação 10).

### 4.2 Obtenção de parâmetros cinéticos da equação de Monod

#### 4.2.1 Determinação da velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ )

As velocidades específicas máximas de crescimento ( $\mu_{máx}$ ) foram determinadas durante a fase exponencial e calculadas a partir do coeficiente angular da curva linearizada pelo logarítmico neperiano da biomassa ( $\ln X$ ) em função do tempo ( $t$ ), de acordo com a Equação 31.

$$\ln(X) = \ln(x_i) + \mu_{máx}t \quad (31)$$

na qual:

$X$  é a biomassa ao longo da fase exponencial ( $\text{g L}^{-1}$ );

$X_i$  é a biomassa no início da fase exponencial ( $\text{g L}^{-1}$ );

$\mu_{\text{máx}}$  é a velocidade específica máxima de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ );

$t$  é tempo (h)

#### 4.2.2 Fatores de conversão

Os fatores de conversão de substrato em biomassa ( $Y_{X/S} (\text{g.g}^{-1})$ ) e substrato em produto ( $Y_{P/S} (\text{g.g}^{-1})$ ) foram calculados a partir das Equações 2 e 3.

$$y_{X/S} = \frac{(x_f - x_i)}{(s_i - s_f)} = y_{X/S} = - \frac{\left(\frac{dX}{dt}\right)}{\left(\frac{dS}{dt}\right)} \quad (32)$$

$$y_{P/S} = \frac{(p_f - p_i)}{(s_i - s_f)} = y_{P/S} = - \frac{\left(\frac{dP}{dt}\right)}{\left(\frac{dS}{dt}\right)} \quad (33)$$

Sendo:

$x_i$  e  $x_f$  concentração inicial e final de biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ )

$p_i$  e  $p_f$  concentração inicial e final do produto ( $\text{g.L}^{-1}$ )

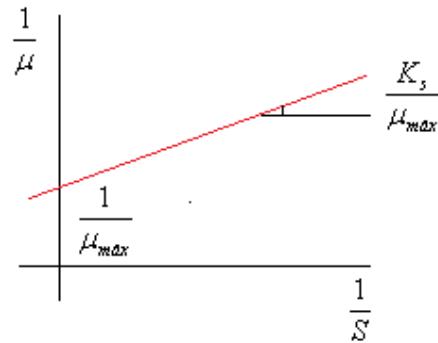
$s_i$  e  $s_f$  concentração inicial e final de substrato ( $\text{g.L}^{-1}$ )

#### 4.2.3 Constante de Saturação de Monod

As constantes de saturação de Monod, das fermentações, foram calculadas por intermédio da linearização de Lineweaver-Burk (Equação X), a qual transforma a equação de Monod em um gráfico (figura 16) de  $\frac{1}{\mu}$  em função de  $\frac{1}{s}$ . Por análise da equação da reta obtida pra cada caso estudado, obtém-se a constante de saturação de Monod.

**Figura 16 - Gráfico genérico de Lineweaver-Burk para determinar a constante de Monod**

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad (34)$$

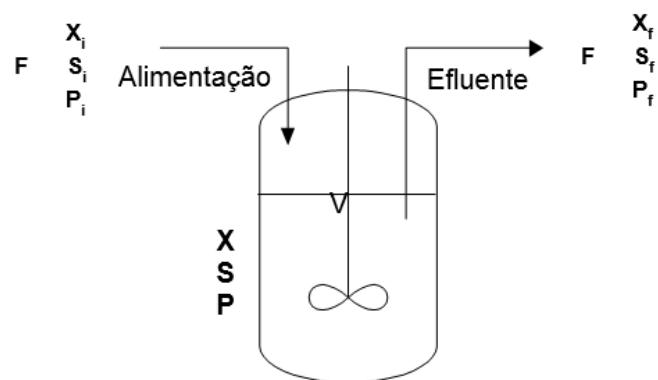


Fonte: Autor (2017)

#### 4.3 Modelagem fenomenológica do Biorreatore

Na Figura 17 tem-se um esquema simplificado da fermentação alcoólica, detalhando as vazões e composições de entrada e saída para o biorreatore do tipo CSTR, operando em regime contínuo e volume constante, utilizado neste trabalho.

**Figura 17 - Esquema simplificado de um CSTR contínuo**



Fonte: Autor (2017)

##### 4.3.1 Balanço material de biomassa

$$\begin{bmatrix} \text{Variação da} \\ \text{massa de células} \\ \text{no reator} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{células} \\ \text{que entra} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{células} \\ \text{que sai} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \text{Massa de células} \\ \text{que aparece devido} \\ \text{ao crescimento} \end{bmatrix}$$

Considerando um volume constante tem-se:

$$V \left( \frac{dX}{dt} \right) = FX_0 - FX + V \left( \frac{dX}{dt} \right) \Big|_{\text{crescimento}} \quad (35)$$

Sabe-se que a velocidade global instantânea de crescimento pode ser escrita como:

$$\left( \frac{dX}{dt} \right) \Big|_{\text{crescimento}} = \mu X \quad (36)$$

Substituindo a equação (36) na equação (35), temos:

$$V \left( \frac{dX}{dt} \right) = FX_0 - FX + \mu X V \quad (37)$$

$$\left( \frac{dX}{dt} \right) = FX_0 - FX + \mu X \quad (38)$$

Na qual:

$V$  é o volume de meio no reator ( $m^3$ );

$F$  é a vazão volumétrica de alimentação de meio ( $m^3 h^{-1}$ );

$X$  é a concentração de células no reator ( $Kg/m^3$ );

$X_0$  é a concentração de células no meio de alimentação ( $Kg/m^3$ )

A vazão específica de alimentação ( $D$ ) define-se como a relação entre a vazão volumétrica de alimentação e o volume de meio no reator ( $D = \frac{F}{V}$ ). Assim, tem-se que:

$$\left( \frac{dX}{dt} \right) = DX_0 - DX + \mu X \quad (39)$$

$$\left( \frac{dX}{dt} \right) = D(X_0 - X) + \mu X \quad (40)$$

#### 4.3.2 Balanço material para o substrato

$$\begin{bmatrix} \text{Variação da} \\ \text{massa de substrato} \\ \text{no reator} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{substrato} \\ \text{que entra} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{substrato} \\ \text{que sai} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \text{Velocidade de consumo} \\ \text{do substrato para o} \\ \text{crescimento das células} \end{bmatrix}$$

$$V \left( \frac{dS}{dt} \right) = FS_0 - FS + V \left( \frac{dS}{dt} \right) \Big|_{consumo} \quad (41)$$

Sabe-se que:

$$\left( \frac{dS}{dt} \right) \Big|_{consumo} = -\mu_S X = -\frac{\mu}{Y_{X/S}} X \quad (42)$$

Substituindo a equação (42) na equação (41), temos:

$$V \left( \frac{dS}{dt} \right) = FS_0 - FS - V \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad (43)$$

$$\left( \frac{dS}{dt} \right) = D(S_0 - S) - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad (44)$$

#### 4.3.3 Balanço de material para o produto

$$\begin{bmatrix} \text{Variação da} \\ \text{massa de produto} \\ \text{no reator} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{produto} \\ \text{que entra} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} \text{Massa de} \\ \text{produto} \\ \text{que sai} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \text{Velocidade global} \\ \text{de síntese do produto} \\ \text{pelas células} \end{bmatrix}$$

$$V \left( \frac{dP}{dt} \right) = FP_0 - FP + V \left( \frac{dP}{dt} \right) \Big|_{gerado} \quad (45)$$

Sabendo-se que:

$$\left( \frac{dP}{dt} \right) \Big|_{gerado} = -Y_{P/S} \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad (46)$$

Substituindo a equação (46) na equação (45), temos:

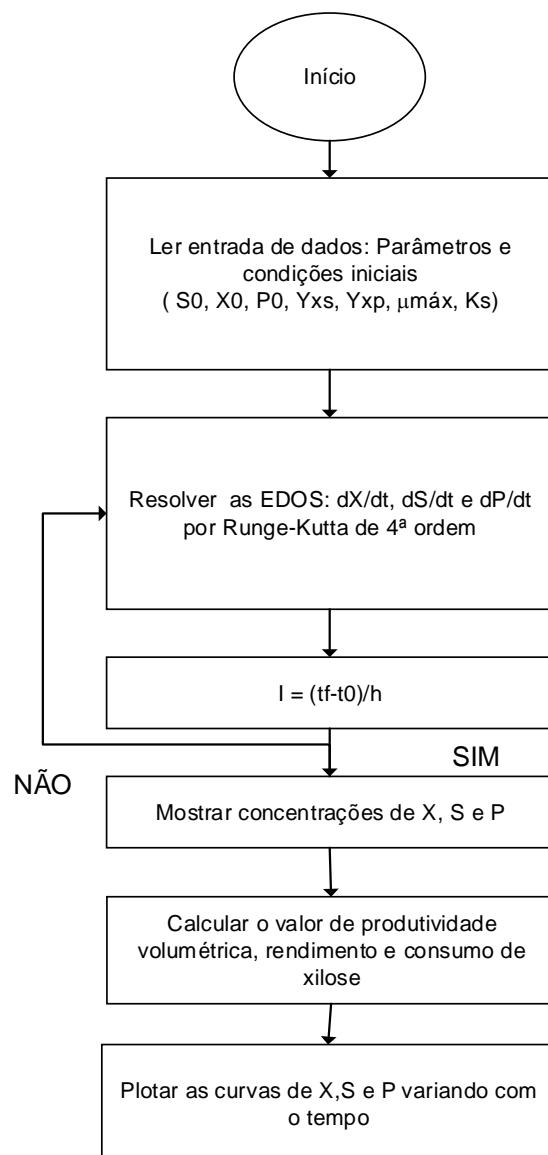
$$V \left( \frac{dP}{dt} \right) = FP_0 - FP + V \mu X \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \quad (47)$$

$$\left( \frac{dP}{dt} \right) = D(P_0 - P) + \mu X \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \quad (48)$$

#### 4.4 Simulação em Excel com o método de Runge-Kutta de quarta ordem

O algoritmo de resolução das equações no Excel é apresentado na Figura 18, a seguir:

**Figura 18 - Algoritmo para resolução de Runge-Kutta de quarta ordem em Excel**



**Fonte: Autor (2017)**

## 4.5 Respostas analisadas

### 4.5.1 Produtividade volumétrica (Q<sub>p</sub>)

$$Q_p = \frac{P_f - P_i}{t_f} \quad (49)$$

Onde Q<sub>p</sub> é a produtividade volumétrica em Kg/m<sup>3</sup>h;

P<sub>f</sub> e P<sub>i</sub> são as concentrações final e inicial em Kg/m<sup>3</sup>;

T<sub>f</sub> é o tempo final do processo em horas.

### 4.5.2 Rendimento (η)

$$\eta = \frac{P_f}{0,912xS_0} 100\% \quad (50)$$

Em que:

η é a eficiência na conversão de xilose em xilitol em (%);

0,912 g xilitol/g xilose é o rendimento teórico na conversão de xilose em xilitol, que segundo BARBOSA et al. (1988);

S<sub>0</sub> é a concentração inicial de substrato.

### 4.5.3 Consumo de Xilose (C<sub>x</sub>)

$$C_x = \frac{S_0 - S_f}{S_0} 100\% \quad (51)$$

No qual:

C<sub>x</sub> é consumo de xilose em (%);

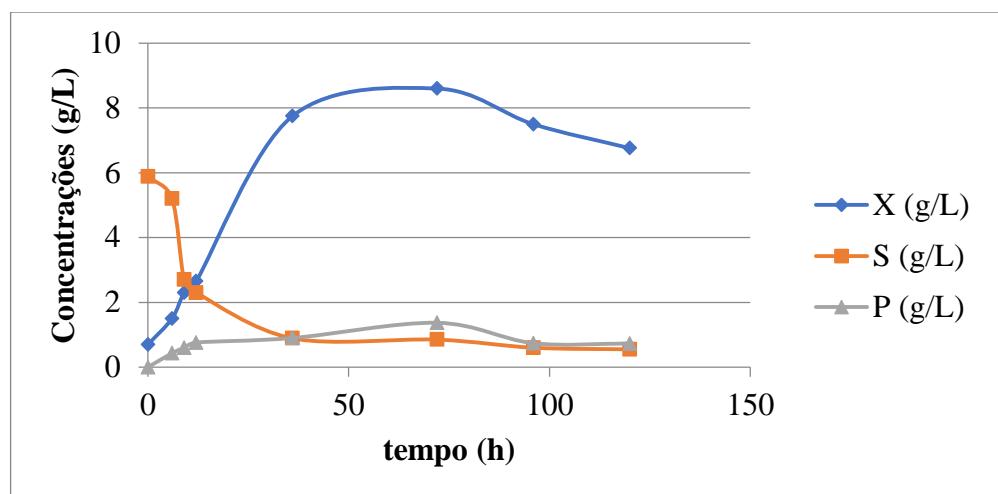
S<sub>0</sub> e S<sub>f</sub> são as concentrações de substrato no início e no final do processo, em Kg m<sup>-3</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise de parâmetros cinéticos: Bezerra (2016) e Xavier (2016)

Na Figura 19 estão as curvas de fermentação obtidas a partir da dissertação de Bezerra (2016). Por intermédio dessas curvas, foram obtidos os parâmetros cinéticos providos tabela 5.

**Figura 19 - Curvas de consumo de substrato, formação de células e produto**



Fonte: Bezerra (2016)

**Tabela 5 - Parâmetros calculados a partir da fermentação do licor hidrolisado do bagaço de sisal**

Parâmetros cinéticos	Valores numéricos
$Y_p/s$ (g/g)	0,27
$Y_x/s$ (g/g)	1,57
$t_F$ (h)	72,00
$\mu_{\max}$ (h <sup>-1</sup> )	0,0134
$K_s$	-
$P_{\max}$	1,16

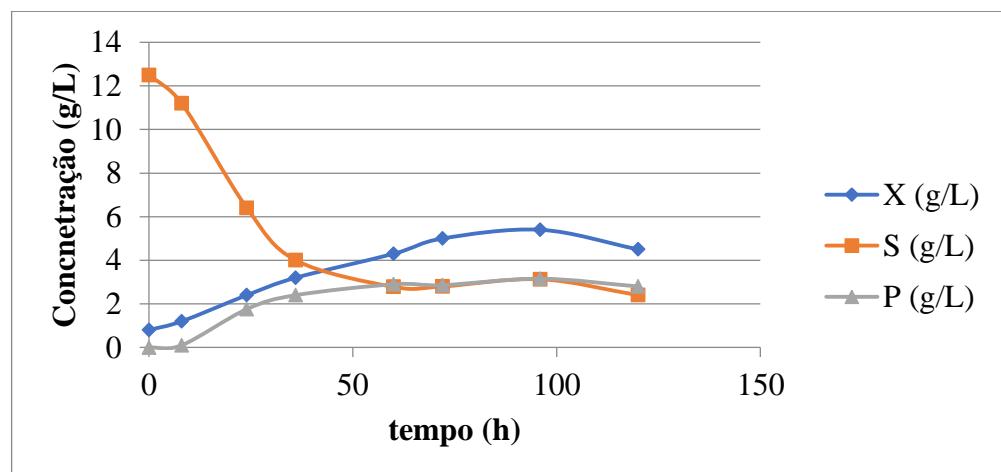
Fonte: Bezerra (2016)

Observa-se que, nesta fermentação, *C. guilliermondii* utilizou grande parte do substrato para seu próprio crescimento, o que justifica a alto valor de  $Y_{x/s}$  e o baixo teor de conversão. Além disso, Bezerra (2016) relata que, após 24 horas de fermentação, houve a produção de

etanol equivalente a 2,8 g.L<sup>-1</sup>, obtendo-se uma quantidade superior em relação ao xilitol produzido (1,16 g.L<sup>-1</sup>), e que isso restringiu a produção de xilitol.

Na Figura 20 estão as curvas de fermentação obtidas a partir da dissertação de Xavier (2016). Na Tabela 6, estão os parâmetros cinéticos calculados a partir desta dissertação.

**Figura 20 - Curvas de consumo de substrato, formação de células e produto**



Fonte: Xavier (2016)

**Tabela 6 - Parâmetros calculados a partir da fermentação do licor hidrolisado da fibra do sisal**

Parâmetros Cinéticos	Valores numéricos
Y <sub>p/s</sub>	0,34
Y <sub>x/s</sub>	0,50
t.F (h)	96
μ <sub>máx</sub>	0,04
K <sub>s</sub>	-
P <sub>máx</sub> (g/L)	3,15

Fonte: Xavier (2016)

Da análise desses dados, vê-se que a produção de xilitol foi maior do que aquela fornecida pelos dados de Bezerra (2016), mesmo que Xavier (2016) tenha relatado a formação indesejada de etanol (3,12 g/L), que chegou a produzir em 72h um valor aproximadamente igual a concentração de xilitol (3,15 g/L), esse em 96h.

Outros Autores relatam a dificuldade de obtenção de bons parâmetros cinéticos com biomassas lignocelulósica em meio fermentado a partir da atuação de *C. guilliermoondii*, o que torna esses valores aceitáveis. Canilha et al. (2004) obtiveram um rendimento de 0,35%

de xilitol a partir de substrato de eucalipto. Branco et al. (2007) obtiveram, a partir do bagaço de cana-de-açúcar, um rendimento de 0,31% desse álcool, enquanto Schirmer-Michel et al. (2008), analisando a casca de soja, determinaram uma conversão de 0,34%.

Não foi possível obter os valores de  $K_s$  para as dissertações estudadas. De acordo com a regressão de dados realizada (Apendice 2) constatou-se que os valores de  $1/m$  em função de  $1/S$  não se adequam a equação linearizada de Lineweaver-Burk. Estatisticamente, o modelo só se ajustaria para equação estudada caso o teste  $P$  tivesse valores inferiores a 0,05, diferentemente do obtido em ambos os casos. Assim sendo, o valor de  $K_s$  considerado na modelagem e simulação foi aquele proposto por Martínez (1999), equivalente a 4,0.

Os dados de Xavier (2016), o qual lidou com a fibra do sisal, são mais adequados para a utilização na modelagem e simulação propostas. As condições da fermentação utilizadas por ele foram: 200 mL de licor hidrolisado composto por glicose ( $4,617 \text{ g.L}^{-1}$ ), xilose ( $12,29 \text{ g.L}^{-1}$ ), ácido acético ( $5,858 \text{ g.L}^{-1}$ ), HMF ( $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ ) e furfural ( $0,833 \text{ g.L}^{-1}$ ), agitação de 200 rpm e temperatura de  $30^\circ \text{ C}$ . O valor de xilose encontrado Xavier (2016) mostrou-se duas vezes maior que o valor de xilose encontrado por Bezerra (2016), a partir do bagaço do sisal ( $5,88 \text{ g/L}$  de xilose). A quantidade de açúcar encontrado no licor está diretamente relacionada com as quantidades de celulose (48,20%), hemicelulose (31,15%) e lignina (11%) presentes na fibra do sisal, quando comparado com o bagaço de sisal – celulose (36,40%), hemicelulose (19,81%) e lignina (15,46%), o que torna a fibra mais adequada para esse bioprocesso. Tendo em vista parâmetros citados acima, optou-se por tratar na simulação apenas os dados de Xavier (2016).

## 5.2 Simulação em Excel

Para promover a ampliação de escala em um reator biológico do tipo CSTR com esses parâmetros, considerou-se um volume constante e três tempos de residência para se verificar qual a melhor condição de produção de xilitol. Na Tabela 8, abaixo, estão os valores utilizados para ampliação de escala. Neste estudo, considerou-se que o licor de sisal seja concentrado em um evaporador rotativo, com intuito de aumentar a quantidade de xilose e diminuir os inibidores (ácido acético e furfural).

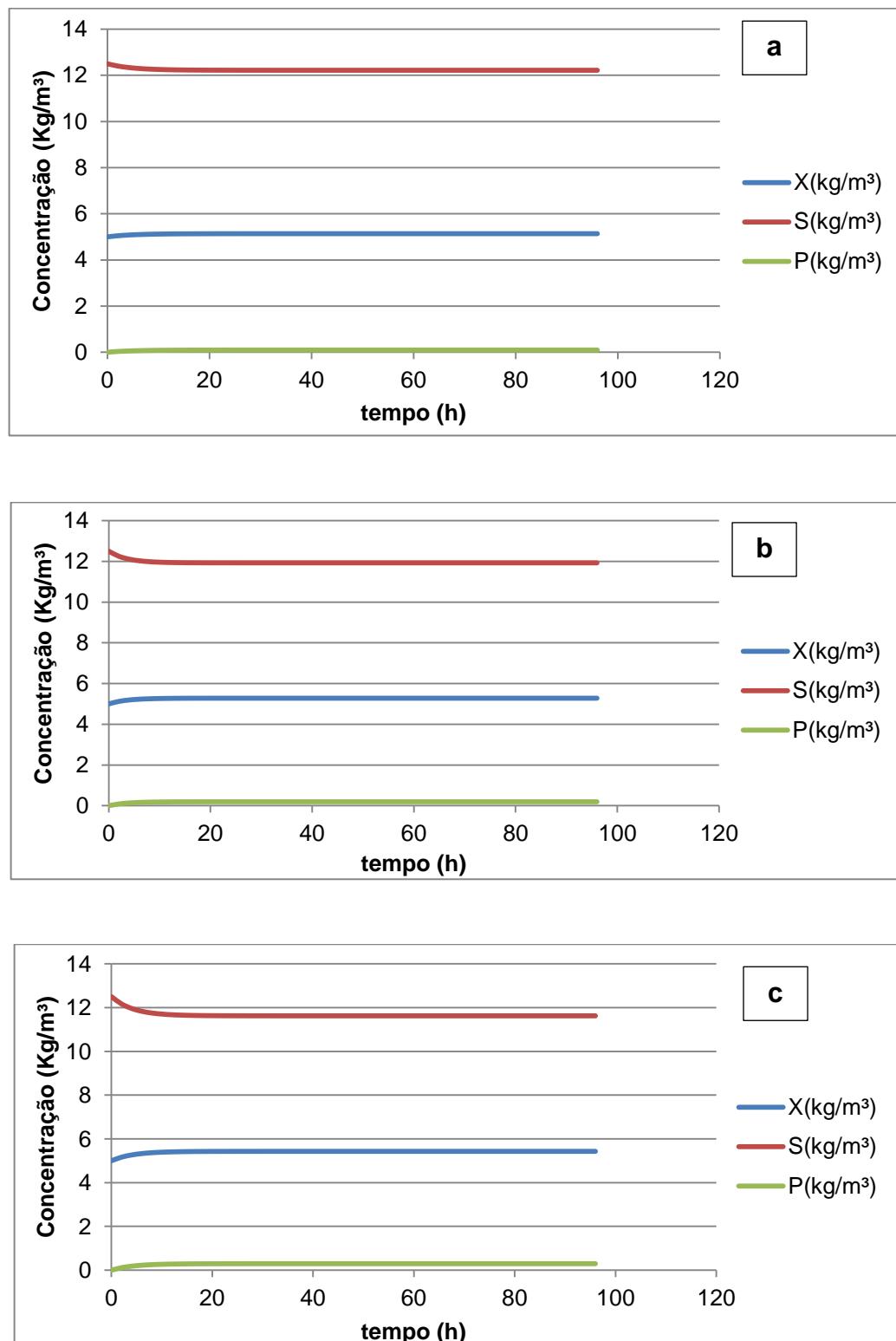
**Tabela 7 - Dados iniciais de biomassa, substrato, tempo de residência, volume, vazão de alimentação e temperatura utilizadas na simulação e modelagem proposta**

$X_0(\text{g L}^{-1})$	$S_0(\text{g L}^{-1})$	$tr (\text{h})$	Volume ( $\text{m}^3$ )	Vazão ( $\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )
5	12,5	1		10	
10	37,5	2	10	5,0	30
15	62,5	3		3,33	

**Fonte: Autor (2017)**

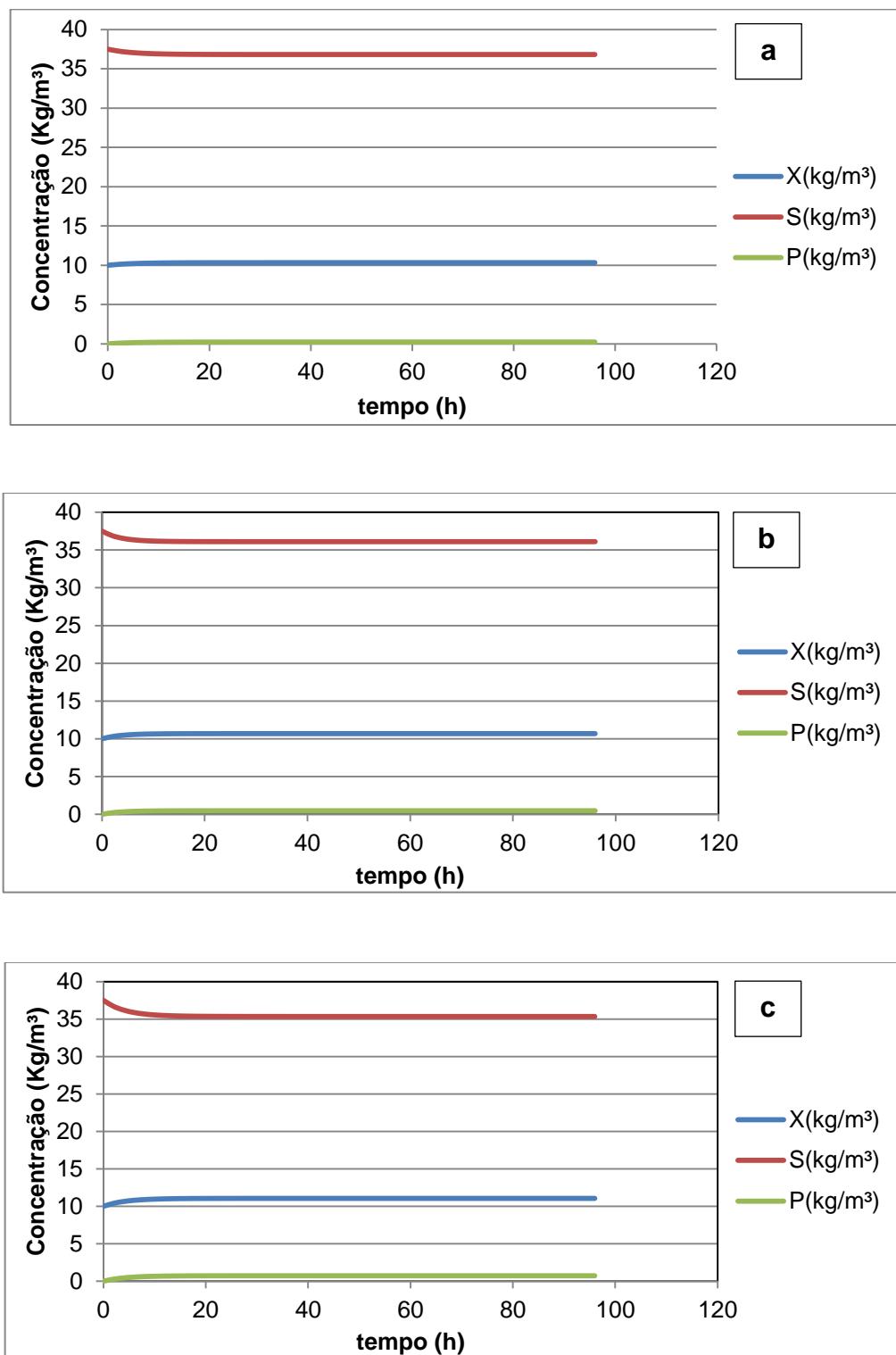
As Figuras 21 a 23 ilustram as concentrações de substrato, biomassa e xilitol em função do tempo, de acordo com a simulação matemática realizada para cada tempo de residência estudado. A concentração de substrato diminui enquanto aquelas de xilitol e biomassa crescem, até atingir o estado estacionário.

**Figura 21 - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 12,5 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 5 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$**



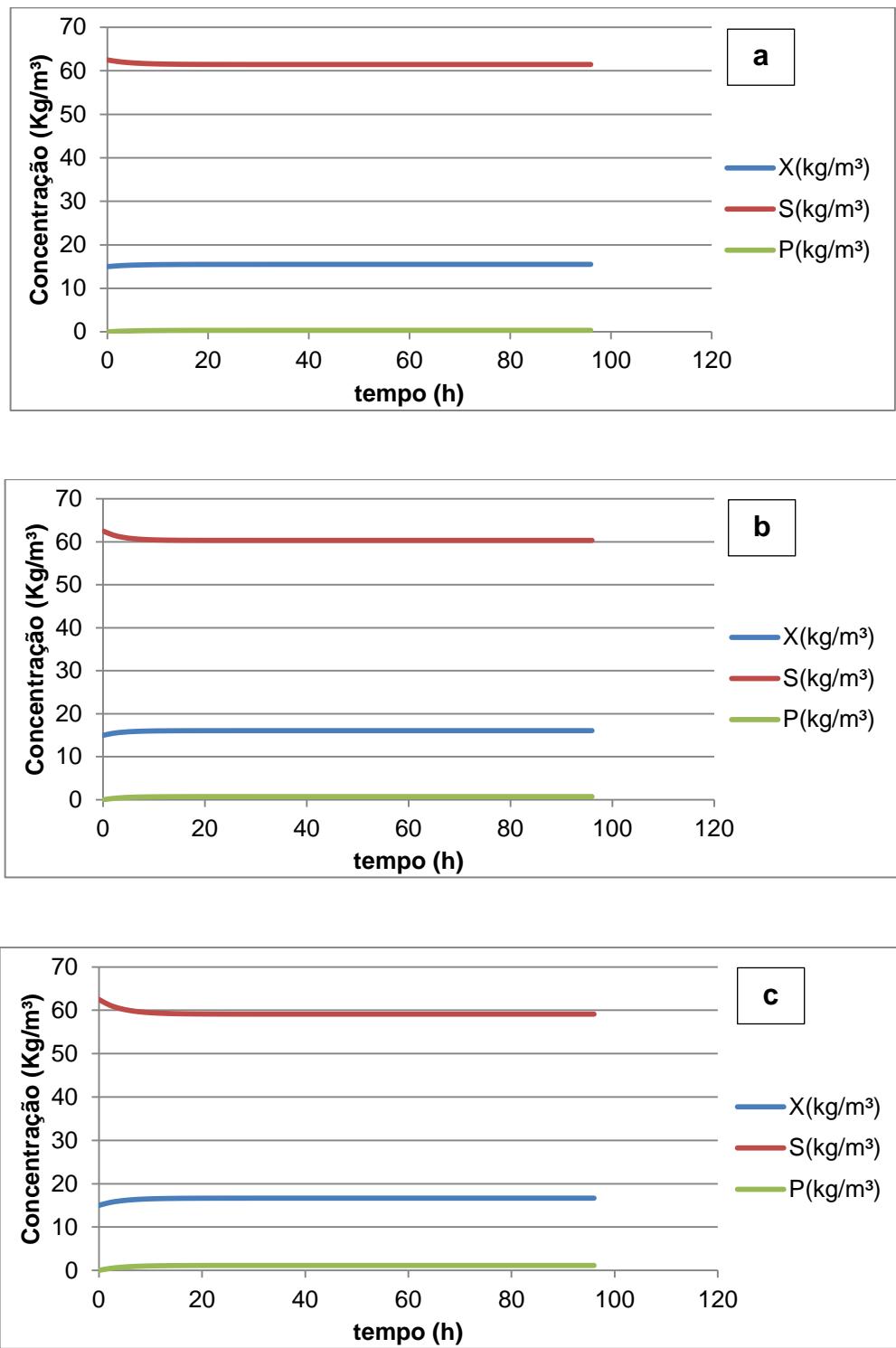
Fonte: Autor (2017)

**Figura 22 - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 37,5 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 10 \text{ kg m}^{-3}$  e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$**



Fonte: Autor (2017)

**Figura 23 - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 60,2 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento celular ( $X_0 = 15 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção de xilitol. (a)  $tr = 1 \text{ h}$  e  $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (b)  $tr = 2 \text{ h}$  e  $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (c)  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$**



**Fonte: Autor (2017)**

De acordo com os valores de conversão, produtividade e consumo de xilose observada na Tabela 8, verifica-se que as melhores condições para esse processo são aquelas com menor

vazão de alimentação. Segundo Zanardi et al. (2014), na indústria, a vazão é função da quantidade de substrato disponível, e esse valor, que pode variar, afetando a produção e o aumento nessa vazão, proporciona uma significativa diminuição da produção.

**Tabela 8 - Valores de conversão, produtividade e consumo de xilose para cada condição considerada nesse estudo**

Condições de operação	Conversão (%)	Produtividade (Kg m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup> )	Consumo de xilose (%)
$S_0 = 12,5 \text{ kg/m}^3$ $X_0 = 5 \text{ kg/m}^3$	$tr = 1h$ $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	0,9362	0,0010
	$tr = 2h$ $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	1,8984	0,0020
	$tr = 3h$ $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	2,9164	0,0034
$S_0 = 37,5 \text{ kg/m}^3$ $X_0 = 10 \text{ kg/m}^3$	$tr = 1h$ $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	0,7442	0,0026
	$tr = 2h$ $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	1,5424	0,0055
	$tr = 3h$ $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	2,400	0,0085
$S_0 = 60,2 \text{ kg/m}^3$ $X_0 = 15 \text{ kg/m}^3$	$tr = 1h$ $F = 10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	0,6985	0,0041
	$tr = 2h$ $F = 5 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	1,4510	0,0086
	$tr = 3h$ $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$	2,2648	0,0134

**Fonte: Autor (2017)**

As melhores taxas de conversão e produtividade ocorrem em condição com maior tempo de residência e menor vazão de alimentação do biorreator ( $tr = 3h$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ). A maior conversão (2,9164%) foi observada quando a concentração inicial de xilose foi de 12,5 kg m<sup>-3</sup>, e a concentração inicial de células foi de 5 kg m<sup>-3</sup>. Todavia, a produtividade é menor quando comparada com a condição na qual a concentração de substrato e células foram máximas ( $S_0 = 60,2 \text{ kg m}^{-3}$  e  $X_0 = 15 \text{ kg m}^{-3}$ ).

Uma condição similar foi observada por Mussato e Roberto (2002), sobre o efeito da concentração inicial de xilose na produção de xilitol, a partir de hidrolisado de bagaço de malte com cepas de *C. guilliermondii*. Esses Autores determinaram que meios com concentração inicial superiores a 80g L<sup>-1</sup> sofreram inibição pelo substrato inicial, e afirmaram

que, quanto maior a concentração inicial de xilose, maior a quantidade de derivados da lignina, ácido acético, glicerol, furfural e HMF presentes. Felipe et al, (1997) afirmam, igualmente, que, em meios com hidrolisados lignocelulósicos, a produção de xilitol é significativa até um determinado nível de concentração inicial, o qual pode variar para hidrolisados obtidos a partir de diferentes matérias primas.

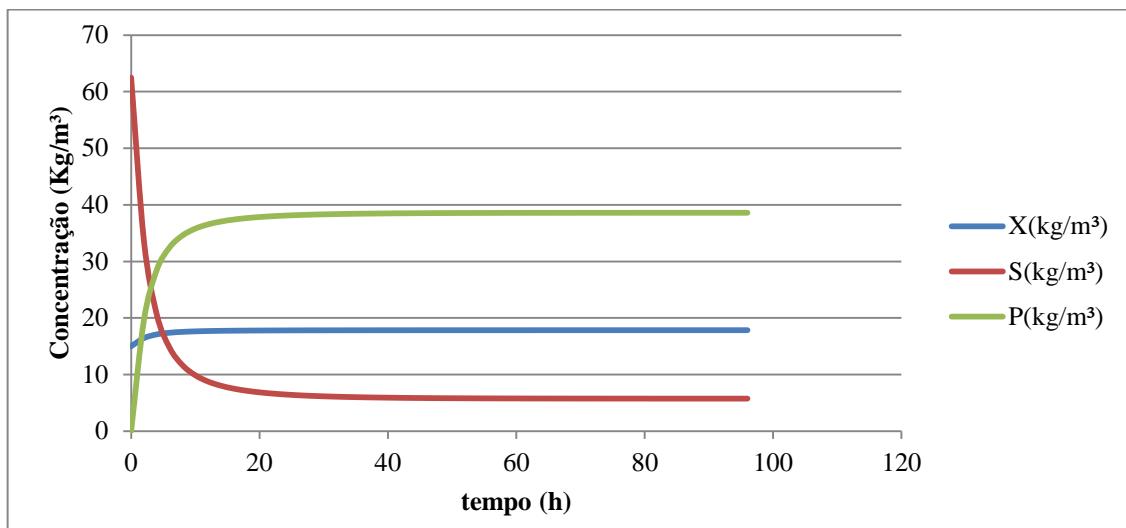
Há escassez de dados na literatura referente a rendimento e produtividade de xilitol operado em regime contínuo e em biorreatores industriais. Na presente simulação, a melhor condição foi aquela com substrato inicial de 60,2 kg m<sup>-3</sup> e biomassa inicial igual a 15 kg m<sup>-3</sup>, com produtividade de 0,0134 Kg m<sup>-3</sup> h<sup>-1</sup>.

Kim (1999) realizou uma simulação computacional para produção de xilitol em reator biológico em meio a *Candida tropicalis* e obteve uma conversão de 81%, e uma produtividade de 5,06 g L<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>. O autor relata que, para obter esse rendimento e produtividade, utilizou dados extraídos de uma fermentação a partir de dois substratos conjuntos. Inicialmente, a glicose foi utilizada para o crescimento celular, seguida da conversão de xilose em xilitol, sem crescimento celular, e formação de subprodutos após o esgotamento completo da glicose. Esta forma que se conduziu a fermentação otimizou o processo, visto que as altas concentrações de glicose aumentaram a produtividade volumétrica ao reduzir o tempo de conversão devido à elevada massa celular.

A baixa conversão obtida para esse processo biotecnológico ocorre, possivelmente, devido a: fatores operacionais (pH, temperatura e aeração) que influenciam o metabolismo da levedura; presença de inibidores no licor utilizado (derivados de lignina, ácido acético, HMF, furfural, etc.); ajuste de parâmetros cinéticos de uma fermentação em batelada para uma simulação em regime contínuo e principalmente, devido à produção conjunta de etanol.

A fim de avaliar a metodologia de modelagem e simulação adotada nesse estudo, foram utilizados parâmetros cinéticos advindos de uma fermentação com *C. guilliermondii* em meio sintético, a partir de dados fornecidos por Mussato e Roberto (2006). Os parâmetros foram:  $\mu_{máx} = 0,09 \text{ h}^{-1}$ ,  $Y_{p/s} = 0,68$ ,  $Y_{x/s} = 0,05$  e  $K_s = 4$ . Testou-se a melhor condição já definida anteriormente ( $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ ). As curvas obtidas estão expostas na Figura 24.

**Figura 24 - Curvas de consumo de xilose ( $S_0 = 60,2 \text{ kg m}^{-3}$ ), crescimento de células ( $X_0 = 15 \text{ kg m}^{-3}$ ) e produção xilitol com  $tr = 3 \text{ h}$  e  $F = 3,33 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$**



Fonte: Autor (2017)

Observa-se que, quando a modelagem e simulação testada utiliza-se de parâmetros cinéticos obtidos a partir de uma fermentação em meio sintético, os resultados foram bastante satisfatórios. A conversão aumentou significativamente, obtendo-se um rendimento de 67,10%, produtividade de  $0,40 \text{ Kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$  e consumo de xilose de 90,01%. Tal comportamento sugere que o licor hidrolisado de sisal utilizado no experimento de Xavier (2016), como se espera acontecer com licores hidrolisados não sintéticos, deve ter sofrido interferência de várias fontes inibitórias, o que reduz o rendimento e inviabiliza economicamente o processo.

Xavier (2016) destaca que, no licor proveniente da fibra de sisal, os níveis de ácido acético estavam acima dos permitidos, aproximadamente de  $5,86 \text{ g L}^{-1}$ . No entanto, observou-se que essa quantidade diminuía ao decorrer da fermentação, chegando a concentrações de  $0,9 \text{ g L}^{-1}$ . Tal comportamento também foi observado por Bezerra (2016): o hidrolisado do bagaço do sisal apresentou consumo de ácido acético no transcorrer da fermentação, mesmo com teor inicial de  $1,6 \text{ g L}^{-1}$ .

Em trabalho similar, Albuquerque et al. (2015) ressalta que licores hemicelulósicos com concentrações de ácido acético acima de  $3 \text{ g L}^{-1}$  resultam em fermentações com rendimento muito baixo, uma vez que este inibidor afeta drasticamente o microrganismo. Sarrouh *et al.* (2009) descreve a relação deste efeito inibitório com o pH, afirmando que, quando o ácido acético se encontra na forma não dissociada, ele é capaz de difundir-se através da membrana celular, atingindo o citoplasma e, ao adentrar no interior das células com níveis de pH mais

elevados, ele dissocia-se diminuindo o pH intracelular, provocando a morte do microrganismo.

Os níveis de HMF e furfural, 2 g L<sup>-1</sup> para ambos, estavam dentro dos limites inibitórios, segundo Xavier (2016). Huang et al. (2011) verificaram que a presença de furfural exerceu efeito negativo na produção de xilitol por uma cepa de *Candida tropicalis*. A adição de 1 e 2 g L<sup>-1</sup> de furfural causou a taxa de redução do consumo de xilose em 67,4% e 66,2%, respectivamente, comparado com o meio que não recebeu a adição de furfural; além disso, a taxa de redução na produção de xilitol reduziu em 66,8% e 67,7%, respectivamente.

Xavier (2016) não cita a presença de produtos advindos da degradação da lignina, todavia, uma variedade de compostos aromáticos, poliaromáticos, fenólicos e aldeídos, são liberados da estrutura da lignina durante a hidrólise de materiais lignocelulósicos. Palmqvist e Hahn-Hagerdal (2000) afirmam que a presença de compostos fenólicos é altamente inibitória durante a fermentação, e Parajó *et al.* (1998), informam que a presença de tais compostos chega a ser mais tóxica que o HMF e o furfural. Estes compostos provocam uma perda na integridade da membrana celular e, como consequência, afetam a habilidade desta em atuar como barreira seletiva, ocorrendo uma diminuição no crescimento celular e na assimilação de açúcares (PALMQVIST e HAHNHAGERDAL, 2000).

Lee (1992) ressalta que um dos principais problemas que impedem uma alta conversão em hidrolisados hemicelulósicos é a presença de um ou mais substratos, o que, dependendo do microrganismo, fornece a produção de outros produtos. Algumas leveduras como a *Pichia stipitis* são capazes de produzir predominantemente apenas o etanol, *Candida parapsilosis*

produz apenas xilitol e *C. guilliermondii* e *C. shehatae* são capazes de produzir ambos, dependendo das condições fornecidas durante a fermentação (FURLAN; BOUILLOUD; CASTRO, 1994).

Como reportado por Parajó *et al.* (1998), *C. guilliermondii* metaboliza xilose e gera vários produtos de valor agregado, tipo dióxido de carbono, ácido acético, etanol e xilitol. Xavier (2016) informa que a conversão de xilose em xilitol (Yp/s) depende diretamente do fluxo de carbono através das rotas metabólicas e que, à medida que a concentração de xilose diminuiu a níveis muito baixos, a levedura tende a recorrer a outras fontes de carbono, como o ácido acético e o próprio xilitol ou etanol. Outro argumento do autor é que a levedura observada (*C. guilliermondii*) não lança mão da glicose como fonte de carbono para a formação de etanol, dado que a concentração de glicose permaneceu inalterada durante o tempo de produção do etanol, tendo a primeira sofrido alterações de sua concentração apenas após a formação desse álcool.

Por outro lado, Albuquerque et al. (2014) destacam que leveduras produzem o xilitol como um metabólito intermediário durante o metabolismo da D-xilose e que, em presença de condições adequadas, o metabólito pode ser modificado e, subsequentemente, resultar na produção de etanol (ver Figura 12). Esses autores citam que a produção de xilitol a partir de hidrolisados hemicelulósicos pode ser afetada pela concentração de açúcares no meio de fermentação. Walther et al. (2001) destacam também a influência da concentração de açúcares na produção de xilitol a partir de hidrolisado de hemicelulose e citam que altas concentrações de açúcares monoméricos podem causar estresse osmótico, inibir a ação da xilose redutase ou levar à produção de etanol a níveis que sejam danosos para a levedura.

## 6 CONCLUSÕES

A análise das fermentações em batelada, em escala laboratorial, fornecidas por Bezerra (2016), o qual tratou o hidrolisado de bagaço de sisal, e Xavier (2016), que tratou o hidrolisado da fibra do sisal, mostrou que aqueles de Xavier (2016) foram mais eficientes na conversão de xilose em xilitol, razão pela qual o presente estudo ocupou-se da análise dos dados desse último autor.

A modelagem e simulação propostas, utilizando o licor hemicelulósico como substrato a partir da dissertação de Xavier (2016), não mostrou resultados significativos, visto que a conversão máxima foi de 2,9164% e a produtividade máxima foi de  $0,0134 \text{ Kg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , para a melhor condição estudada.

Diante do exposto, em uma ótica industrial, o processo simulado não é economicamente viável, pois a utilização desse substrato em uma biorefinaria com esses resultados implicaria prejuízo econômico.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, C. L.; OETTERER M.; MENEZES, T. J. Caracterização e aplicações do xilitol na indústria alimentícia. **Boletim SBCTA**. v. 33, n. 2, p. 184-193, 1999.

AGUIRRE, L. A. **Introdução à identificação de sistemas: técnicas lineares e não lineares a sistemas reais**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2004. 659p.

AIBA, S.; SHODA, M.; NAGATAMI, M. Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.JO, p. 845-864, 1968

ALBUQUERQUE, T. L.; GOMES, S. D. L.; MARQUES JR., J. E.; SILVA, I. J.; ROCHA, M. V. P. Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. **Catalysis Today**, v. 255, p. 33–40, 2015.

ALBUQUERQUE, T. L.; SILVA Jr., I. J. MACEDO, G. R.; ROCHA, M. V. P.; Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. **Process Biochemistry**. v. 49, p. 1779–1789, 2014.

ALMEIDA e SILVA, J. B., MANCILHA, I. M., VANNETTI, M. C. D., TEIXEIRA, M. A. Microbial protein production by *Paecilomyces variotii* cultivated in eucalyptus hemicellulosic hydrolyzate. **Bioresour. Technol.**, New York, v.52, p.197-200, 1995.

ANDRIETTA, S. R.; GAMBARO, V.; FIORIM, F.; FABRO, J. L.; PALMER JÚNIOR, C. S.; MAUGERI, F. **Fermentação contínua - projeto, controle e aspectos operacionais (Usina Guarani)**. STAB. Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, Piracicaba, v. 12, n.5, p. 26-30, 1994.

BARBOSA, M. F. S.; MEDEIROS, M. B.; MANCILHA, I. M.; SCHNEIDER, H.; LEE, H. Screening of Yeast for Production of Xylitol from D-Xylose and Some Factors Which Affect Xylitol Yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdam, v. 3, p. 241-251, 1988.

BASTOS, V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, mar. 2007.

BEZERRA, Gustavo Santos. **Avaliação da produção simultânea de xilitol e etanol a partir do bagaço de sisal**, 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

BICHO, P. A.; RUNNALS, P. L.; CUNNIGHAM, J. D.; LEE, H. Induction of Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Activities in *Pachysolentannophilus* and *Pichia stipitis* on Mixed Sugars. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, n.1, p. 50-54, 1988.

BIROL, G.; DORUKER, B.; ÚNSAN, Z.L; ULGEN, K Mathematical description of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v.33, n.7, p.763-771, 1998

BONONI, A; ABOUTBOUL, H.; SCHIMITELL, W. Simulation of continuous fermentation of manioc hydrolysate. **Biotechnology and Bioengineering Symposim**, v.ll, p.333-357, 1981.

BOTURA, M.B.; DOS SANTOS, J.D.G. ; DA SILVA, G.D.; DE LIMA, H.G.; E OLIVEIRA, J.V.A.; DE ALMEIDA, M.A.O.; BATATINHA, M.J.M.; BRANCO. A. In vitro ovicidal and larvicidal activity of *Agave sisalana* Perr. (Sisal) on gastrointestinal nematodes of goats. **Veterinary Parasitology**, v.192, p. 211–217, 2013.

BRANCO, R. F.; SANTOS, J. C.; MURAKAMI, L. Y.; MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; SILVA, S. S. Xylitol production in a bubble column bioreactor: Influence of the aeration rate and immobilized system concentration. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 258–262, 2007.

BRANDÃO, L.G.N.; **Efeito de aditivos no teor de matéria seca, fração nitrogenada e ph da silagem de coproduto do sisal.** IN: V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL. 2008. Aracaju.

CANILHA L, SILVA J.B.A.E.; FELIPE, M.G., CARVALHO W. (2003) Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor. **Biotechnology Letters**, 25:1811–4

CANILHA, L.; SILVA, J. B. A.; SOLENZAL, A. I. N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1909–1912, 2004.

CHATTAWAY, T; GOMA, G.; RENAUD, PY Modeling ethanol and secondary inhibitions of ethanol fermentation in a multistage reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v.32, n.3, p. 271-276, 1988

CONAB. Sisal. Disponível em :<<http://www.conab.gov.br>> acessado em: 14/10/2017.

CONVERTI, A.; TORRE, P.; DE LUCA, E.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M.; SILVA, S. S. Continous xylitol production from synthetic xylose solutions by *Candida guilliermondii*: influence of pH and temperature. **Eng Life Sci**, v. 3, p. 193-198, 2003.

COUGHLAN, M. P.; MEHRA, R. K.; CONSIDINC, P. J.; O'RORKC, A.; PALS, J. Saccharification of agricultural residues by combined cellulolytic and pectinolytic enzyme systems. In: **Biotechnology and bioengineering symposium**. Wiley, 1986. p. 447-458.

CRUZ, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; DOMÍNGUEZ H.; PARAJÓ, J. C. Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion into xylitol, **Food Biotechnology**, v.14:1-2, p.79-97, 2000.

CUNHA, M.C.C. **Métodos Numéricos**. Campinas: Editora Unicamp, 2003. 276p. (2a edição).

CUNHA, MAA. **Bioprodução de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar em sistemas com células de Candida guilliermondii imobilizadas em hidrogéis de álcool polivinílico**. 2006. Tese de Doutorado. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. 215p.

DEBNATH, M.; PANDEY, M. SHARMA, R.; THAKUR, G.S.; LAL, P. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.43, p. 177–187, 2010.

DOBRE, T. G.; MARCANO, J. G. S. **Chemical Engineering: Modeling, |simulation and Similitude**. Germany, Weinheim:WILEY-VCH, 2007.

DOMIANO, D.; CHIN, C.S.; m, N.; WANG, S.S. Performance, kinetics and substrate utilization in a continuous yeast fermentation with cell recycle by ultrafiltration membranes. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v.21, p.69-77, 1985.

DOURADO, A; GOMA, G.; ALBUQUERQUE, U.; SEVEL Y, Y. Modeling and Statistic optimization of the ethanol production in a cascade reactor. I. Modeling. **Biotechnology and Bioengineering**, v.29, n.2, p.187-194, 1987.

EL-BAZ, A. F.; SHETAIA, Y. M.; ELKHOULI, R. R. Xylitol production by *Candida tropicalis* under different statistically optimized growth conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 68, p. 15353-15363, 2011.

EMODI, A. Xylitol: Its Properties and Food Applications. **Food Technology**, p.28-32, 1978

FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M.; VITOLO, M.; ROBERTO,I. C.; SILVA, S. S.; ROSA, S. A. M. Preparação de Xilitol por Fermentação de Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Cana-de-Açúcar. **Arquivos de Biologia e Tecnologia, Curitiba**, v.36, n.1, p.103-114, 1993.

FELIPE, M.G.A., VITOLO, M.; MANCILHA, I.M.; SILVA, S.S. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, v. 13, n. 1-2, p. 11-14, 1997.

FELIPE, M.G.A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I.M.; SILVA, S.S. Environmental Parameters Affecting Xylitol Production From Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolyzate by *Candida guilliermondii*. **J. Ind. Microb. Biotechnol.** v.18, p.251-254, 1997.

FIGUEIREDO, K.J.C. **Estudo experimental da toxicidade do resíduo do sisal (*Agave sisalana*, Perrine) para bovinos**. Belo Horizonte: UFMG, 1974. 40p. Tese Mestrado.

FURLAN, Sandra A.; CASTRO, Heizir F. de. Xylitol production by *Candida parapsilosis* under fed-batch culture. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 44, n. 2, p. 125-128, 2001.

GHOSE, T. K.; TY AGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. I. Batch versus continuous systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v.21, n.8, p.1387-1400, 1979a.

GHOSE, T. K.; TYAGI, R. D. Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. II. Product and substrate inhibition and optimization of fermentor design. **Biotechnology and Bioengineering**, v.21, n.8, p.1401-1420, 1979b.

GIRIO, F. M.; AMARO, C.; AZINHEIRAL, H.; PELICA, F.; AMARAL-COLLAÇO, M. T. Polyols production during single and mixed substrate fermentations in *Debaromyomyces hansenii*. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 3, p. 245-251, 2000.

GÖHL, BO. **Feasibility study on the use of sisal waste as a feed for cattle**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1975.

GROOT, W.J.; SIKKENK, C.M.; WALDRAM, R.H.; VAN DER LANS, R.G.J.M.; LUYBEN, K.C.A.M. Kinetics of ethanol production by baker's yeast in an integrated process of fermentation and microfiltration. **Bioprocess Eng.**, v.8, p.39-47, 1992.

GROVER, B. P., GARG, S. K., VERMA, J. Production of 2,3 butanediol from wood hydrolysate by *Klebsiela pneumoniae*. **World J. Microbiol. Biotechnol., London**, v.6, p. 328-332, 1990.

HARRISON, D.G. Subproductos del sisal como alimentos para los ruminantes. **Rev. Mund. Zootec.**, v.49, p 25-31, 1984

HUANG, C.-F.; JIANG, Y.-F.; GUO, G.-L.; WANG, W.-S. Development of a yeast strain for xylitol production without hydrolysate detoxification as part of the integration of co-product generation within the lignocellulosic ethanol process. **Bioresource technology**, v. 102, n. 3, p. 3322-9, 2011.

IOELOVICH, Michael. Cellulose as a nanostructured polymer: a short review. **BioResources**, v. 3, n. 4, p. 1403-1418, 2008.

JARZEBSKI, A.B; MALINOWSKI, J.J.; GOMA, G. Modeling of ethanol fermentation at high yeast concentrations. **Biotechnology and Bioengineering**, v.34, n.9, p.1225-1230,1989.

JIN, C.K.; CHIANG, H.L.; WANG, S.S. Steady-state analysis of the enhancement in ethanol productivity of a continuous fermentation process employing a proteinphospholipid complex as a protecting agent. **Enzyme and Microbial Technology**, v.3,n. 3, p.249-257, 1981.

JIN, C.K.; CHIANG, H.L.; WANG, S.S. Steady-state analysis of the enhancement in ethanol productivity of a continuous fermentation process employing a proteinphospholipid complex as a protecting agent. **Enzyme and Microbial Technology**, v.3, n. 3, p.249-257, 1981.

KELLER, R; DUNN, J. Computer of the biomass production rate of cyclic fed batch continuous culture. **J. Appl. Chem. Biotechnol**, v.28, p. 784-790, 1978

KIM, J. H.; RYU, Y. W.; SEO, J. H. Analysis and optimization of a two-substrate fermentation for xylitol production using *Candida tropicalis*. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 181-186, 1999.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. Química da madeira. **Curitiba: UFPR**, v. 3, 2005.

KOURKOUTAS, Y.; BEKATOROU, A.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R.; KOUTINAS, A A. Immobilizations Technologies and supports materials suitable in alcohol beverages production: review. **Food Microbiology**. V. 21, p.337-397, 2004.

KUMAR, M.; GAYEN, K. Developments in biobutanol production: new insights. **Applied Energy**, v. 88, n. 6, p. 1999-2012, 2011.

LAKSESVELA, B.; SAID, A.N. Experiments on the nutritive value of sisal waste. **Kenia Sisal Board Bulletin**, p.13-18, Feb.1970

Leathers TD. Bioconversions of maize residues to value-added coproducts using yeast-like fungi. **FEMS Yeast Res.** 2003;3:133–140.

LEE, J. M.; POLLARD, J.F.; COULMAN, G. A. Ethanol fermentation with cell recycling:computer and simulation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.25, n.2, p.497-511, 1983.

LEE, Jeewon. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Journal of biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 1-24, 1997.

LEVENSPIEL, O. Monod equation: a revised and a generalization to product inhibition situations. **Biotechnology and Bioengineering**, v.22, n.8, p.1671-1687, 1980.

LUONG, J. H. T. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.27, n.3, p.285, 1985.

MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H.; SILVA, O. R. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade Agave sisalana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 1, 2009.

MARTÍNEZ, Ernesto Acosta; SILVA, Silvio S.; FELIPE, Maria GA. Aspects of xylitol formation in sugarcane bagasse hydrolysate by *Candida guilliermondii* in the presence of tetracycline. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 77, n. 1, p. 347-354, 1999.

MEKHILEF, S.; SAIDUR, R.; SAFARI, A. A review on solar energy use in industries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 4, p. 1777-1790, 2011.

MOHAN, D.; PITTMAN-JUNIOR; C.U.; BRICKA, M.; SMITH, F.; YANCEY, B.; MOHAMMAD, J.; STEELE, P.H.; FRANCO, M.F.A.; GÓMEZ-SERRANO, V.; GONG, H. Sorption of arsenic, cadmium, and lead by chars from fast pyrolysis of wood and bark during bio-oil production. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 310, p. 57-73, 2007.

MONBOUQUETTE, Harold G. Models for high cell density bioreactors must consider biomass volume fraction: cell recycle example. **Biotechnology and bioengineering**, v. 29, n. 9, p. 1075-1080, 1987.

MONOD, J. The growth of bacterial culture. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.3, p.371-394, 1949.

MOULIN, G.; BOZE, H.; GALZY, P. Inhibition of alcoholic fermentation by substrate and ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v.22, p.2375-2381, 1980.

MUSSATO, I. S.; ROBERTO, I. C. Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.28, p.34-39, set/out 2002

MWAIKAMBO, L. Y.; ANSELL, M. P.; Chemical modification of hemp, sisal, jute and kapok fibers by alkalization. **Journal of Applied Polymer Science**, v.84, n.12, p. 2222-2234, 2002.

NIGAM, J. N. Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. **J. Biotechnol., Amsterdam**, v.87, n.1, p.17-27, 2001.

OJUMU, T. V., SOLOMON, B. O., BETIKU, E., LAYOKUN, S. K., AMIGUN, B., Cellulase Production by *Aspergillus flavus* Linn Isolate NSPR 101 fermented in sawdust, bagasse and corncob. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 6, p. 150-152, 2003.

PAIVA, J. A. J.; VALE, O. E.; SAMPAIO, A. O. **Utilização do resíduo do desfibramento do sisal (Agave sisalana, Perrine) na alimentação de novilhos**. EPABA., 1986.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **BiosourceTechnology**, v. 74, p. 25-33, 2000.

PANDEY, A.; SOCOOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCOOL, V. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PANWAR, N. L.; KAUSHIK, S. C.; KOTHARI, Surendra. Role of renewable energy sources in environmental protection: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 3, p. 1513-1524, 2011.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: operation in culture media made with commercial sugars. **Bioresource Technology, Essex**, v.65, p.203-212, 1998a.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. **Bioresource Technology**, v. 66, p. 25-40, 1998.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: operation in culture media made with commercial sugars. **Bioresource technology**, v. 65, n. 3, p. 203-212, 1998.

PENG, F.; PENG, P.; XU, F.; SUN, R. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 4, p. 879-903, 2012.

PÉREZ-BIBBINS, B.; SALGADO, J. M.; TORRADO, A.; AGUILARUSCANGA, M. G.; DOMÍNGUEZ, J. M. Culture parameters affecting xylitol production by Debaryomyces hansenii immobilized in alginate beads. **Process Biochemistry**, v. 48, p. 387-397, 2013.

PINTO, J.C; LAGE, P.L. C. **Métodos numéricos em problemas de Engenharia Química**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001.

PINTO, Maria Novais. Contribuição ao estudo da influência da lavoura especulativa do sisal no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Geografia**, v.31, n.3, p.3-102, 1969.

PRADELLA, J.G.C. **Reatores com celulas imobilizadas: biotecnologia industrial**. São Paulo: E.Blücher, 2001. 372p.

RAELE, R. **A aplicação de um modelo de construção de cenários no setor produtivo de etanol: um estudo sobre o etanol de segunda geração**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

RAVELLA, S. R.; GALLAGHER, J.; FISH, S.; PRAKASHAM, R. S. Overview on commercial production of xylitol, economic analysis and market trends. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds) **D-xylitol: fermentative production, application and commercialization**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 291-306.

ROBERTO, I. C., SILVA, S. S., FELIPE, M. G. A., MANCILHA, I. M., SATO, S. Bioconversion of Rice Straw Hemicellulose Hydrolysate for the Production of xylitol. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, Clifton, v.57/58, p. 339-347, 1996.

SAHA, B. C.; ITEN, L. B.; COTTA, M. A.; WU, Y. V. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3693-3700, 2005.

SANCHES POTES, A.; KIRCHNGR SALINAS, F.R.; LOPEZ GONSÁLEZ, E.; PAULIN TORRES, N.; USAMI OLMOS, C. **Manuales para educación agropecuaria: cultivos de fibras.** México: Trillas, 1991. 84p.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quim. Nova**, v. 35, n. 5, p.1004-1010, 2012.

SARROUH, B. F. **Estudo da produção biotecnológica de xilitol em reator de leito fluidizado utilizando bagaço de cana-de-açúcar e células imobilizadas: avaliação de parâmetros operacionais e viabilidade econômica.** 2009. 185f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

SARROUH, B. F.; BRANCO, R. F.; SILVA S. S. Biotechnological Production of Xylitol: Enhancement of Monosaccharide Production by Post-Hydrolysis of Dilute Acid Sugarcane Hydrolysate. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 153, P.163–170, 2009.

SARROUH, B.F.; SILVA, S.S. Evaluation of the performance of a three-phase fluidized bed reactor with immobilized yeast cells for the biotechnological production of xylitol. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 6, n. 1, 2008.

SCHIRMER-MICHEL, A.C.; FLORES, S.H.; HERTZ, P.F.; MATOS, G.S.; Ayub, M.A.Z. ; SCHIRMER-MICHEL. Production of ethanol from soybean hull hydrolysate by osmotolerant *Candida guilliermondii* NRRL Y-2075. **Bioresource technology**, v. 99, n. 8, p. 2898-2904, 2008.

SCHMIDELL, W.; FACCIOOTTI, M. C. R. Biorreatores e processos fermentativos. **Biotecnologia industrial**, v. 1, p. 179-192, 2001.

SEVEL Y, Y.; PORCIEL, J.P.; RAUZY, G.R.; BABANS, J. P. **8<sup>th</sup> IFAC Trienal Congress**, Kyoto, Japan, Aug., 1981.

SILVA, C. J. M. **Planejamento e otimização de parâmetros no processo fermentativo de obtenção de xilitol empregando o hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz.** Lorena: FAENQUIL/Departamento de Biotecnologia, 117 p. 1999. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado.

SILVA, C. J. S. M.; MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 115-119, 2006.

SILVA, O. R. R. da & BELTRÃO, N. E. de M. **O agronegócio do sisal no Brasil.** Brasília: Embrapa – SPI, Campina Grande - CNPA, 1999, 205p

SILVA, O. R. R. F.; COUTINHO, W. M.; CARTAXO, W. V.; SOFIATTI, V.; SILVA FILHO, J. L., CARVALHO, O. S.; COSTA, L. B. Cultivo do sisal no Nordeste Brasileiro. **Embrapa Algodão-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2008.

SOHI, S. P.; KRULL, E.; LOPEZ-CAPEL, E.; BOL, R. A. Review of biochar and its use and function in soil (Chapter 2). **Advances in Agronomy**, v. 105, p. 47-82, 2010.

SOUZA, O. **Tratamento de subprodutos e resíduos agropecuários com solução de ureia.** Guaíba: Agropecuária, 2001. 102p.

SOUZA, Onaldo; SANTOS, I. E. Importância dos resíduos agropecuários na alimentação animal. **Boletim pecuário**, 2002.

Suzuki, T.; Muroga, Y.; Takahama, M.; Nishimura, Y. S. Roseigium denhamense gen. nov., sp. nov. and Roseibium hemelinense sp. nov., aerobic bacteriochlorophyll-containing bacteria isolated from the east and west coasts of Australia. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 50, n. 6, p. 2151-2156, 2000.

TADA, K.; HORIUCHI, J.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Microbial xylitol production from corn cobs using *Candida magnoliae*. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 98, n. 3, p. 228-230, 2004

TEIXEIRA, F. A.; VELOSO, C. M.; PIRES, A.; SILVA, F. F.; NASCIMENTO, P. V. N. Perdas na ensilagem de capim-elefante aditivado com farelo de cacau e cana-de-açúcar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 227-233, 2008.

UNITED STATES DEPARTMENT OF ENERGY. **Top value-added chemicals from biomass**. Volume I – results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas. Springfield, 2004.

VAJZOVIC, A.; BURA, R.; KOHLMEIER, K.; DOTY, S. L. Novel endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* strain PTD3 II: production of xylitol and ethanol in the presence of inhibitors. **Journal of industrial microbiology & Biotechnology**, v. 39, 1453-63, 2012.

VANDENBOSSCHE, Virginie et al. A new lignocellulosic biomass deconstruction process combining thermo-mechano chemical action and bio-catalytic enzymatic hydrolysis in a twin-screw extruder. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 258-266, 2014.

VAZ JR, S. Biorrefinarias: cenários e perspectivas. **Embrapa Agroenergia**, v. 176, 2011.

WALTHER, T.; HENSIRISAK, P.; AGBLEVOR, F.A. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on xylitol production by *Candida tropicalis*. **Bioresource Technology**, v. 76, p. 213-220, 2001.

WEI, J.; YUAN, Q.; WANG, T.; WANG, L. Purification and crystallization of xylitol from fermentation broth of corncob hydrolysates. **Frontiers Chem. Eng. China**, v. 4, n. 1, 57-64, 2010.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

XAVIER, F. D. **Produção biotecnológica de xilitol a partir da fração hemicelulósica da fibra de sisal**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

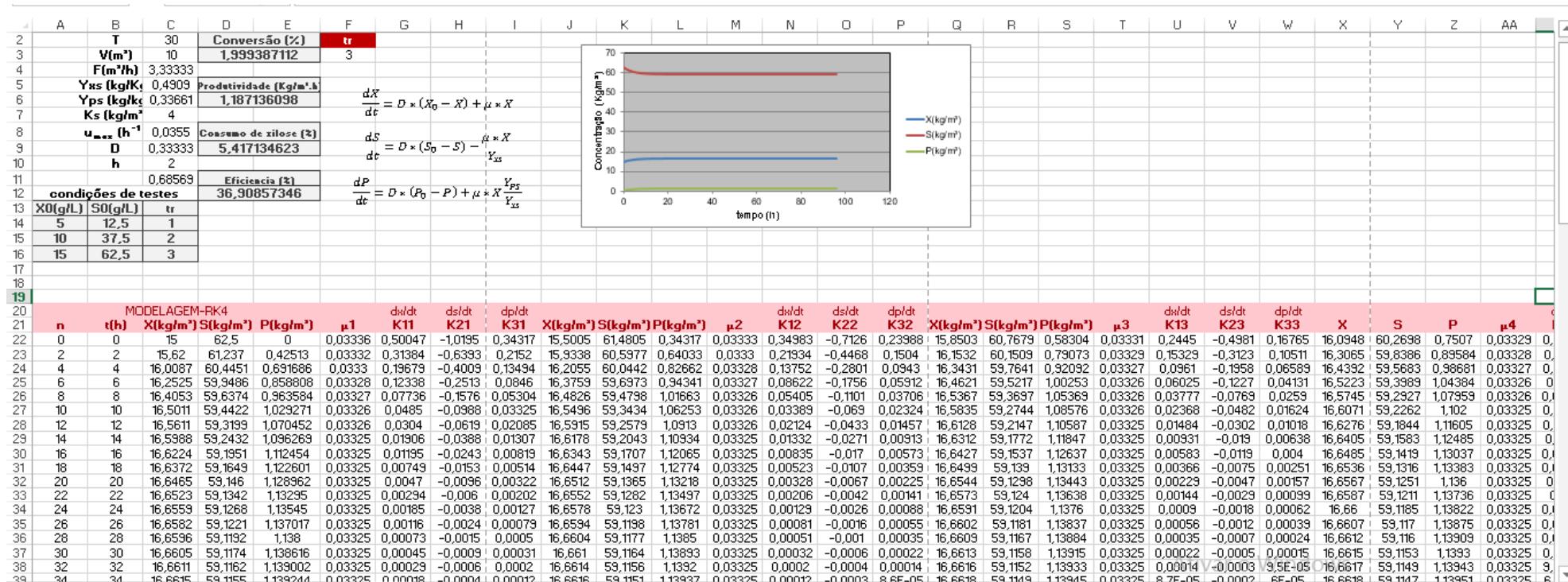
YOSHITAKE, J.; OHIWA, H.; SHIMAMURA, M.; IMAI, T. Production of polyalcohol by a *Cornynebacterium* species. Part 1. Production of pentitol from aldopentose. **Agric Biol Chem**, v. 35, p. 905-911, 1971.

ZANARDI, M. S.; GOMES, I. A.; COSTA JR, E. F. Modelagem fenomenológica de biorreator industrial para a produção de etanol. **Blucher Physics Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 73-74, 2014.

ZARPELON, F. ANDRIETTA, S. R. Fermentação contínua para a produção de álcool.  
**STAB. Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, Piracicaba**, v. 10,  
n.4, p. 23-28, 1992.

## ANEXO 1

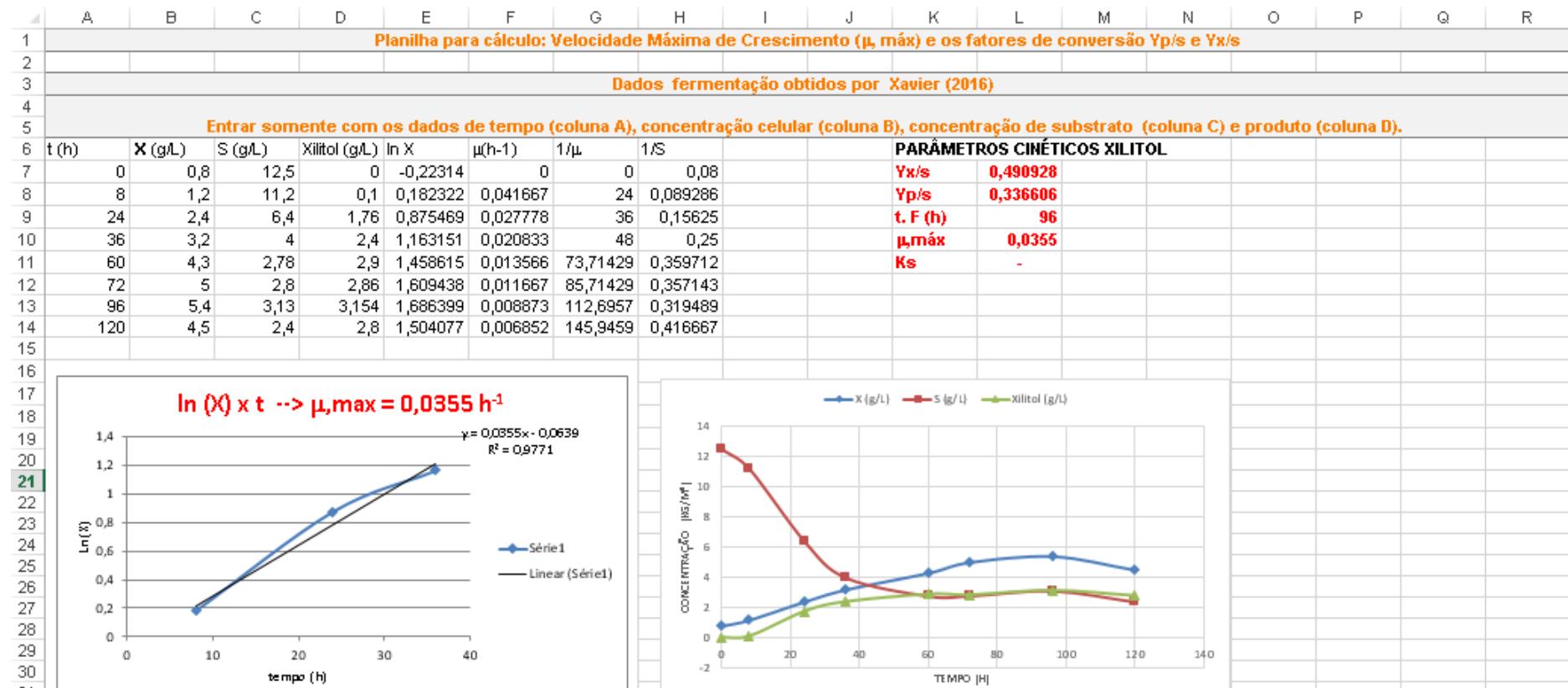
Planilha em Excel para simulação do processo por Runge-Kutta.



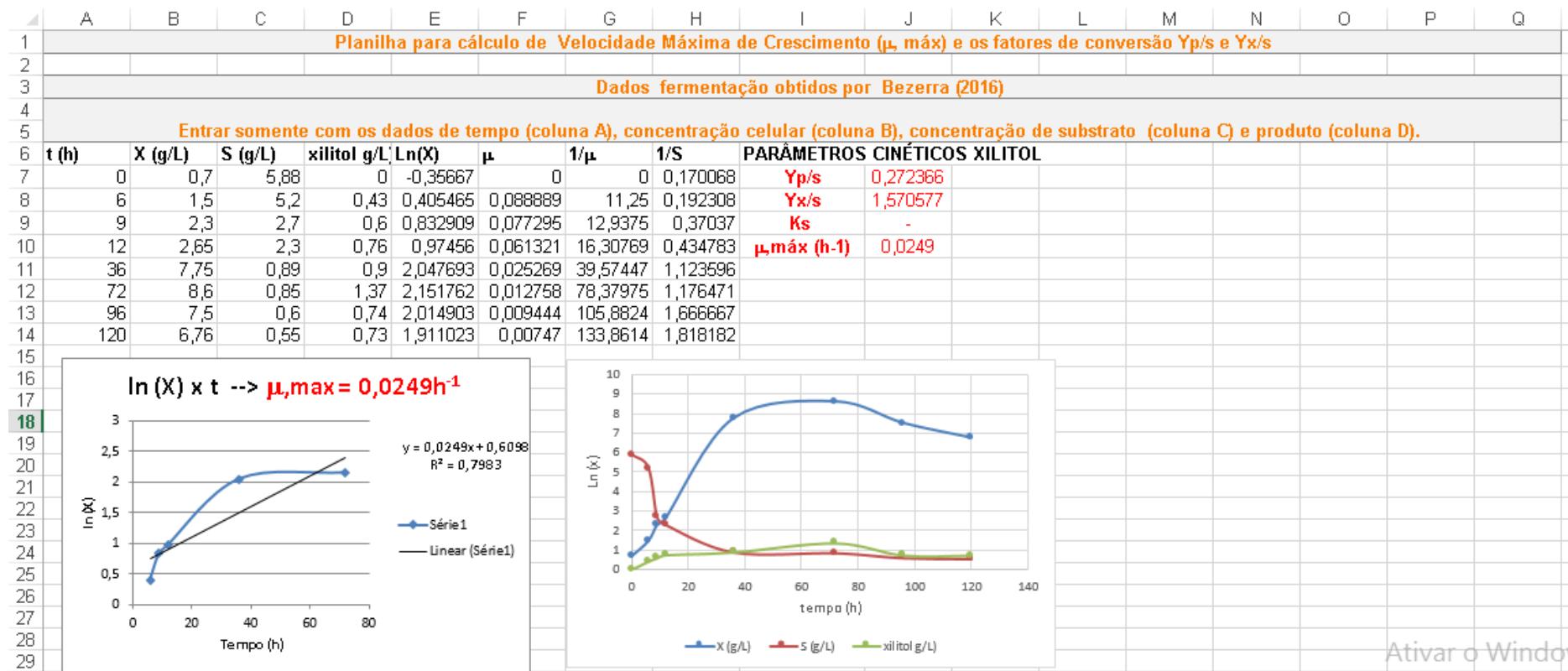
## ANEXO 2

Planilha de cálculo de parâmetros cinéticos

a. Dados de Xavier (2016).



b. Dados de Bezerra (2016).



## ANEXO 3

Valores da regressão linear para valores de  $1/\square$  em função de  $1/S$  para verificar se a equação de Lineweaver-Burk.

a. Dados de Xavier (2016)

b. Dados de Bezerra (2016)