

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ERIKA MEDEIROS DO NASCIMENTO

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE UM BIORREATOR CSTR PARA
PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE OLIGOSSACARÍDEO PANOSE**

JOÃO PESSOA – PB

2023

ERIKA MEDEIROS DO NASCIMENTO

**MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE UM BIORREATOR CSTR PARA PRODUÇÃO
ENZIMÁTICA DE OLIGOSSACARÍDEO PANOSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Giovanilton Ferreira da Silva

JOÃO PESSOA - PB

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N244m Nascimento, Erika Medeiros do.

Modelagem e simulação de um biorreator CSTR para
produção enzimática de oligossacarídeo panose / Erika
Medeiros do Nascimento. - João Pessoa, 2023.

87 f. : il.

Orientação: Giovanilton Ferreira da Silva.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Engenharia química. 2. Panose. 3. Biorreator
CSTR. I. Silva, Giovanilton Ferreira da. II. Título.

UFPB/BC

CDU 66.0(043)

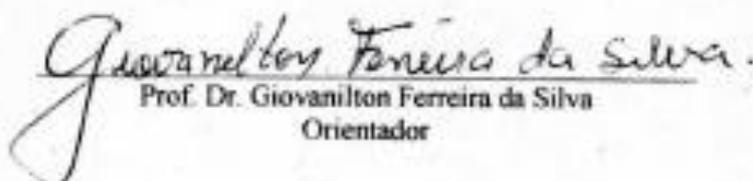


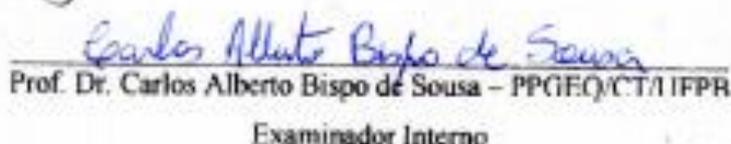
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA - PPGEQ

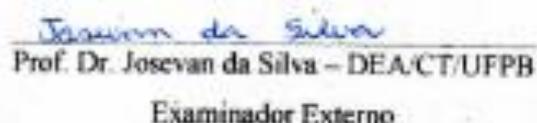
ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos trinta (30) dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e três (2023), às quatorze horas (14:00), foi realizada na sala remota, a apresentação e defesa da DISSERTAÇÃO intitulada: MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE UM BIORREATOR CSTR PARA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE OLIGOSSACARÍDEO PANOSE, pela discente, Erika Medeiros do Nascimento, matrícula 20201013833, com vista a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração de Engenharia das reações químicas e bioquímicas. A Comissão Examinadora foi composta pelos professores: Prof. Dr. Giovanilton Ferreira da Silva (Orientador), Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa (Examinador interno), Prof. Dr. Josevan da Silva – DEA/CT/UFPB (membro externo), sendo a sessão presidida, pela Prof. Orientador. Instalada a Banca Examinadora, o Senhor Presidente passou a palavra a discente para apresentar a defesa pública do seu trabalho de dissertação e este iniciou a apresentação oral às 14:00 horas, sendo concluída às 14:55 horas, tendo sido iniciada, logo a seguir, a arguição pelos examinadores, finalizando 16:40. Em seguida, o Senhor Presidente convidou a Banca Examinadora a reunir-se reservadamente para deliberação. Concluída a reunião, o Senhor Presidente convocou o discente e os demais presentes para proclamar o resultado, tendo sido atribuído, por unanimidade, ao Mestrando o conceito Aprovada, nos termos do Regulamento Geral dos Cursos e Programas de Pós-Graduação *stricto Sensu* da Universidade Federal da Paraíba (Resolução n- 79/2013- CONSEPE) e do Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba (Resolução nº 26/2014-CONSEPE). Ao final da sessão, após os agradecimentos por parte do discente, o Senhor Presidente, por recomendação dos membros da Banca, estabeleceu um prazo máximo de 60 dias para o mestrando providenciar as correções sugeridas, que são encontradas ao longo dos exemplares lixos e corrigidos pelos membros da banca; ficando a solicitação da emissão do diploma do Título de Mestre condicionada a essas retificações que serão verificadas posteriormente pelo orientador. Às 17:00 horas, o Senhor Presidente encerrou os trabalhos, determinando a leitura para fins de aprovação e a lavratura da presente ata devidamente assinada por todos os membros da Comissão Examinadora.

João Pessoa, em 30 de março de 2023


Prof. Dr. Giovanilton Ferreira da Silva
Orientador


Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa – PPGEQ/CT/UFPB
Examinador Interno


Prof. Dr. Josevan da Silva – DEA/CT/UFPB
Examinador Externo

Aos meus pais Evandro Heleno e Lisete Laura que com muito amor, dedicação, e com muito sacrifício me deram a minha maior herança: fé em Deus e meus estudos. E ao meu esposo Agenor e aos nossos filhos Matheus e Evandro e a minha irmã Zamza que não me deixaram desistir.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre ter cuidado de mim, pelas bênçãos derramadas na minha vida e ser o meu sustento diário. E a virgem Maria minha mãezinha do céu e a São José por intercederem por mim junto a seu filho Jesus por todas as necessidades da minha vida.

Agradeço a paiinho Evandro Heleno que não alcançou aqui na terra a realização desse meu sonho, mas que lá do céu continua cuidando, apoiando e torcendo por mim como sempre fez. A mainha Lisete Laura que com seu amor, oração, torcida e a sua ajuda constante cuida de mim e dos seus netos. A eles eu devo tudo o que sou e que mesmo sem estudos e de origem humilde sempre me apoiaram e fez de tudo para dar o melhor a mim e aos meus irmãos, e sempre me disseram que a minha herança são meus estudos e o conhecimento adquirido.

Ao meu amado esposo Agenor que sempre junto a mim com seu amor, carinho, atenção, compreensão, paciência e incentivo nunca me deixou desistir, me apoiando a seguir sempre em frente. Aos nossos filhos Matheus e Evandro Gabriel pelo seu amor, abraços, beijos e compreensão nas horas de ao invés de estar com eles, estava me dedicando a esse meu sonho, que muitas vezes eu aperreada me diziam: “Mainha, paciência, vai dar tudo certo, a senhora vai conseguir”, me abraçando e beijando.

A minha irmã Elisângela, por sempre cuidar de mim, gratidão pelo seu amor, apoio e por sempre acreditar e torcer por mim, estando a qualquer hora sempre pronta a me ajudar e apoiar no que se faz necessário e a todos meus familiares que longe ou perto sempre me incentivam a seguir em frente.

Agradeço ao meu orientador prof. Dr. Giovanilton pela atenção, ensinamentos e paciência e aos professores: Nely, Carlos Bispo e Josevan, pela disponibilidade e atenção prestada.

A Fabrício secretário do PPGEQ que sempre com sua paciência me ajudou no que se fez necessário. Enfim, a todo o PPGEQ.

Agradeço a todos que diretamente ou indiretamente me ajudaram: muito OBRIGADA.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menos se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Panose é um trissacarídeo constituído por uma molécula de maltose ligada a uma molécula de glicose por uma ligação α -1,6-glicosídeo. Este trissacarídeo tem potencial para ser utilizado em diversas áreas como: alimentos, bebidas, farmacêuticos e medicamentos devido a suas características como adoçante não cariogênico, uma vez que a flora oral não o fermenta, é também considerada prebiótica por estimular o crescimento de microrganismos, como lactobacilos e bifidobactérias, e por inibir o crescimento de microrganismos indesejados como *E. coli* e *Samonella*. Apesar de suas aplicações potenciais, esse carboidrato não é produzido em larga escala e ainda há poucos estudos e pesquisas. Aliadas às características do biorreator, a modelagem matemática surge como poderosa ferramenta para o estudo e entendimento do comportamento dos processos enzimáticos, permitindo a avaliação de mudanças, como alterações nos parâmetros operacionais, visando a otimização dos sistemas. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo desenvolver um modelo matemático de um biorreator CSTR associada ao modelo de desvio e zona morta para a produção via enzimática com dextrana-sacarase através de *Leuconostic mesenteroides* NRRL B-512F e simulação utilizando como ferramenta o software computacional Scilab. Os resultados obtidos mostraram que para uma melhor produção de panose faz-se necessário manter a concentração inicial da maltose de no mínimo de 400 mmol/L e a simulação do modelo proposto resultou em uma cinética enzimática com dados satisfatórios, pois através do modelo foi possível obter no final do processo uma concentração de panose de 128,36 mmol/L ($Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$) e 121,07mmol/L ($Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$) obtendo a maior conversão de 0,878%. Com os dados cinéticos foi realizado a modelagem o reator CSTR e foi comparado o impacto que as diferentes taxas de diluições tinham na simulação do processo, onde os resultados mostram que os efeitos da não idealidade afetaram a produção de dextrana e panose, em termos dos dois parâmetros α e β e das concentrações iniciais da maltose.

Palavras-chave: Panose; modelagem; simulação; biorreator CSTR; cinética enzimática.

ABSTRACT

Panose is a trisaccharide consisting of a maltose molecule linked to a glucose molecule by an α -1,6-glycoside bond. This trisaccharide has the potential to be used in several areas such as: food, beverages, pharmaceuticals and medicines due to its characteristics as a non-cariogenic sweetener, since the oral flora does not ferment it, it is also considered prebiotic for stimulating the growth of microorganisms, such as lactobacilli and bifidobacteria, and by inhibiting the growth of unwanted microorganisms such as E.coli and Salmonella. Despite its potential applications, this carbohydrate is not produced on a large scale and there are still few studies and research. Allied to the characteristics of the bioreactor, mathematical modeling emerges as a powerful tool for the study and understanding of the behavior of enzymatic processes, allowing the evaluation of changes, such as changes in operational parameters, aiming at optimizing systems. In this sense, this work aimed to develop a mathematical model of a CSTR bioreactor associated with the bypass model and dead zone for enzymatic production with dextran-sucrase through *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F and simulation using the computational software Scilab as a tool. The results obtained showed that for a better production of panose it is necessary to maintain the initial maltose concentration of at least 400 mmol/L and the simulation of the proposed model resulted in an enzymatic kinetics with satisfactory data, because through the model it was possible to obtain at the end of the process a panose concentration of 128.36 mmol/L ($Q_0=0.025\text{m}^3/\text{s}$) and 121.07mmol/L ($Q_0=0.05\text{m}^3/\text{s}$) obtaining the highest conversion of 0.878%. With the kinetic data, the CSTR reactor was modeled and the impact that the different dilution rates had on the process simulation was compared, where the results show that the effects of non-ideality affected the production of dextran and panose, in terms of both α and β parameters and initial maltose concentrations.

Keywords: Panose; modeling; simulation; CSTR bioreactor; enzymatic kinetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura aldeídos e cetona	21
Figura 2	Classificação dos carboidratos	21
Figura 3	Estrutura Glicose e Frutose	22
Figura 4	Estrutura química da sacarose	24
Figura 5	Estrutura química formação da maltose	25
Figura 6	Estrutura química lactose	26
Figura 7	Estrutura química da panose	27
Figura 8	Reação do aceptor maltose	28
Figura 9	Diagramas que mostram a atividade enzimática através do modelo do encaixe induzido.	30
Figura 10	Representação da reação global para a síntese de dextrana-sacarase	30
Figura 11	Reação da conversão de sacarose em dextrana	31
Figura 12	Mecanismo da rota bioquímica da dextrana-sacarase na presença de sacarose e aceptores ($i \geq 2$ e $0 \leq j \leq 2$).	32
Figura 13	Reação oligossacarídeo conforme o substrato utilizado.	33
Figura 14	Tipos de reatores	34
Figura 15	Esquema da metodologia utilizada nesse trabalho	42
Figura 16	Representação Biorreator com zona morta e by-passing	45
Figura 17	Modelo cinético da catalise da dextrana-sacarase	46
Figura 18	Layout do programa computacional Scilab	49
Figura 19	Curva cinética da produção de panose para $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$	51
Figura 20	Curva cinética da produção de panose para $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$	52
Figura 21	Curva cinética da produção de dextrana para $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$	53
Figura 22	Curva cinética da produção de dextrana para $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$	54
Figura 23	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$)	66
Figura 24	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$)	65

Figura 25	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$)	66
Figura 26	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$)	67
Figura 27	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$)	68
Figura 28	Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$)	69
Figura 29	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$)	70
Figura 30	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$)	71
Figura 31	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$)	72
Figura 32	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$)	73
Figura 33	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$)	74
Figura 34	Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$)	75
Figura 35	Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$)	76

- Figura 36 Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$) 77
- Figura 37 Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$) 78
- Figura 38 Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$) 79
- Figura 39 Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{mmol/L}$) 80
- Figura 40 Curvas cinética da produção de panose, frutose e dextrana para a concentração inicial constante da sacarose 100mmol/L para agitação 1000rpm e $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$. 55
- Figura 40 Curvas cinética da produção de panose, frutose e dextrana para a concentração inicial constante da sacarose 100mmol/L para agitação 1000rpm e $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$.
- Figura 42 Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ e concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{mmol/L}$) 81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Algumas Propriedades dos Oligossacarídeos	23
Tabela 2	Relação acceptor oligossacarídeo produzido	32
Tabela 3	Parâmetros cinéticos	48
Tabela 4	Condições para as simulações do Biorreator CSTR	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPGEQ	Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
CSTR	Reator contínuo de tanque agitado
PFR	Reator fluxo de pistão
IMOs	Isomalto-oligossacarídeos

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Fração do volume total do reator
β	Fração da vazão total que sofre desvio (by-passing)
E	Concentração de enzima (UI/L)
D_r	Diâmetro do Reator (m)
d_i	diâmetro do impelidor (m)
Q_0	vazão de entrada do reator (m^3/s)
Q_s	vazão de saída do reator (m^3/s)
V_r	volume do reator (L)
V_s	volume de saída do reator (L)
V_d	volume de desvio do reator (L)
T	Temperatura ($^{\circ}C$)
C_{S0}	Concentração inicial de sacarose (mmol/L)
C_{Sf}	Concentração final de sacarose (mmol/L)
C_{M0}	Concentração inicial de Maltose (mmol/L)
C_{Mf}	Concentração final Maltose (mmol/L)

SÚMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	20
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
3.1 CARBOIDRATOS	21
3.1.1 Monossacarídeos	22
3.1.2 Oligossacarídeos	22
3.1.2.1 Sacarose	24
3.1.2.2 Maltose	24
3.1.2.3 Lactose	25
3.1.3 Polissacarídeo	26
3.2 PANOSE	26
3.2.1 Definição	26
3.2.2 Aplicação da panose	27
3.2.3 Produção enzimática da panose	27
3.2.3.1 Enzima dextrana-sacarase	29
3.3. MODELOS CINÉTICOS	33
3.4 BIORREATORES	34
3.4.1 Reator CSTR	35
3.4.2 Reatores ideais	36
3.4.3 Reatores não ideais	37
3.5 MODELAGEM MATEMÁTICA	38
3.8 MÉTODO RUNGE KUTTA 4° ORDEM	40
3.7 SIMULAÇÃO	40
4 METODOLOGIA	42
4.1 Modelagem matemática do estudo	42
4.1.1 Balanço de massa	42
4.1.2 Balanço de massa substrato	43
4.1.3 Balanço de massa produto	44
4.2 MODELO CINÉTICO DO ESTUDO	46

4.3 PROGRAMAÇÃO E SIMULAÇÃO	48
4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
6 CONCLUSÕES	58
REFERENCIAS	59
APÊNDICES	63
APÊNDICE A – RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES DO ESTUDO VARIANDO AS CONCENTRAÇÕES INICIAIS DE SACAROSE E MALTOSE EM FUNÇÃO DO VOLUME TOTAL DO REATOR	63
APÊNDICE B – CALCULO DO RENDIMENTO E PRODUTIVIDADE PARA REATORES	82

1 INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, na busca por uma melhor qualidade de vida os consumidores procuram cada vez mais adquirir alimentos saudáveis e alimentos fisiologicamente funcionais.

A alimentação é um fator primordial para a manutenção de saúde, evitando e controlando várias doenças, com destaque das doenças crônicas não transmissíveis como: diabetes, hipertensão, neoplasias e insuficiência cardíaca.

Dentre os alimentos funcionais, os oligossacarídeos, especificamente os isomalto-oligossacarídeos (IMOs) vêm se destacando devido suas propriedades e participarem da constituição da fibra alimentar. São principalmente utilizados como prebióticos, podendo serem obtidos por síntese (química ou enzimática) ou pela despolimerização de polissacarídeos (física, química ou enzimática) através da reação do aceptor.

A panose é um carboidrato trissacarídeo, composto por três moléculas de glicose (ou ainda, uma molécula de maltose ligada a uma molécula de glicose), sendo considerada o segundo carboidrato mais doce, perdendo apenas para a sacarose, por isso vem despertado interesse comercial por contribuir para a saúde pelo fato de ser empregado como adoçante não cariogênico em alimentos e bebidas, bem como suplemento alimentar uma vez que este trissacarídeo estimula o desenvolvimento da flora intestinal (CHUNG; DAY, 2002) e devido seu grande potencial de aplicações destes nas áreas de alimentos, rações animais, farmacêuticos, cosméticos. Também como agentes imunomoduladores e prebióticos têm promovido a condução de novas pesquisas para viabilizar sua obtenção e elucidar suas propriedades biológicas e funcionais.

Uma das enzimas usada para a produção de panose é a dextrana-sacarase, essa pode ser produzida a partir do microrganismo *Leuconostoc mesenteroides* NRRL-B512F via processo fermentativo, onde ocorre a conversão da sacarose em dextrana (polissacarídeos) e em outros oligossacarídeos de sacarose. Por outro lado, uma série de reações secundárias pode acontecer quando no reacional, além da sacarose contém outro substrato estas reações são denominadas reação do aceptor e consistem basicamente na transferência da unidade glicosídica para a extremidade do aceptor ao invés da cadeia de dextrana.

A produção de dextrana via síntese enzimática tem vantagens em relação ao processo fermentativo: controle da massa molar; processo de purificação mais simples, maior rendimento e alta estabilidade da enzima. Apesar do custo relativamente elevado da enzima, o processo pode tornar-se viável e competir com via fermentativa. Portanto, há uma clara necessidade de

uma investigação sobre efeitos de mistura no desempenho do biorreator enzimático (RODRIGUES, 2005).

A utilização de um modelo matemático que descrevam a cinética do processo enzimático para a produção de panose possibilita o projeto de uma planta a partir da obtenção de condições ótimas de operação. Para a manutenção destas condições se faz necessária a escolha de uma estratégia de controle adequada. Isto pode ser adequadamente realizado pelo estudo prévio de modelagem da planta e simulação em computadores (ANDRIETTA; MAUGERI, 1994).

Através dos modelos matemáticos é possível otimizar as variáveis operacionais para controle do processo e também analisar o design do biorreator, sendo a simulação é uma ferramenta necessária para a orientação de tomada de decisão, análises e avaliações de sistemas de modo avaliar as soluções para a melhoria e desempenho de processos. Portanto, o foco desse estudo foi desenvolver um modelo matemático e realizar a simulação no software computacional Scilab do processo enzimático no biorreator CSTR para a produção de panose.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a modelagem e a simulação de um biorreator CSTR que promova a produção de panose via enzimática utilizando como ferramenta o software computacional Scilab.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1.1 Obter a modelagem para o modelo;

2.1.2 Definir as condições de operação do biorreator para a produção de panose;

2.2.3 Simular o modelo para os diferentes cenários variando parâmetros no processo de produção de panose;

2.2.4 Analisar as curvas obtidas nas simulações de produção de panose.

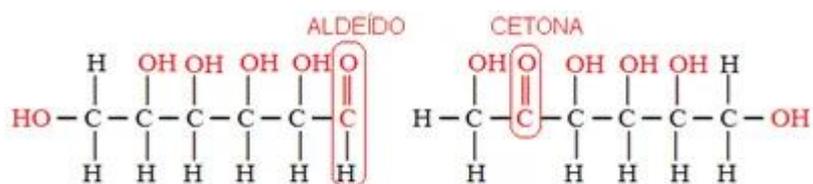
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CARBOIDRATOS

Os carboidratos são as biomoléculas mais abundantes na terra. Alguns deles, como o açúcar e o amido, são os principais elementos da dieta em muitas partes do mundo, e sua oxidação é a principal via de produção de energia na maioria das células não fotossintéticas.

Os carboidratos ou hidratos de carbono são também conhecidos como glicídios e açúcares, porém nem todo carboidrato é um açúcar. Eles possuem a função biológica de fornecer energia e podem ser quimicamente definidos como compostos que possuem vários átomos de carbono (três ou mais) ligados a grupos hidroxila (OH) e que possuem também as funções cetona ou aldeído conforme representado na Figura 1 (FOGAÇA, 2022).

Figura 1 - Estrutura aldeídos e cetona



Fonte: Fogaça (2022)

Os carboidratos são poli-hidroxi aldeídos ou poli-hidroxi cetonas, ou substâncias que geram estes compostos quando hidrolisadas. Muitos deles têm a fórmula empírica $(\text{CH}_2\text{O})_n$ e alguns também contêm nitrogênio, fósforo ou enxofre. Os carboidratos podem ser classificados em *oses*, que envolvem os monossacarídeos e em *osídeos*, que envolvem os oligossacarídeos e os polissacarídeos, sendo classificados conforme descrito na Figura 2.

Figura2 - Classificação dos carboidratos



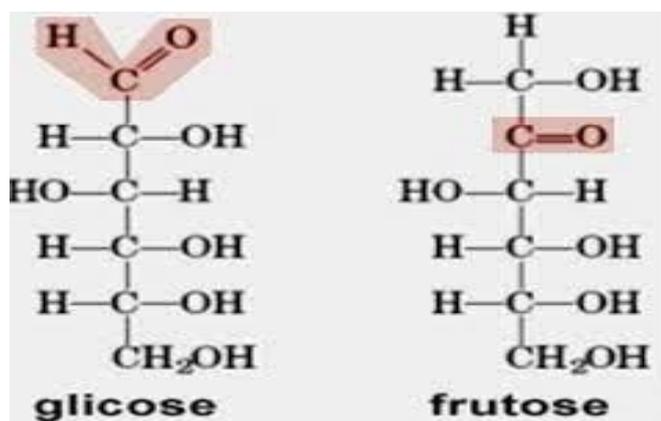
Fonte: Fogaça (2022)

Os carboidratos se classificam em três classes principais: monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos.

3.1.1 MONOSSACARÍDEOS

Segundo Fogaça (2022), os monossacarídeos ou açúcares simples são constituídos por uma única unidade poli-hidroxiketona ou poli-hidroxialdeído. O mais abundante é o de 6 carbonos D-glicose, também chamado dextrose. Eles não sofrem hidrólise, mas podem ocorrer reações entre monossacarídeos com a formação de um dissacarídeo ou de um polissacarídeo. Entre os principais monossacarídeos, temos a glicose e a frutose representados na Figura 3, onde suas cadeias carbônicas estão abertas, mas elas também podem se apresentar como cadeias fechadas.

Figura 3 - Estrutura glicose e frutose



Fonte: Fogaça (2022).

3.1.2 OLIGOSSACARÍDEOS

Consistem em cadeias curtas de unidades de monossacarídeos, ou resíduos, unidas por ligações características chamadas glicosídicas. Os mais abundantes são os dissacarídeos, com duas unidades de monossacarídeos e o mais conhecido é a sacarose, constituído por D-glicose e D-frutose. Os dissacarídeos (como maltose, lactose e sacarose) consistem em dois monossacarídeos unidos covalentemente por uma ligação O-glicosídica, a qual é formada

Alguns oligossacarídeos são encontrados na forma livre em frutas, vegetais, leite e mel, como os dissacarídeos lactose e sacarose; outros como a maltose e a celobiose são obtidos a partir de hidrólise química ou enzimática do amido e celulose, respectivamente (RODRIGUES, 2005).

Os oligossacarídeos são compostos importantes para as indústrias alimentícia e farmacêutica devido ao seu crescente uso como prebióticos e antioxidantes e para liberação de fármacos. Um tipo relevante de oligossacarídeos são os isomalto-oligossacarídeos (IMOs), sendo exemplos: isomaltose, panose, isomaltotriose entre outros. Enquanto as ligações α -(1→4) que constituem a espinha dorsal das moléculas de amido e glicogênio são facilmente digeridas por enzimas intestinais, as ligações α -(1→6), bem como as ligações α -(1→3) e α -(1→2), não são tão facilmente hidrolisados, uma das características que conferem a estes compostos o seu reconhecido estatuto de prebióticos (RODRIGUES, 2005).

A síntese enzimática tornou-se um procedimento preferido para a produção de oligossacarídeos em relação à síntese química alternativa ou à hidrólise de polissacarídeo, sendo a enzima utilizada a dextrana-sacarase.

A panose e isomaltose são os principais produtos da transglicosilação quando a maltose é usada como aceptor, e esses glicosídeos apresentam propriedades prebióticas, podendo serem usados como adoçantes carminogênicos de baixa caloria. Portanto, o desenvolvimento de procedimentos eficientes para síntese em larga escala desse isomalto-oligossacarídeo é um objetivo biotecnológico significativo. Esses são reconhecidos como ingredientes importantes para manter e melhorar a saúde.

Nas últimas três décadas, o mercado esteve profundamente enraizado na Ásia, entretanto trata-se de um segmento da indústria de alimentos em rápido crescimento nos Estados Unidos e na Europa (GOFFIN *et al.*, 2011). A demanda mundial de alimentos prebióticos no ano de 2012 foi estimada em torno de 167.000 toneladas, movimentando cerca de 390 milhões de euros (SIRÓ *et al.*, 2008; RODRIGUES, 2005). Esse crescimento é devido às suas propriedades, algumas descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Algumas propriedades dos oligossacarídeos

Propriedades Físicas	Propriedades Fisiológicas
Doçura, amargor, higroscopicidade, atividade de água, agente espessante para bebidas, estabilização das substâncias ativas (proteína, sabor, cor, etc.), etc.	Alimento não digerível, anti cariogênico, ação bacteriostática, proliferação seletiva de <i>Bifidobacterium</i> , melhoria de níveis de colesterol sérico e glicemia, etc.

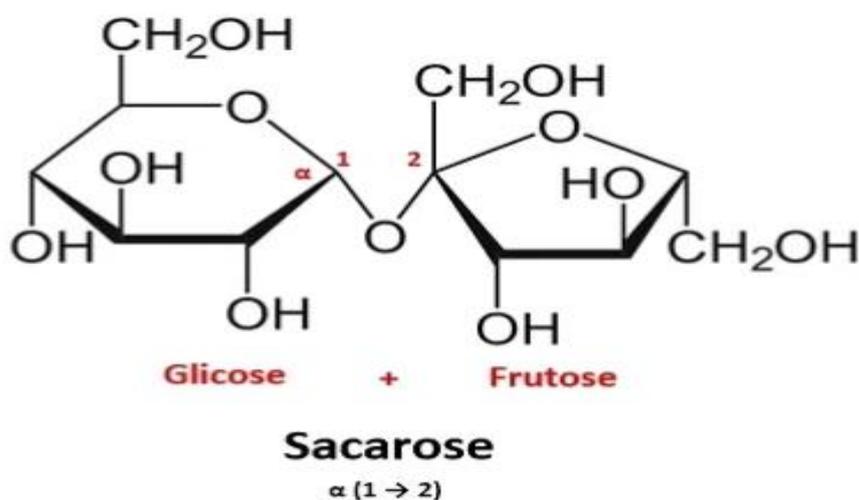
Fonte Fogaça (2002)

Dentre os dissacarídeos mais conhecidos se destacam: sacarose, maltose e lactose. Ao serem consumidos, o organismo quebra a ligação glicosídica dos dissacarídeos e libera seus monômeros, que são absorvidos e utilizados como fonte de energia.

3.1.2.1 SACAROSE

Este dissacarídeo com sabor doce característico é um açúcar comum em vegetais, extraído principalmente da cana de açúcar e beterraba para fazer o açúcar de mesa. Sua estrutura química está representada na Figura 4.

Figura 4 - Estrutura química da sacarose



Fonte Nelson, 2014

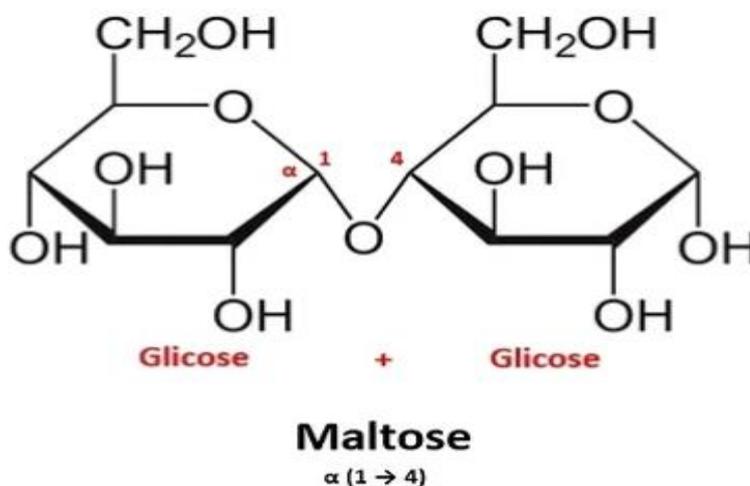
Na Figura 4 observa-se que a ação da enzima invertase faz com que sejam liberados os monossacarídeos glicose e frutose por meio da hidrólise, e pelo fato desse ser rapidamente absorvido pelo organismo trata-se de uma fonte de energia imediata.

3.1.2.2 MALTOSE

A maltose é formada por duas moléculas de glicídios simples (glicose) unidas por uma ligação acetal. Essa ligação específica é denominada ligação α -1,4-glicosídica e não o encontramos de forma livre na natureza: ele é obtido por processos de digestão, quando as enzimas que quebram as longas moléculas de amido em pedaços de maltose e, posteriormente,

em duas moléculas de glicose conforme a Figura 5, facilitando sua absorção pelo corpo. Este é doce, porém menos que a sacarose.

Figura 5 - Estrutura química formação da maltose



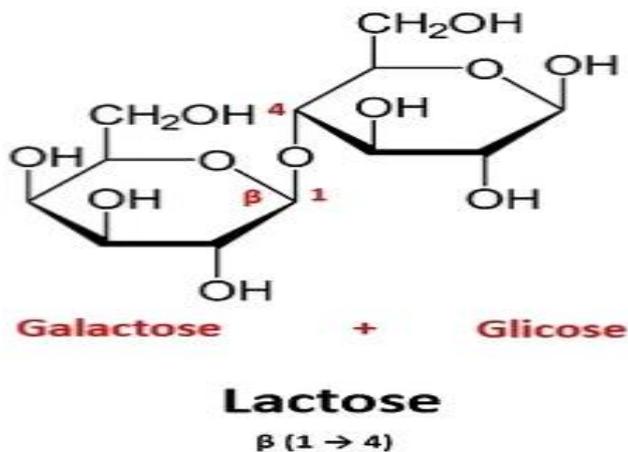
Fonte Nelson, 2014

A maltose é um açúcar redutor, pois em sua estrutura existe uma extremidade redutora e, portanto, pode ser oxidado. Estes compostos possuem um grupo aldeído ou cetona livre.

3.1.2.3 LACTOSE

É um açúcar redutor encontrada no leite e em seus derivados. A Figura 6 apresenta a estrutura química. Sua porcentagem no leite humano pode variar entre 5-8% e no leite de vaca em 4-5%.

Figura 6 - Estrutura química lactose



Fonte: Nelson, 2014

3.1.3 POLISSACARÍDEOS

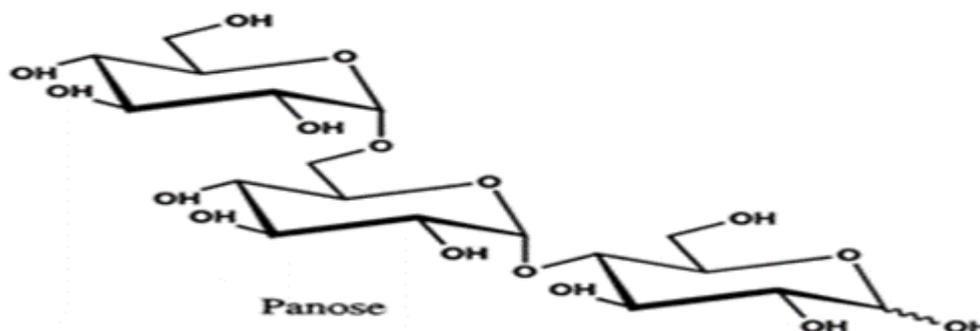
Os polissacarídeos são macromoléculas de ocorrência natural e exercem funções bastante variadas em todos os organismos vivos. Estes biopolímeros são formados pela condensação de monossacarídeos ou seus derivados oligossacarídeos, que se unem através de ligações glicosídicas originando compostos de alta massa molecular e propriedades físico-químicas e biológicas peculiares (GIESE *et al.*, 2011). Esses contêm mais de 20 unidades de monossacarídeos e dentre os mais conhecidos são: o amido (reserva energética das plantas), glicogênio (reserva energética de animais) e a celulose (componente da parede celular dos vegetais).

3.2 PANOSE

3.2.1 DEFINIÇÃO

A panose é um trissacarídeo composto por uma unidade de maltose e uma unidade de glicose unidas por uma ligação α -1,6-glicosídica obtida a partir de sacarose e maltose pela reação do aceptor de dextrana-sacarase (RODRIGUES *et al.*, 2005; HEINCKE *et al.*, 1999). Sua estrutura química pode ser observada na Figura 7.

Figura 7 - Estrutura química da panose



Fonte: Heincke *et al.* (1999).

3.2.2 APLICAÇÃO DA PANOSE

A Panose pode ser aplicada na indústria de alimentos como adoçante não cariogênico e outra aplicação da panose é para produtos de uso oral, incluindo alimentos e bebidas, uma vez que esse carboidrato não é fermentável por microrganismos bucais e confere a eles uma propriedade substancial baixa ou anticancerígena, além de ser usada com antioxidante alimentar e estabilizante de bebidas (HIGASHIMURA *et al.*, 2000). Além disso, há estudos indicando que os isomalto oligossacarídeos, inclusive a panose, estão recebendo maior atenção como aditivos alimentares porque se acredita que ajudam a prevenir a cárie dentária e melhoram a microflora intestinal humana, atuando como um fator de crescimento para as bifidobactérias que são benéficas ao trato digestivo sem estimular o desenvolvimento de microrganismos daninhos (HIGASHIMURA *et al.*, 2000).

Apesar dos potenciais aplicações da panose esse não é produzido em altas escalas, e são poucos trabalhos publicados em relação a esse, mas de modo geral os isomalto oligossacarídeos têm atraído bastante interesse e a sua popularidade tem crescido fortemente, e, como consequência, diversos estudos no âmbito acadêmico e industrial têm sido realizados de forma a ampliar sua disponibilidade no mercado e identificar novos produtos contendo esses (RODRIGUES, 2005).

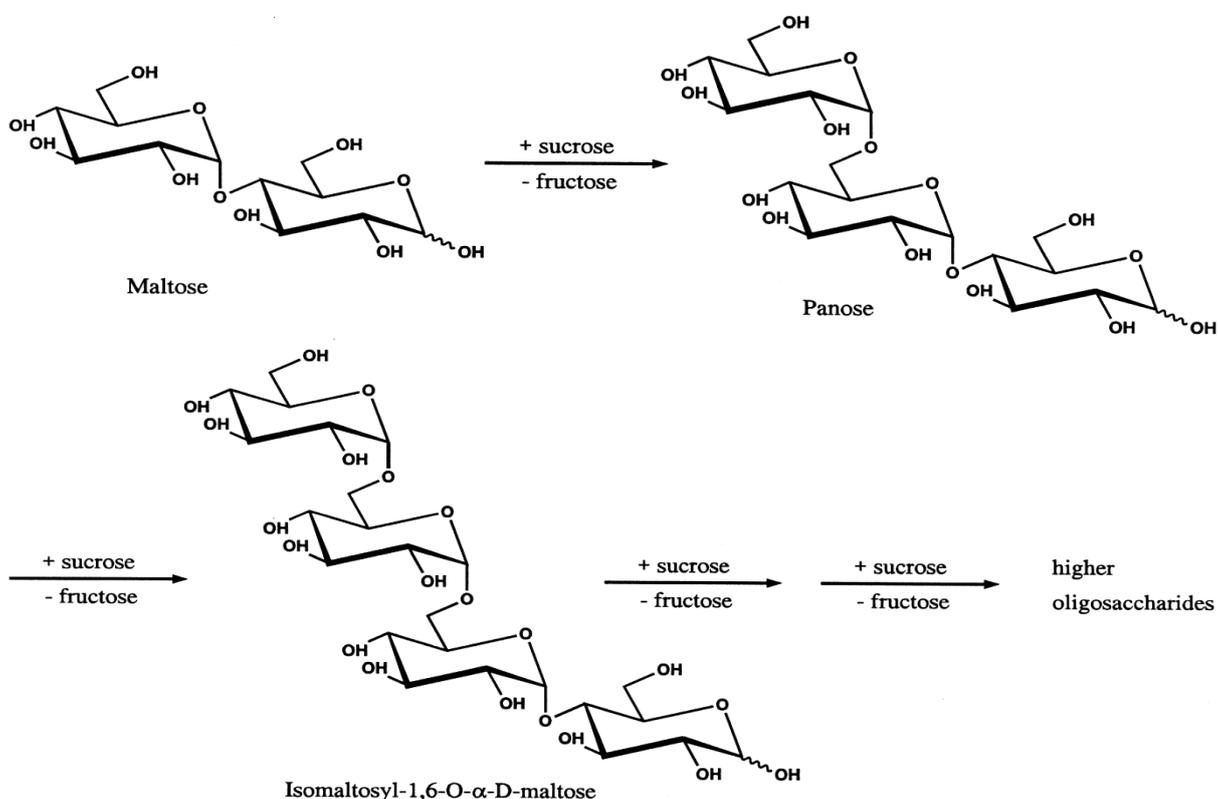
3.2.3 PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE PANOSE

A panose é obtida através da transglicosilação quando a maltose é usada como substrato. Neste processo, a estrutura é formada a partir da polimerização das unidades de glicose obtidas

através de uma reação enzimática de transglicosilação de outro polissacarídeo (amilose, sacarose e amilopectinas) utilizando-se a enzima dextrana-sacarase, uma glicosiltransferase extracelular, produzida por várias espécies de *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. A dextrana-sacarase é também responsável pela síntese de oligossacarídeos prebióticos, através do mecanismo da reação do acceptor (HONORATO *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2012; RABELO, FONTES e RODRIGUES, 2009; ROBYT, YOON e MUKERJEA, 2008). A elevada estabilidade da enzima em condições ótimas de síntese permite sua aplicação em escala industrial.

Quando além de sacarose, um acceptor (maltose, frutose, glicose) é também utilizado como segundo substrato, parte das unidades de glicose provenientes da quebra da sacarose promovida pela enzima é desviada da cadeia de dextrana sendo incorporadas neste segundo substrato, formando oligossacarídeos (RABELO; FONTES; RODRIGUES, 2009; VERGARA *et al.*; 2010). Esta reação secundária é denominada reação do acceptor representada na Figura 8, e a panose é o principal produto acceptor formado quando a maltose é usada como acceptor e uma alta relação maltose/sacarose resulta em altos rendimentos de panose (HEINCKE *et al.*, 1999; RODRIGUES *et al.*, 2005).

Figura 8- Reação do acceptor maltose



Fonte: Heincke *et al.* (1999).

Na Figura 8, o primeiro produto formado da reação do acceptor maltose é o trissacarídeo panose e depois outros produtos aceitadores primários. A panose atua como um acceptor na catálise de dextrana-sacarase, dando principalmente o tetrassacarídeo isomaltosil 1,6-O- α -D-maltose, que novamente tem propriedades aceitadoras, e assim por diante (HEINCKER, *et al*, 1999).

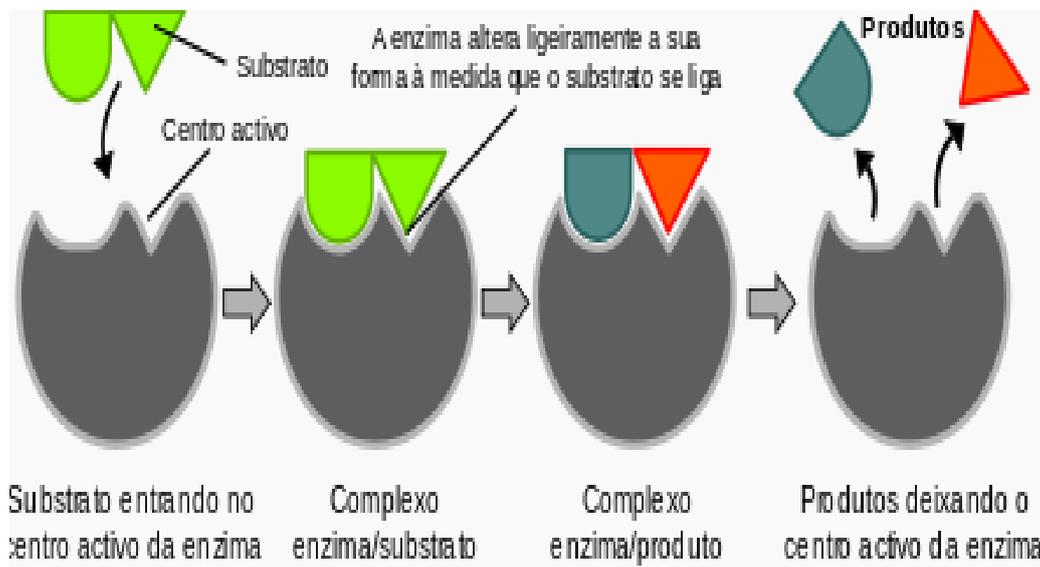
O *Leuconostoc mesenteroides* é uma bactéria aeróbia facultativa e utiliza a sacarose como fonte de carbono, primeiramente produz a enzima dextrana-sacarase, a qual é responsável pela conversão de sacarose. O *Leuconostoc mesenteroides* B-512 F é uma bactéria industrialmente utilizada para produção de dextrana e dextrana-sacarase (VERGARA *et al.*, 2010).

3.2.3.1 ENZIMA DEXTRANA-SACARASE

DANIEL KOSHLAND (1998) sugeriu uma modificação ao modelo de chave-fechadura: uma vez que as enzimas exibem estruturas flexíveis, o sítio ativo altera a sua forma de maneira continuada através de interações com o substrato, enquanto esse mesmo substrato vai interagindo com a enzima e, como resultado, o substrato não se liga simplesmente a um sítio ativo que é rígido (FISCHER E., 1894).

As cadeias laterais dos aminoácidos que formam o sítio ativo sofrem uma reorientação de maneira que as suas posições potenciem a ação catalítica da enzima conhecido como modelo de encaixe induzido representada na Figura 9. Em alguns casos, como nas glicosídeas, a molécula de substrato também sofre alterações de conformação à medida que vai se aproximando do sítio ativo (KOSHLAND D. E., 1958). O sítio ativo continua a sofrer modificações até que o substrato esteja completamente ligado e é neste momento em que a conformação final e a carga são determinadas.

Figura 9 - Diagramas que mostram a atividade enzimática através do modelo do encaixe induzido.



Fonte: Fischer (1894)

HEINCKE *et al.* (1999) estudaram a influência da adição de maltose na síntese enzimática de panose a partir da sacarose com a enzima dextrana-sacarase e estabeleceram uma rota bioquímica que ilustra a inibição, provocada pela introdução deste dissacarídeo no meio reacional, o qual em altas concentrações potencializa a síntese de panose em detrimento da síntese de dextrana.

Nesta reação, a introdução de outros carboidratos (aceptores) desvia a rota de síntese da enzima, levando à formação de oligossacarídeos em detrimento à síntese de dextrana (RABELO, FONTES e RODRIGUES, 2009; ROBYT, YOON e MUKERJEA, 2008; VERGARA *et al.*; 2010), conforme a Figura 10.

Figura 10 - Representação da reação global para a síntese de dextrana-sacarase.



Onde, E:Enzima, G: Glicose, S:Sacarose e F:Frutose.

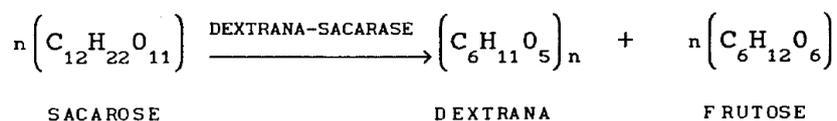
Fonte: Rodrigues (2005)

Lee *et al* (2008) demonstraram que a reação do aceptor da enzima dextrana-sacarase apresenta uma grande vantagem na produção de isomalto-oligossacarídeos, por possibilitar um controle no tamanho da cadeia dos oligossacarídeos formados, através do equilíbrio entre as

concentrações de sacarose e maltose (acceptor). De acordo com a reação do acceptor, durante a reação enzimática são formados oligossacarídeos com graus de polimerização entre 2 e 10, que são considerados carboidratos prebióticos (CHUNG e DAY, 2004; RABELO, FONTES e RODRIGUES, 2009)

De todas as reações possíveis, a taxa máxima de reação global ocorre a altas concentrações iniciais de sacarose com o aumento da concentração inicial de acceptor, inclusive a de formação de dextrana, se tornam importantes com o aumento da Razão entre a concentração de substrato e de acceptor (sacarose/maltose). A dextrana-sacarase é a responsável pela conversão de sacarose em dextrana de acordo com a reação descrita na Figura 11.

Figura 11 - Reação da conversão de sacarose em dextrana



Fonte: Rodrigues (2005)

De acordo com o mecanismo de inserção na presença de aceptores, proposto por Robyt *et al* (2008), a terminação da cadeia de dextrana ocorre devido ao ataque nucleofílico do acceptor ao complexo dextrana-enzima. Segundo este mecanismo, o acceptor é inserido na extremidade redutora da cadeia, cessando o seu crescimento e permitindo que o sítio ativo da enzima seja liberado para o início de uma nova cadeia. Entretanto, um estudo realizado por Rodrigues (2005) baseado na existência de um sítio intermediário para o acceptor, verificada por Kitaoka Robyt (1999), mostrou que o acceptor se liga a este sítio e então as unidades glicosídicas da sacarose são desviadas da cadeia de dextrana e utilizadas na formação dos oligossacarídeos.

A partir desta observação, levantou-se a hipótese de que a síntese de oligossacarídeos e de dextrana são paralelas e independentes e que o acceptor não é terminador de cadeia dextrana. Portanto, seria possível realizar a síntese de oligossacarídeos considerando o alongamento da cadeia dos mesmos através da alimentação continuada de substrato (maltose e sacarose) ao biorreator. Na Tabela 2 observa-se a relação do acceptor para a produção do oligossacarídeo.

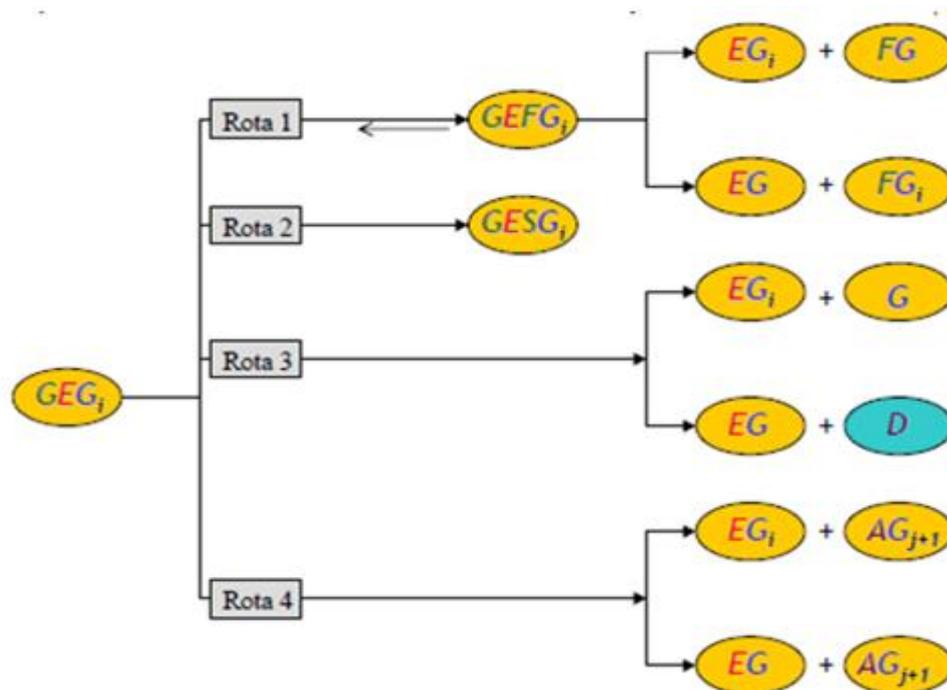
Tabela 2 - Relação acceptor oligossacarídeo produzido

Aceptor	Oligossacarídeo
Glicose	Isomaltose
Frutose	Leucrose
Maltose	Panose

Fonte: Rodrigues (2005)

Um esquema da síntese de oligossacarídeos a partir da reação do acceptor com a enzima dextrana-sacarase pode ser visualizado na Figura 12 que apresenta as possíveis rotas que podem ser seguidas após a formação do complexo enzima-glicose e início do crescimento da cadeia de dextrana através do mecanismo de inserção.

Figura 12 - Mecanismo da rota bioquímica da dextrana-sacarose na presença de sacarose e aceptores ($i \geq 2$ e $0 \leq j \leq 2$).



Onde, EG_i = complexo enzima cadeia crescente de dextrana; A = acceptor, G = glicose, S = sacarose, F = frutose, AG_{j+i} = produto do acceptor contendo $j+i$ unidades de glicose (oligossacarídeo resultante da reação do acceptor).

Fonte: Rodrigues (2005)

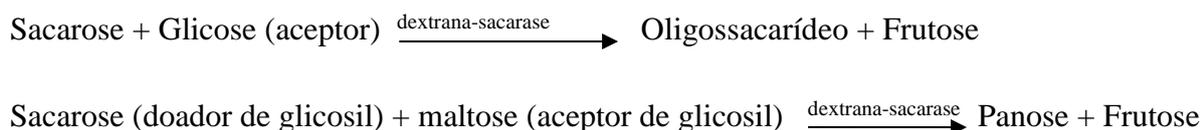
Na Figura 12, observa-se que na *Rota 1*, o crescimento da cadeia é interrompido pela ação da frutose como acceptor. Ainda de acordo com essa rota, pode haver a liberação da cadeia e a formação de um novo complexo enzima-glicose, que dá início ao crescimento de uma nova

cadeia de dextrana. A *Rota 2* indica a terminação da cadeia pela ação da sacarose como acceptor. Já a *Rota 3* apresenta o curso normal da formação de dextrana. A *Rota 4* apresenta a reação do acceptor (maltose).

A reação do acceptor da dextrana-sacarase tem uma vantagem potencial no processo de produção de isomalto-oligossacarídeo devido a sua capacidade de controlar o comprimento da cadeia de oligossacarídeos através de um equilíbrio das concentrações do doador (sacarose) e acceptor (maltose) (LEE *et al.*, 2008).

No mecanismo acceptor da dextrana-sacarase esquema na Figura 13, a sacarose é usada como substrato, onde o grupo glicosil é transferido por transglicosilação e o acceptor e a frutose são formados como produtos. A dextrana é formada em maior ou menor quantidade dependendo do acceptor e das condições de reação (DEMUTH, 2002).

Figura 13 - Reação oligossacarídeo conforme o substrato utilizado.



Fonte: Demuth (2002)

3.3. MODELOS CINÉTICOS

Modelo cinético é definido como um conjunto de relações, comumente usadas na forma de equações, entre as variáveis de interesse cinético no sistema a ser estudado. A importância da estimação de parâmetros cria a necessidade de formular modelos que permitam explicitar a extensão e percepção dos conhecimentos, explicar fenômenos e prever comportamentos, assim permitindo-se o homem compreender o ambiente que o cerca (SANTO, 2001).

O uso de modelos matemáticos que descrevam a cinética do processo enzimático possibilita o projeto de uma planta a partir da obtenção de condições ótimas de operação. Para a manutenção destas condições se faz necessária a escolha de uma estratégia de controle adequada. Isto pode ser adequadamente realizado pelo estudo prévio de modelagem da planta e simulação em computadores (ANDRIETTA e MAUGERI, 1994).

3.4. BIORREATORES

SCHMIDELL *et al.* (2001). denominam biorreatores os reatores químicos, ou ainda reatores biológicos, que correspondem a um volume onde decorre uma série de reações bioquímicas catalisadas por biocatalisadores. Esses biocatalisadores podem ser enzimas ou células vivas.

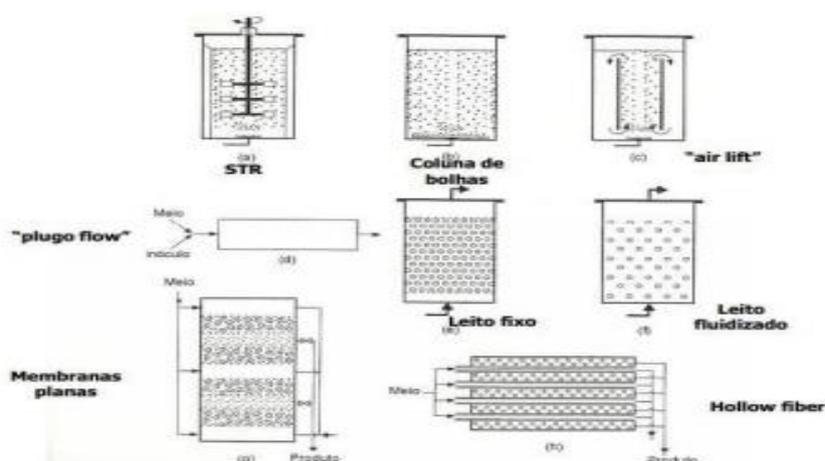
Esses são equipamentos de processo onde se efetua a conversão do substrato em produtos, em condições controladas, e a forma de operação pode ser contínua ou em batelada.

Na operação contínua, a enzima fica retida no interior do reator, o qual é continuamente alimentado com uma solução contendo substrato para obter uma corrente de saída contendo o produto livre do catalisador.

Na operação em batelada geralmente são utilizadas enzimas solúveis no interior de tanques agitados, o qual se deixa a reação prosseguir até alcançar a conversão desejada de substrato, esvaziando se em seguida o tanque para posterior tratamento dos produtos obtidos.

Em um reator é observado comumente os fenômenos de transformação de momento, massa e calor Fogler (2012). A partir da compreensão básica desses fenômenos é possível efetuar a modelagem matemática de um reator, desde que se tenha conhecimento da cinética da reação e possua todos os controles que permitam dar condições adequadas a formação de produto e consumo de substrato. Existem diversos tipos de biorreatores, a Figura 14 destaca os mais utilizados industrialmente.

Figura 14 - Tipos de Reactores



Onde, (a) tanque agitado (b) coluna de bolhas (c) airlift (d) fluxo pistonado (e) leito fixo com células immobilizadas (f) leito fluidizados com células (g) membrana plana (h) fibra oca.

Fonte: Pradella, 2001.

Nesse estudo vamos abordar o tipo de reator CSTR bastante utilizado para produção via enzimática na indústria.

3.4.1 REATOR CSTR

O Reator agitado de mistura perfeita também é conhecido por Reator de Retromistura ou Reator de Mistura Completa (CSTR – *continuous-stirred tank reactor* ou CFSTR – *constant flow stirred tank reactor*) e bastante utilizado em processos industriais operado continuamente. Pelo fato desse reator ser considerado como mistura perfeita, cada variável é a mesma em cada ponto dentro do reator, não sendo dependentes da posição ou do tempo. Desse modo, a temperatura e a concentração ou velocidade de reação são modeladas como idênticas em todo o reator, inclusive na saída (FOGLER, 2012).

Esse modelo de reator caracteriza-se por conter uma entrada e uma saída, de forma a operar continuamente, sendo apropriado para reações em fase líquida, pois apresentam pás de agitação ou impelidor e chicanas, para melhor mistura dos seus componentes. Normalmente, considera-se mistura perfeita, assim as composições no interior e na saída do reator são iguais. Dessa maneira, o reator CSTR é considerado uma ferramenta valiosa para o processamento contínuo de produtos e funciona considerando propriedades uniformes (FOGLER, 2012).

Possui vantagens de controle, pois pode controlar a temperatura da reação pela regulagem da vazão de alimentação e, ainda, é capaz de minimizar as reações paralelas indesejáveis através do uso de correntes com concentrações baixas de reagente limitante. Ao contrário de um reator de fluxo em pistão (PFR), o reator contínuo de tanque agitado (CSTR) assume uma mistura ideal e esses são usados mais frequentemente em processamento industrial, especialmente nas reações de fluxo de fase líquida homogênea que em grande parte dos casos a intensa agitação é necessária à reação. No entanto, em comparação aos outros reatores que operam em sistema contínuo, apresenta a menor conversão de reagente por volume. Por isso, ele pode ser usado sozinho, ou pode ser ligado em série para melhorar o rendimento do processo.

Os reatores CSTR têm uma grande aplicação como equipamentos para pesquisa e desenvolvimento de estudos cinéticos. Certas situações experimentais podem ocorrer muito rapidamente em processos operados em modo batelada ou semi-batelada enquanto que em um reator tipo CSTR, tais condições podem ser alcançadas e medidas em regime permanente.

O balanço material para o biorreator CSTR segue pela equação abaixo.

$$F_{A0} - F_A + \int r_A dV = dN_A/dt \quad (\text{Eq.1})$$

Onde, F é o fluxo mássico da espécie A, t é o tempo, N é dado em massa, V é o volume, r é a velocidade de reação da espécie A.

Considerando que o CSTR seja operado em estado estacionário

$$dN_A/dt = 0 \quad (\text{Eq.2})$$

Consequentemente não haverá variações espaciais na velocidade de reação, sendo assim temos a equação de projeto para um CSTR:

$$V = F_{A0} - F_A / -r_A \quad (\text{Eq.3})$$

Onde, V é o volume do reator requerido para reduzir a vazão mássica da espécie A que entra, de F_{A0} para a vazão mássica de saída F_A , quando a espécie A que entra e está desaparecendo a uma velocidade $(-r_A)$.

A vazão molar F_A é dada por,

$$F_A = C \cdot U \quad (\text{Eq.4})$$

Substituindo F_A em termos de F_{A0} e X, temos:

$F_A = F_{A0} - F_{A0} \cdot X$, substituindo F_A na eq. de projeto CSTR (eq.3) tem se:

$$V = F_{A0} - (F_{A0} - F_{A0} \cdot X) / (-r_A) \quad (\text{Eq.5})$$

Simplificando vemos que o volume do CSTR para atingir uma conversão (X) é

$$V = F_{A0} \cdot X / (-r_A) \text{ saída} \quad (\text{Eq.6})$$

3.4.2 REATORES IDEAIS

Existem várias configurações de reatores que operam de forma contínua, sendo consideradas condições ideais os reatores de operação contínuos. Algumas características dos reatores ideais são:

- Regime de fluxo ideal: fluxo pistonados ou mistura perfeita e as condições de não idealidade seriam a existência de zonas mortas ou misturas imperfeitas e a ocorrência de dispersão axial e radial;
- Operação isotérmica: variação de temperaturas devido à ausência de controle seriam as condições de não idealidade;
- Manutenção da atividade catalítica durante a operação do reator: inativação térmica do catalisador acarretaria uma operação de não idealidade;
- Ausência de restrições difusionais, no caso de enzimas imobilizadas.

Em um reator ideal, empistonado ou em batelada, todas as porções do material no reator têm o mesmo tempo de residência. Entretanto no caso de um CSTR, ocorre que algumas porções que entram no reator o deixam imediatamente porque o material está sendo retirado continuamente do reator, enquanto outras permanecem no reator por longos períodos, pois nem todo o material é removido de uma só vez. Contudo, parte sai do reator após permanecer um período de tempo em torno do tempo de residência médio. De maneira geral, em qualquer tipo de reator a distribuição de tempos de residência é uma das mais importantes caracterizações do reator, pois pode afetar significativamente seu desempenho (FOGLER, 2012).

Em reatores ideais, todas as moléculas permanecem no interior do reator exatamente o mesmo tempo (Tempo de Residência). Entretanto nos reatores reais as moléculas permanecem por tempos diferentes.

3.4.3 REATORES NÃO IDEAIS

Muitas vezes, a operação prática no reator industrial não reflete o resultado previsto no projeto. Isto se deve às hipóteses de idealidade consideradas no projeto, tais como mistura perfeita, ausência de canais preferenciais, dentre outras. Este fenômeno se refere a porções de fluido que percorreram um trajeto muito pequeno em relação ao volume do reator, resultando em baixo tempo de residência e, conseqüentemente, baixa conversão. Além disso, se o CSTR não tiver uma agitação adequada, podem se formar zonas com fluido estagnado, denominadas zonas mortas. Esses desvios de idealidade no sistema são conhecidos como reatores não ideais.

É comum nestes sistemas a aproximação das equações dos reatores reais pelas equações dos reatores ideais, diminuindo consideravelmente o número de variáveis que influenciam no processo, simplificando as equações (LEVENSPIEL, 2000).

Os fatores como geometria do reator, regiões estagnadas ou desvio do reagente, que entra e sai do reator sem se misturar com o material contido no interior desse, corrompem a característica de mistura perfeita do fluido reacional. Logo, conhecendo-se as frações de fluido referentes a cada tempo de residência é possível estimar quanto o sistema se distância da idealidade.

De acordo DEMUTH *et al.* (2002) uma boa mistura promove a melhoria da transferência de massa, calor, e o melhor contato enzima substrato, mantendo a uniformidade de outros fatores importantes para reação e assegura o uso efetivo de todo o volume do reator, impedindo estratificação. Por outro lado, uma mistura incompleta põe em perigo a eficiência do processo enzimático e, por conseguinte, provoca a instabilidade na produção do produto.

Devido à complexidade inerente de processos bioquímicos, além da engenharia biorreator envolvido, é difícil desenvolver modelos matemáticos que refletem realidade.

3.5 MODELAGEM MATEMÁTICA

O interesse industrial em técnicas e pacotes computacionais para a modelagem e simulação de processos tem crescido muito sendo influenciado por vários fatores, tais como os fatores econômicos e a necessidade de uma melhor produção química, incluindo análises de segurança e risco, redução da concentração de emissões químicas e reprodutibilidade de produtos químicos de alta qualidade. Entretanto, estas ferramentas ainda não estão sendo muito usadas em processos industriais, principalmente pela complexidade envolvida na análise de modelos de processos associada à falta de treinamento dos engenheiros (FRANCO, 2020).

À medida que um processo se torna mais complexo, haverá uma maior necessidade de técnicas de análise dos problemas associados com seu projeto e operação. Análises modernas de problemas de processos envolvem alguma forma de modelagem matemática e isto deveria atrair engenheiros químicos em favor da competitividade das plantas comerciais.

Naturalmente, existem vários modelos matemáticos para o mesmo sistema, cada um ajustado para resolver um problema particular associado ao sistema, onde o grau de detalhe requerido depende do problema a ser resolvido e da quantidade de dados disponíveis. Quanto mais rigorosa for a descrição de um processo químico, o conjunto de equações resultantes será maior e mais difícil de tratar. Embora elas possam ser resolvidas, é aconselhável ao analista usar julgamentos de engenharia para reduzir as equações para um conjunto menos complexo que, para propósitos práticos, resultará em soluções dentro da precisão dos dados proporcionados.

Algumas formas de classificar os métodos numéricos para a solução de modelos matemáticos são:

- Baseada na forma de expressar as variáveis: explícitos, semi-implícitos e implícito;
- Baseada na forma de resolução: Direto ou iterativo;
- Baseada no fluxo de informações: modular sequencial, modular simultâneo e simultâneo.

É usualmente muito mais barato, seguro e rápido conduzir os tipos de estudos listados acima sobre um modelo matemático do que realizar testes experimentais na unidade em operação. Isto não quer dizer que não se necessita de testes na planta, pois eles são partes vitais na confirmação da validade do modelo.

Aguirre (2004) define a modelagem e simulação matemática como sendo a ciência que desenvolve e programa modelos matemáticos para prever comportamentos reais.

De acordo com Dobre e Marcano (2007), 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.

Existem diversos modelos utilizados para descrever o comportamento, 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 devendo 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 (PINTO e 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 e 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).

A modelagem dos reatores é obtida através das leis básicas de conservação de massa e energia, consistindo primeiramente em determinar as variáveis que influenciam o funcionamento dos reatores. Estas variáveis podem ser: o volume inicial, as vazões de entrada e saída, a equação de taxa, a constante cinética, entre outras. Assim, uma forma de analisar um reator para obter resultados rápidos e seguros sem a realização de testes em uma planta real consiste na utilização da modelagem e simulação.

Nesse estudo o tipo de reator utilizado para o modelo foi o CSTR através do processo enzimático de forma contínua. Sendo possível montar o sistema de equações diferenciais através do balanço de massa, cuja cinética obedeceu ao modelo cinético de HEINCKER (1999). Após a resolução numérica do modelo é obtido o comportamento das variáveis do processo como concentração do substrato, produto no decorrer do processo enzimático.

3.6 MÉTODO DE RUNGE-KUTTA DE 4ª ORDEM

Os métodos de Runge-Kutta (RK) são os métodos numéricos mais utilizados para calcular a solução aproximada de um PVI pelo fato de serem simples e apresentarem bom desempenho. Os métodos de RK alcançam a acurácia existente nos métodos por série de Taylor eliminando seu maior defeito que é o cálculo de derivadas de ordem superior. De forma geral esses métodos são escritos conforme a Eq. 7 (RUGGIERRO, E LOPES, 1996; GILAT, E SUBRAMANIAM, 2008; CHAPRA, 2013; ARENALES E DAREZZO, 2015).

$$y_{i+1} = y_i + \phi h \quad (\text{Eq. 7})$$

Onde, y_{i+1} – variável dependente calculada no instante $i+1$, y_i – variável dependente no instante i , ϕ - inclinação da reta aproximada

Existem diferentes tipos de métodos de RK e estes são classificados de acordo com o número de pontos usados em um subintervalo para determinar o valor da inclinação ϕ da Eq. 7. O método de Runge-Kutta de segunda ordem utiliza dois pontos para calcular a inclinação, o de terceira ordem três utilizam pontos e o de n-esima ordem utilizam n pontos.

Os métodos de RK são geralmente precisos e a precisão aumenta à medida que a ordem do método aumenta e o mais utilizado é o de quarta ordem. Sua forma geral é dada pelas Eq. 8 (GILAT, E SUBRAMANIAM, 2008; CHAPRA, 2013).

$$y_{i+1} = y_i + h (k_{1(i)} + 2k_{2(i)} + 2k_{3(i)} + k_{4(i)}) \quad (\text{Eq. 8})$$

Onde os coeficientes de Runge-Kutta são descritos como:

$$k_{1(i)} = f(x_i, y_i) \quad (\text{Eq. 9})$$

$$k_{2(i)} = f(x_i + 1/2h, y_i + 1/2k_{1(i)} \cdot h) \quad (\text{Eq. 10})$$

$$k_{3(i)} = f(x_i + 1/2h, y_i + 1/2 k_{2(i)} \cdot h) \quad (\text{Eq. 11})$$

$$k_{4(i)} = f(x_i + h, y_i + k_{3(i)} \cdot h) \quad (\text{Eq. 12})$$

Onde, y_{i+1} – variável dependente calculada no instante $i+1$, y_i – variável dependente no instante i , $k_j=1, \dots, 4$ (i) – constantes de Runge-Kutta calculadas no instante i , h – passo de integração.

3.7 SIMULAÇÃO

O tempo e o custo do projeto de um novo equipamento podem ser sensivelmente reduzidos com o uso da simulação numérica. As ferramentas computacionais vêm se tornando cada vez mais robustas e capazes de resolver modelos matemáticos complexos, que descrevem, de forma precisa, a física do problema em estudo, permitindo que se chegue praticamente ao

projeto final do equipamento, deixando-se para o laboratório os experimentos finais de ajuste e teste do equipamento (MALISKA, 2004).

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

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 resultar em um produto com melhor qualidade, menos esforços e custos.

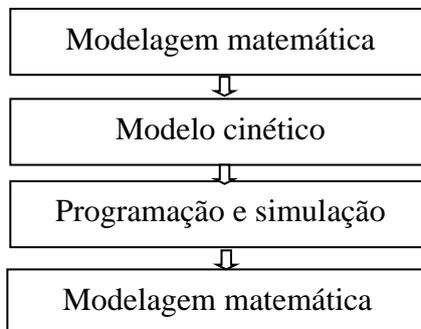
A simulação é aplicada em diversos processos (químicos e biotecnológicos) de maneira a prever o comportamento das variáveis de estado que os influencia. Por meio de simulações, pode-se obter vantagens técnicas e econômicas no processo estudado e pode-se aperfeiçoá-lo, permitindo estudar e alcançar as melhores condições para o referido processo, o que deve culminar em um produto com melhor qualidade, menos esforços e custos.

Aguirre (2004) descreve que para processos contínuos a simulação matemática abrange a resolução de equações diferenciais e, na maioria dos casos, obter uma solução analiticamente é impossível, portanto, resolve-se a equação diferencial de forma aproximada, por métodos numéricos.

4 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado seguindo as etapas conforme descrito na Figura 15, a seguir.

Figura 15 - Esquema da metodologia utilizada nesse estudo



Fonte: autor

4.1 MODELAGEM MATEMÁTICA DO ESTUDO

A modelagem foi obtida através das leis básicas de conservação de massa e energia, onde determinaram-se as variáveis e parâmetros que influenciam no funcionamento, tais como volume inicial, vazões de entrada, agitação, α e β . Para realização de manipulação algébricas, considerações termodinâmicas e cinéticas de forma a obter o modelo matemático para a produção enzimático de panose no biorreator CSTR.

4.1.1 Balanço de massa

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{VARIACÃO} \\ \text{DA MASSA NO} \\ \text{REATOR} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSA QUE} \\ \text{ENTRA} \\ \text{NO REATOR} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSA QUE} \\ \text{SAI} \\ \text{DO} \\ \text{REATOR} \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSA QUE É} \\ \text{GERADA PELA} \\ \text{SÍNTESE} \end{array} \right\}$$

Considerando o volume do reator constante:

$$V \frac{dx}{dt} = FX_0 - FX + rxV \quad (\text{Eq. 13})$$

Sendo,

$$rx = \mu X \quad (\text{Eq. 14})$$

Substituindo a equação (14) em (13)

$$V \frac{dx}{dt} = FX_0 - FX + \mu X V \quad (\text{Eq. 15})$$

Dividindo ambos os termos por V:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{F}{V} X_0 - \frac{F}{V} X + \mu X \quad (\text{Eq. 16})$$

Sabe-se que a taxa de diluição (D) é definida pela razão entre a vazão volumétrica em relação ao volume de meio contido no reator, sendo assim, tem-se:

$$D = \frac{F}{V} \quad (\text{Eq. 17})$$

Substituindo a equação (17) na equação (16),

$$\frac{dx}{dt} = DX_0 - DX + \mu X \quad (\text{Eq. 18})$$

Isolando D

$$\frac{dx}{dt} = D(X_0 - X) + \mu X \quad (\text{Eq. 19})$$

4.1.2 Balanço de massa para o substrato

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{VARIAC\~{O}DA} \\ \text{MASSA DE} \\ \text{SUBSTRATO} \\ \text{NO REATOR} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSA DE} \\ \text{SUBSTRATO} \\ \text{QUE ENTRA} \\ \text{NO REATOR} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSA DE} \\ \text{SUBSTRATO} \\ \text{QUE SAI DO} \\ \text{REATOR} \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} \text{VELOCIDADE} \\ \text{DE CONSUMO} \\ \text{DO} \\ \text{SUBSTRATO} \end{array} \right\}$$

Da mesma forma

$$V \frac{dS}{dt} = FS_0 - FS + r_s V \quad (\text{Eq. 20})$$

Sendo,

$$r_s = \mu_s \cdot X = \frac{\mu}{Y_{s/s}} X \quad (\text{Eq. 21})$$

Substituindo a equação (21) em (20) e dividindo ambos os termos por v:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} S_0 - \frac{F}{V} S - \frac{\mu}{Y_{s/s}} X \quad (\text{Eq. 22})$$

Combinando a equação (17) com a equação (22) resulta em:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu}{Y_{s/s}} X \quad (\text{Eq. 23})$$

4.1.3 Balanço de massa para o produto

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{VARIAC\~{O}DA} \\ \text{MASSADEPRO} \\ \text{DUTO} \\ \text{NOREATOR} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSADEPRO} \\ \text{DUTOQUE} \\ \text{ENTRA} \\ \text{NOREATOR} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{MASSADEPRO} \\ \text{DUTOQUE SAI} \\ \text{DREATOR} \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} \text{VELOCIDADE} \\ \text{DE S\~{I}NTESE} \\ \text{DO PRODUTO} \end{array} \right\}$$

Assim como no caso do substrato:

$$V \frac{dP}{dt} = F \cdot P_0 - F \cdot P + r_s \cdot V \quad (\text{Eq. 23})$$

Sendo,

$$r_p = \frac{Y_p}{s} - \frac{\mu X}{Y_s/s} \quad (\text{Eq. 24})$$

Substituindo a equação (24) em (23) e dividindo ambos os termos por v:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{F}{V} P_0 - \frac{F}{V} P - \frac{\mu X}{Y_s/s} \quad (\text{Eq. 25})$$

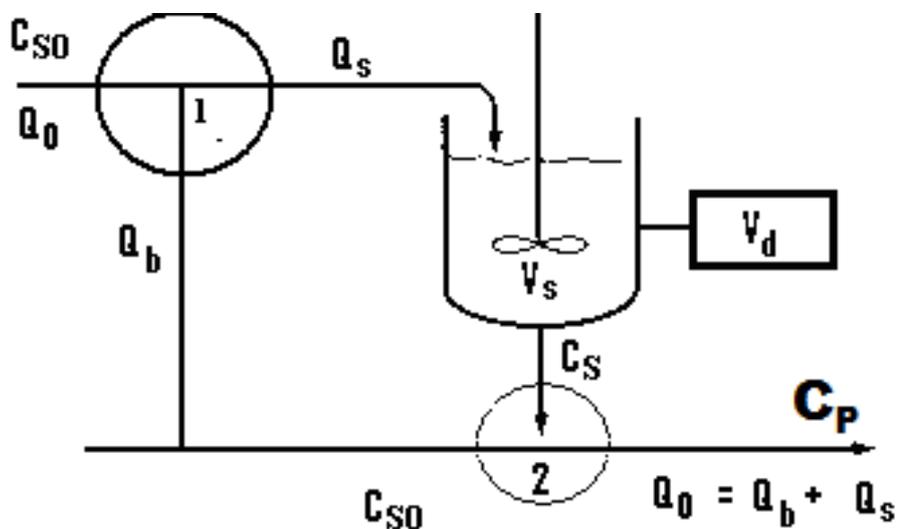
Substituindo a equação (17) na equação (25):

$$\frac{dP}{dt} = D(P_0 - P) - \frac{\mu X}{Y_s/s} \quad (\text{Eq. 26})$$

Para modelar o biorreator é necessária a modelagem cinética, pois a proposição de um modelo matemático que represente a cinética torna possível: o entendimento da afinidade entre os sítios ativos da enzima e os carboidratos, bem como comportamentos ímpares da enzima em relação a carboidratos específicos.

Baseado em dados na literatura Fogler (2012), foi modelado uma combinação de um biorreator CSTR ideal de volume V_s e uma vazão volumétrica Q_b , com uma zona morta de volume V_{de} desvio (by-passing). A vazão real do reator é Q_0 e a corrente afluenta no reator Q_s . Na representação do biorreator na Figura 16, a primeira condição assumida pelo modelo é que uma parte da corrente de alimentação do reator deixa o biorreator imediatamente e retorna à corrente de saída. Na segunda condição há presença de uma zona de estagnação, em que parte do fluido presente no reator não sofre mistura alguma e a corrente de desvio e a corrente do efluente do volume de reação são misturados no ponto 2.

Figura 16– Representação Biorreator com zona morta e by-passing



Fonte: Fogler (2012)

Na Figura 16 os parâmetros do modelo matemático são: α representa a fração de volume total V ocupada pela região não estagnada e β que representa a fração da vazão total que sofre desvio, considerando as seguintes equações (FOGLER, 2012).

$$Q_s = (1 - \beta)Q_0 \quad (\text{Eq. 27})$$

$$Q_b = \beta Q_0 \quad (\text{Eq. 28})$$

$$V_s = \alpha V \quad (\text{Eq. 29})$$

$$V_d = (1 - \alpha)V \quad (\text{Eq. 30})$$

Para modelagem do reator contínuo de tanque agitado (CSTR) foi considerado o modelo cinético proposto por Heincke *et al.* (1999) e as seguintes hipóteses:

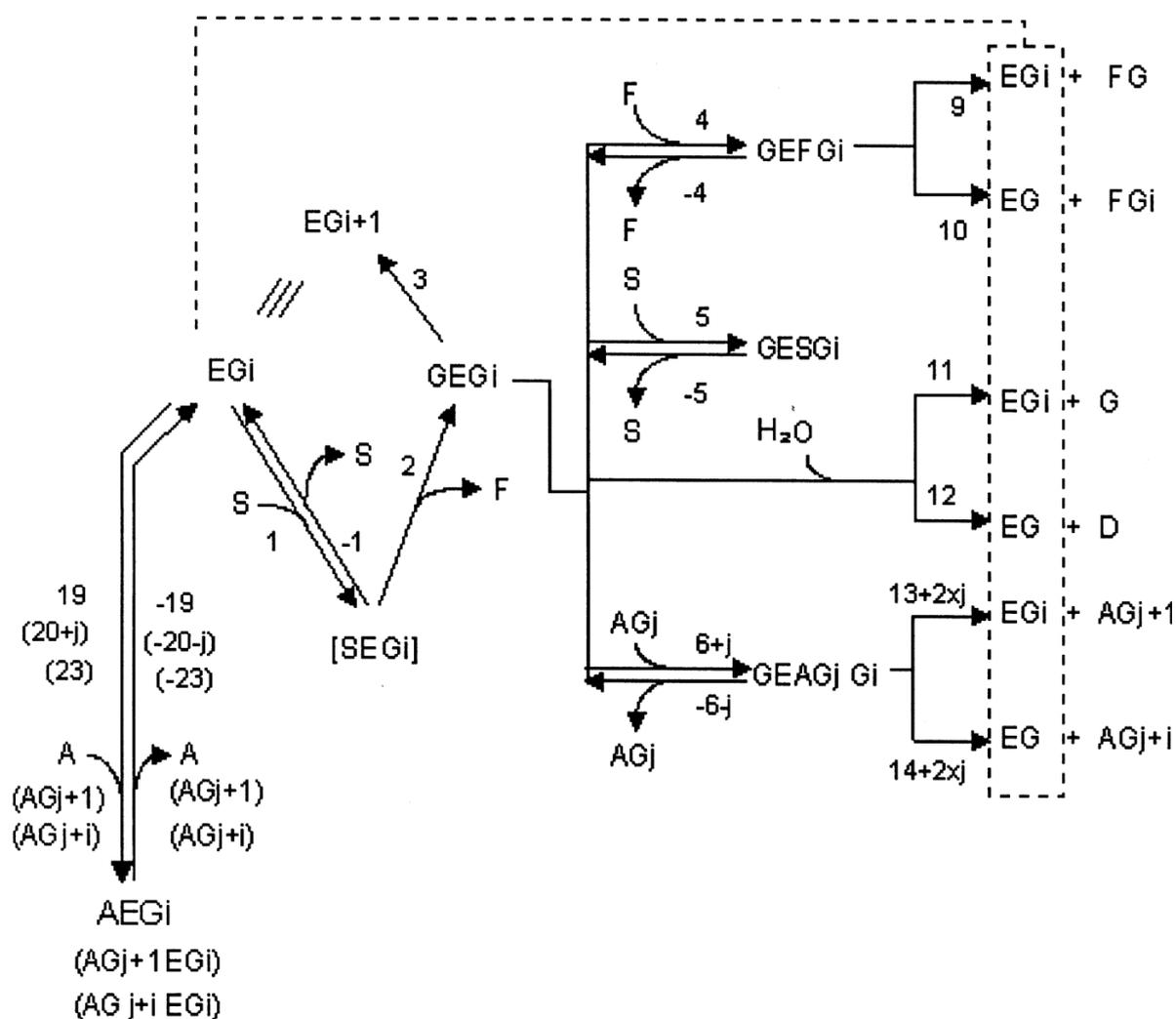
- reator perfeitamente agitado \Rightarrow a concentração de cada espécie na corrente de saída é igual à concentração no reator (CSTR);
- alimentação contínua de enzima e substrato (sacarose);
- e remoção contínua do produto;
- estado estacionário

4.2. MODELO CINÉTICO DO ESTUDO

A segunda etapa foi a escolha do modelo cinético, baseado na literatura e originados do trabalho de Heincke *et al.* (1999) que desenvolveram um modelo cinético com base no mecanismo de inserção proposto por Robyt *et al.* (1978) o qual é constituído de 47 etapas e 86 parâmetros com o objetivo de desenvolver um modelo matemático para modelagem e simulação de um reator batelada para produção de panose, a partir da sacarose, utilizando a enzima dextrana-sacarase como catalisador e tendo maltose como aceptor.

O esquema da rota da síntese de oligossacarídeos a partir da reação do aceptor com a enzima dextrana-sacarase pode ser visualizado na Figura 17.

Figura 17- Modelo cinético da catalise da dextrana-sacarose



Fonte: Heincke *et al.* (1999)

Para modelar o biorreator é necessária a modelagem cinética, pois a proposição de um modelo matemático que represente a cinética torna possível: o entendimento da afinidade entre os sítios ativos da enzima e os carboidratos, bem como comportamentos ímpares da enzima em relação a carboidratos específicos e a obtenção das possíveis rotas enzimáticas para a síntese de oligossacarídeos e dextranas, bem como a distribuição de pesos moleculares ao longo da reação.

Para a formação da panose, a seletividade do acceptor está relacionada com a supressão das reações secundárias (formação de dextrana, por exemplo) além de se obter uma alta taxa da reação do acceptor.

A seletividade do acceptor que pode ser expressa como a razão entre a taxa de reação do acceptor e a taxa global de reação. O modelo matemático deste estudo foi baseado no modelo da Figura 16 que gera um número de equações diferenciais todas descritas na seção Apêndice B e os parâmetros cinéticos (Tabela 3) das equações diferenciais para o modelo cinético da dextrana sacarose propostas Heincke *et al.* (1999).

Considerando estado estacionário das equações diferenciais tem se as seguintes equações enzimáticas (equações 31 a 38) para o biorreator CSTR a seguir.

Consumo de sacarose:

$$S = - \frac{E \cdot S (p_{24} + p_{70} \cdot F + p_{71} \cdot M_1 + p_{72} \cdot M)}{N} \quad (\text{Eq. 31})$$

Formação de frutose

$$F = + \frac{E \cdot S (p_{24} + p_{71} \cdot M + p_{72} \cdot P)}{N} \quad (\text{Eq. 32})$$

Taxa de consumo do acceptor

$$M = - \frac{p_{71} \cdot E \cdot S \cdot M}{N} \quad (\text{Eq.33})$$

Formação de frutose

$$P = + \frac{E \cdot S (p_{71} \cdot M - p_{72} \cdot P)}{N} \quad (\text{Eq. 34})$$

Onde,

$$N = 1 + p_{42} \cdot S + p_{43} \cdot M + p_{46} \cdot F + p_{47} \cdot S \cdot F + p_{53} \cdot S \cdot M + N_1 \quad (\text{Eq. 35})$$

$$N_1 = p_{54} \cdot M^2 + p_{55} \cdot M \cdot P + p_{59} \cdot S \cdot P + p_{68} \cdot S^2 \quad (\text{Eq. 36})$$

$$P_{43} = \frac{p_{24} \cdot p_{54}}{p_{71}} p_{54} + \frac{p_{71}}{p_{24}} \quad (\text{Eq. 37})$$

A Tabela 3 apresenta a estimativa dos parâmetros cinéticos da reação realizada por HEICKER *et al.*, (1999) com base na medida das concentrações de sacarose, frutose, maltose, panose e dextrana S , F , M , P , D , respectivamente.

Tabela 3 – Parâmetros cinéticos

Parâmetros cinéticos	Valores	Unidades
P_{24}	$3,5 \times 10^{-5}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{42}	$1,45 \times 10^{-2}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{46}	$2,56 \times 10^{-3}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{47}	$5,81 \times 10^{-5}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{53}	$6,66 \times 10^{-4}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{54}	$2,84 \times 10^{-5}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{55}	$2,28 \times 10^{-5}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{59}	$1,06 \times 10^{-4}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{68}	$3,16 \times 10^{-5}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{70}	$4,76 \times 10^{-8}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{71}	$1,81 \times 10^{-6}$	$(\frac{L}{mmol})^2$
P_{72}	$3,52 \times 10^{-6}$	$(\frac{L}{mmol})^2$

Fonte: HEICKER *et al.*, (1999)

4.3. PROGRAMAÇÃO E SIMULAÇÃO

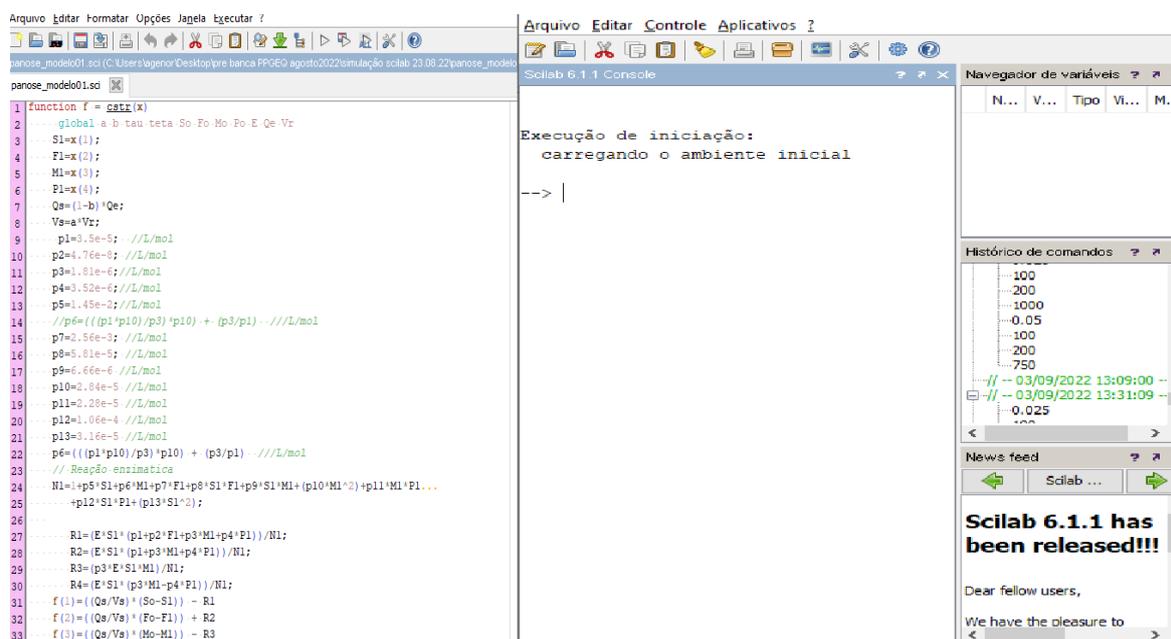
A partir do modelo desenvolvido foi utilizado a programação do software gratuito Scilab versão 6.1, que se encontra gratuitamente disponível em navegadores da internet para a simulação do modelo.

Para iniciar o estudo fez-se necessário determinar um algoritmo para a execução do programa no Scilab. Neste, existem rotinas pré-programadas, onde se utiliza o modelo escolhido para a análise cinética e posteriormente a análise no biorreator.

A partir das equações obtidas no tópico 4.2, as equações diferenciais ordinárias (eq.31 a eq.37) do modelo foram resolvidas simultaneamente usando o software Scilab versão 6.1 e o método explícito de um passo de Runge-Kutta de quarta ordem, o qual é um dos métodos numéricos iterativos mais utilizados para aproximar com precisão, utilizando a linguagem da programação.

A Figura 18 apresenta ambiente de desenvolvimento de modelos no SCILAB versão 6.1 que utilizou nesse estudo.

Figura 18 - Layout do programa computacional Scilab



Fonte: Autor

A Tabela 4 apresenta os parâmetros do Biorreator CSTR que foi considerado no presente estudo.

Tabela 4 – Condições para as simulações do Biorreator CSTR

Parâmetro	Valor
Temperatura de operação (T)	25 (°C)
Diâmetro do biorreator (Dr)	1,15 (m)
Altura do liquido (H)	2,92 (m)
Diâmetro do impelidor (di)	0,383 (m)
Largura do impelidor (li)	0,070 (m)
Atividade enzimática (E)	250 (UI/L)
Concentração inicial de sacarose (C _{So})	100, 200 e 400 (mmol/L)

Tabela 4 – Condições para as simulações do Biorreator CSTR
continuação

Parâmetro	Valor
Concentração inicial de maltose (C_{M_0})	200, 400 e 800 (mmol/L)
Vazão de entrada (Q_0)	0, 025 e 0,05 (m ³ /s)
Fração do volume do reator (α)	0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9
Agitação do reator	50, 250, 500, 750 e 1000 (rpm)

Fonte: Autor

4.4. ANÁLISE DOS RESULTADOS

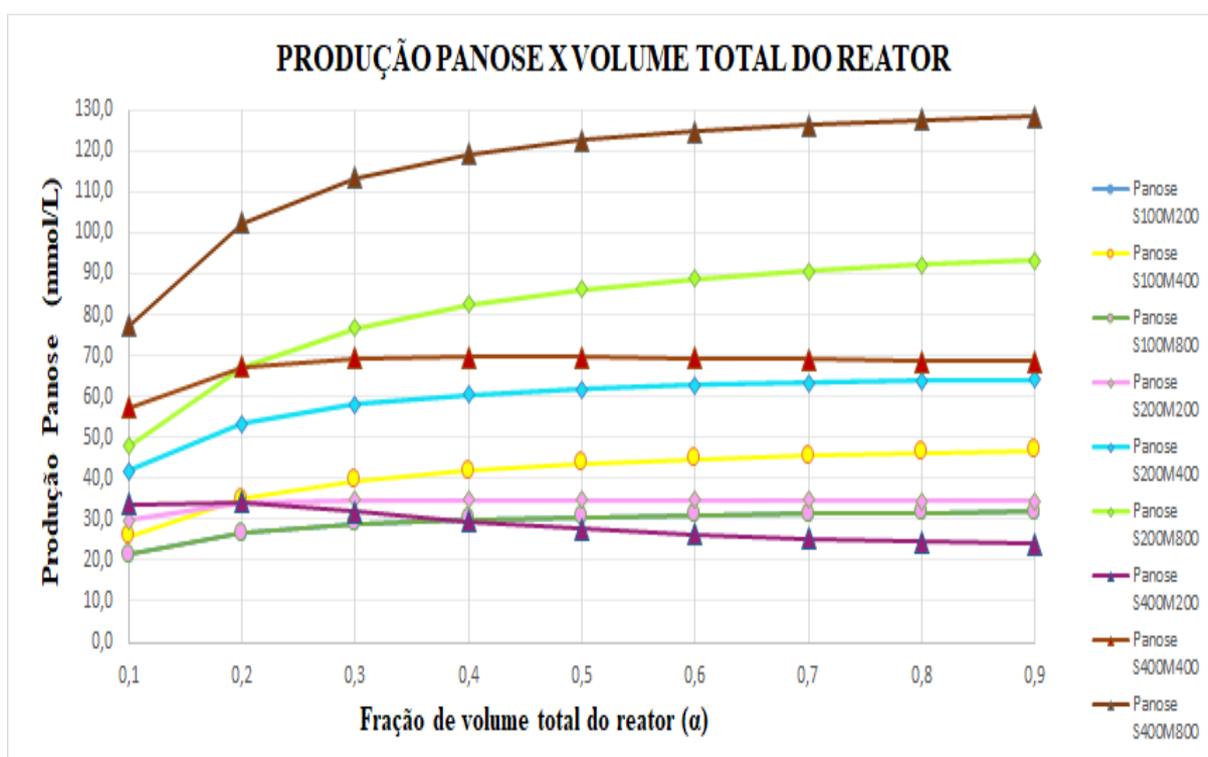
Após a modelagem e a simulação do biorreator CSTR no software Scilab foram geradas as curvas da produção da Panose no Excel. Essa etapa consistiu na avaliação dos resultados obtidos dos diferentes cenários, sendo considerados uma concentração de enzima no sistema e o volume do biorreator CSTR constante, variando a agitação do impelidor, e as concentrações iniciais do substrato (sacarose) e do aceptor (maltose).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a modelagem e a simulação do biorreator CSTR foram gerados os gráficos que se encontram todos no Apêndice A, realizando-se a plotagem no Excel dos resultados mais relevantes desse estudo e suas avaliações.

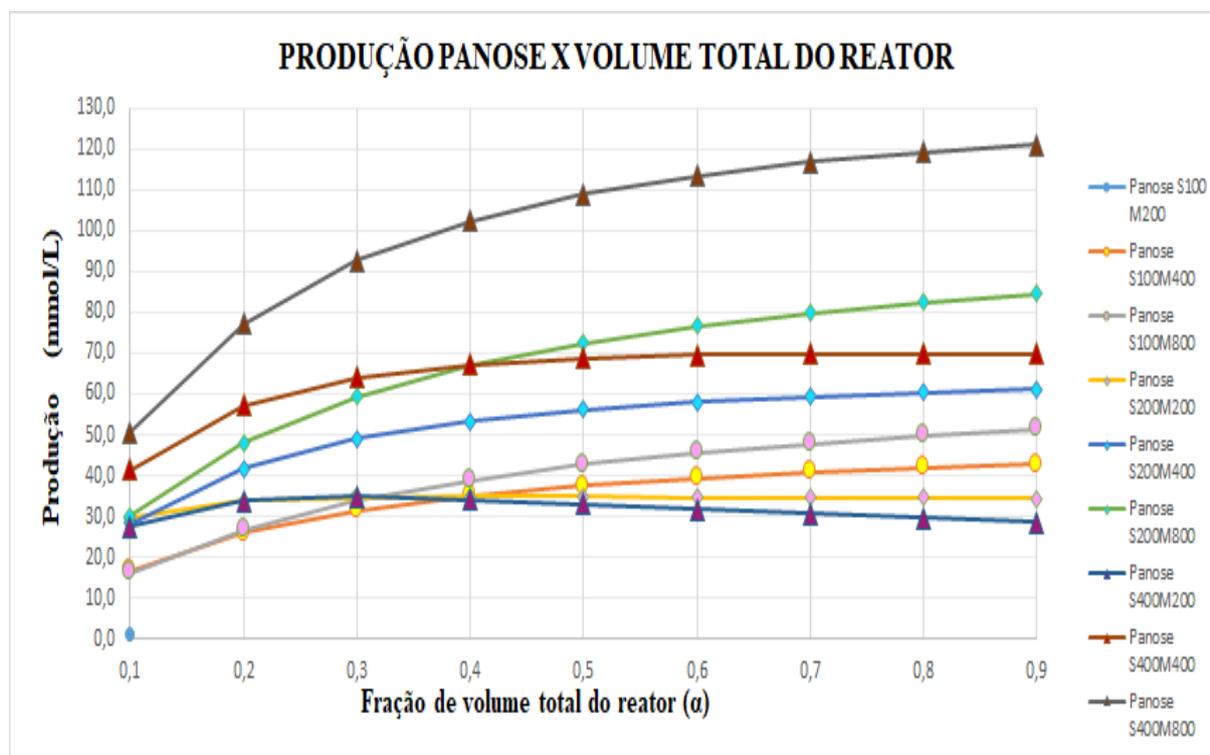
A Figura 19 e a Figura 20 apresentam a cinética enzimática para a produção de panose considerando a agitação de 1000 rpm, para $\alpha= (0,1 \text{ a } 0,9)$ variando as variáveis da concentração inicial de substrato e acceptor, para a vazão do biorreator $Q_0=0,025 \text{ m}^3/\text{s}$ e $Q_0=0,05 \text{ m}^3/\text{s}$, respectivamente.

FIGURA 19 – Curva cinética da produção de panose para $Q_0=0,025 \text{ m}^3/\text{s}$



Fonte: Autor

Observando as curvas (\triangle) vê-se uma queda na produção de panose quando a concentração inicial de entrada da sacarose é maior ou igual a da Maltose, caracterizando uma inibição enzimática. Comparando com os resultados de Rodrigues (2005) evidenciou-se que no nosso modelo também nesse caso necessita de um maior tempo de residência no biorreator CSTR.

FIGURA 20 – Curva cinética da produção de panose para $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ 

Fonte: Autor

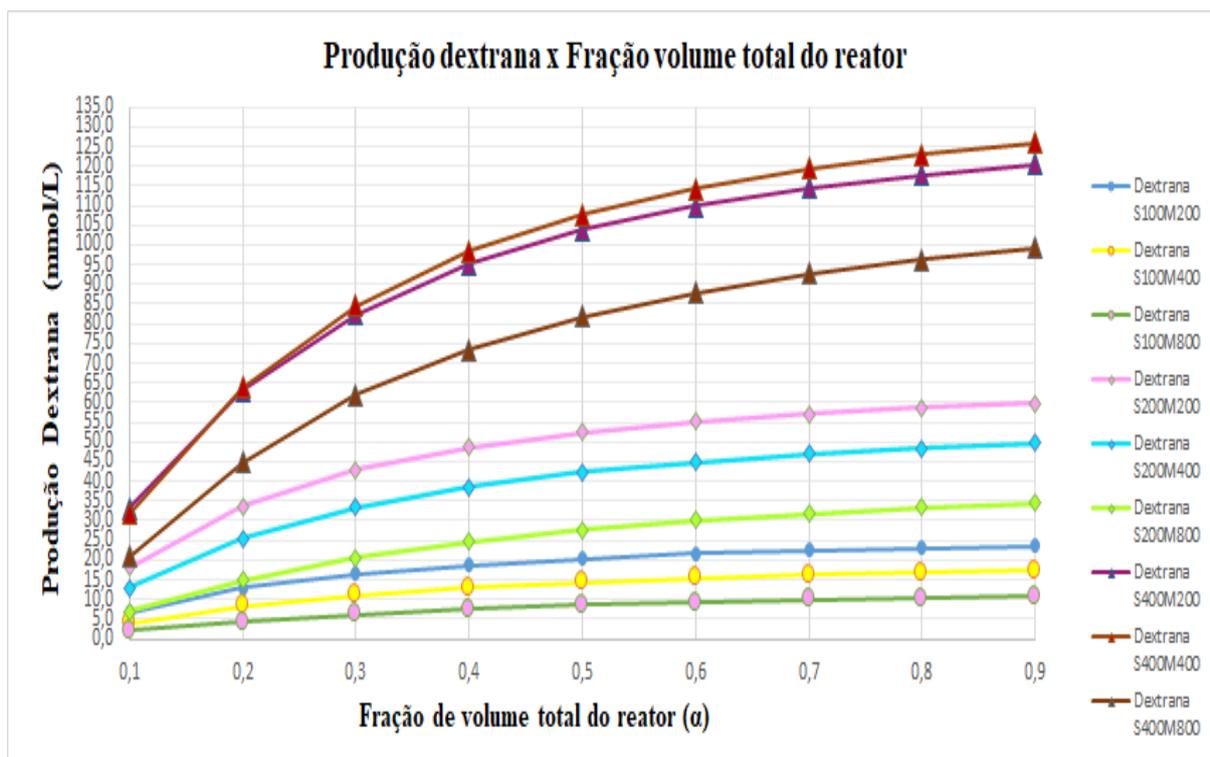
Observa-se no perfil das curvas da Figura 19 e 20 que a medida que aumentou a concentração do substrato $C_S=100,200$ e 400mmol/L , também aumentou a produção de Panose, onde para $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ nesse modelo foi possível obter no final do processo uma concentração panose de $128,36\text{mmol/L}$ e para $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ obteve-se a maior produção final de panose de $121,07\text{mmol/L}$. E que a medida que duplicou a vazão de alimentação do biorreator, não ocorreu o dobro de produção de panose nas mesmas condições e, sim, uma perda evidenciando um reator não ideal, ficando comprovada as duas condições assumida no nosso modelo, ou seja, uma parte do volume não ocorreu a reação, onde a primeira condição do modelo uma parte da corrente de alimentação do biorreator deixa o imediatamente e retorna à corrente de saída e a segunda condição há presença de uma zona de estagnação, em que parte do fluido presente no reator não sofreu mistura alguma e a corrente de desvio e a corrente do efluente do volume de reação são misturados no ponto 2 da figura 16 citada na pagina 45.

Nesse estudo foi comprovado o mesmo que foi evidenciado no estudo de Rodrigues (2005), que o aumento da concentração de maltose na corrente de alimentação favorece a

produtividade de panose e desfavorece a produtividade de dextrana. A perda contínua do substrato não consumido é onde observa-se a menor rendimento na produção tanto da panose como da dextrana.

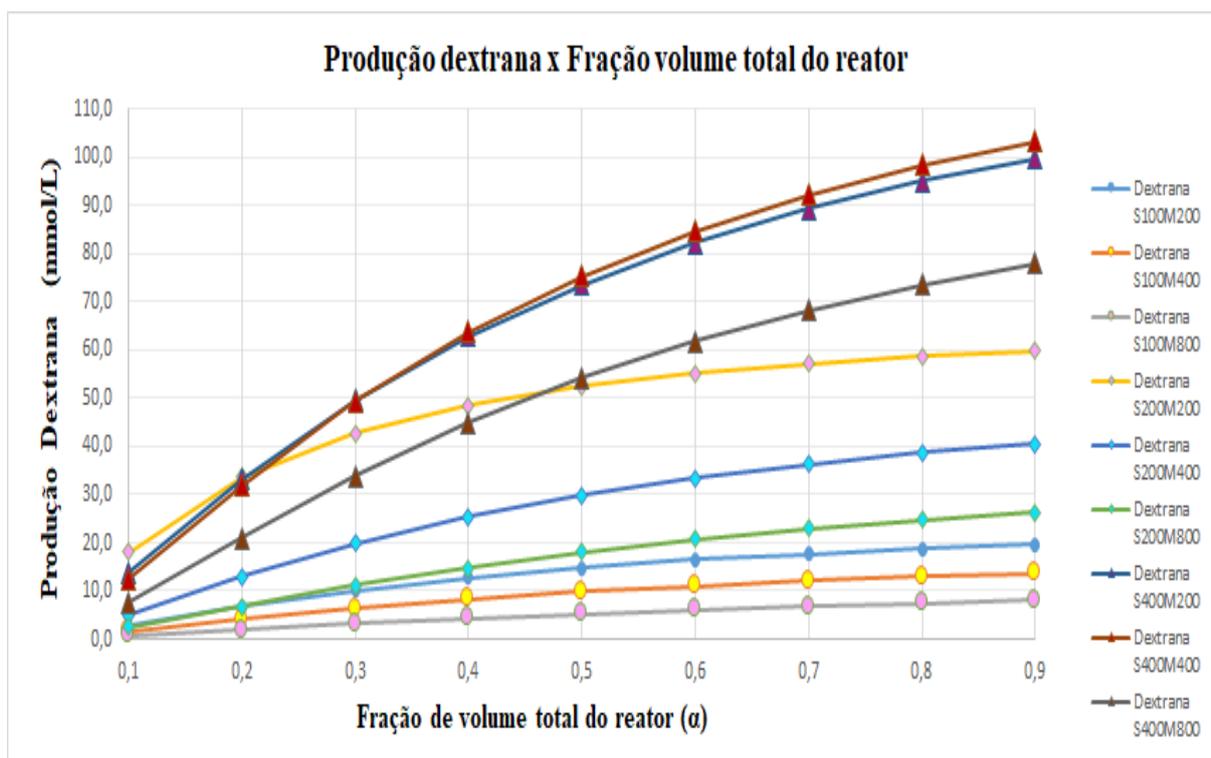
As Figuras 21 e 22 apresentam as curvas cinéticas da produção da dextrana, considerando a agitação de 1000 rpm, para $\alpha = (0,1 \text{ a } 0,9)$ variando as variáveis da concentração inicial de substrato e aceptor, para a vazão do biorreator $Q_0=0,025 \text{ m}^3/\text{s}$ e $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$, respectivamente.

FIGURA 21 – Curva cinética da produção de Dextrana para $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$



Fonte: Autor

Na figura acima, observa-se que os perfis as curvas são semelhantes para as condições desse modelo, e que para $\alpha=0,9$ a menor produtividade de dextrana foi de 10,77mmol/L que se deu para uma maior entrada da concentração de maltose, e alcançou-se uma maior produtividade de dextrana de 126,04mmol/L para a entrada das concentrações de sacarose e maltose iguais a 400mmol/L.

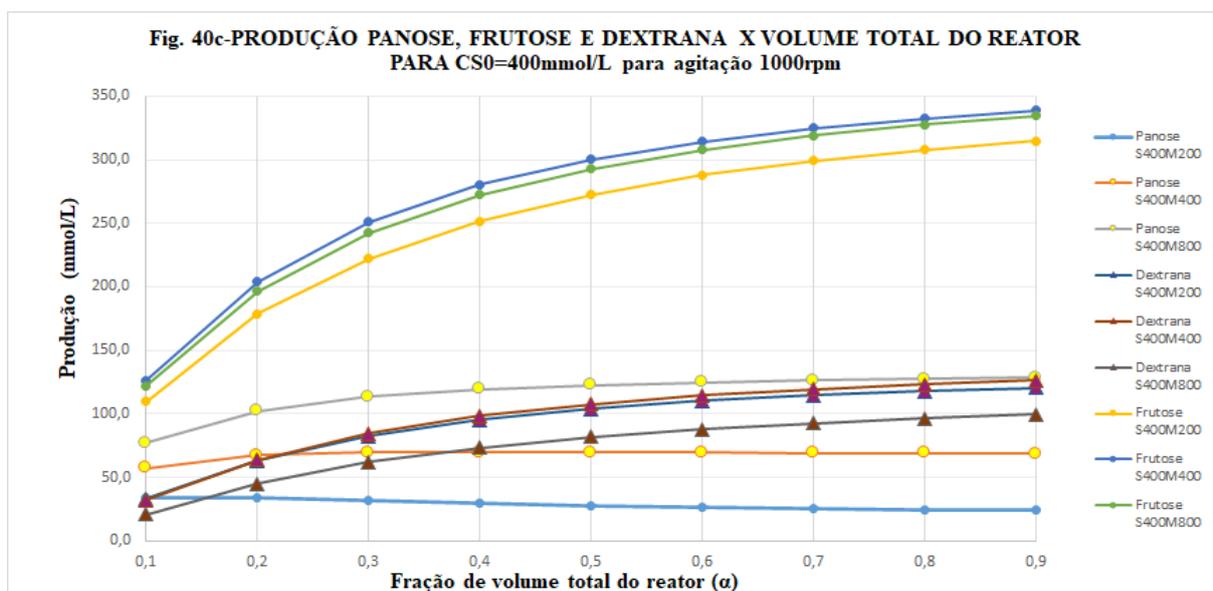
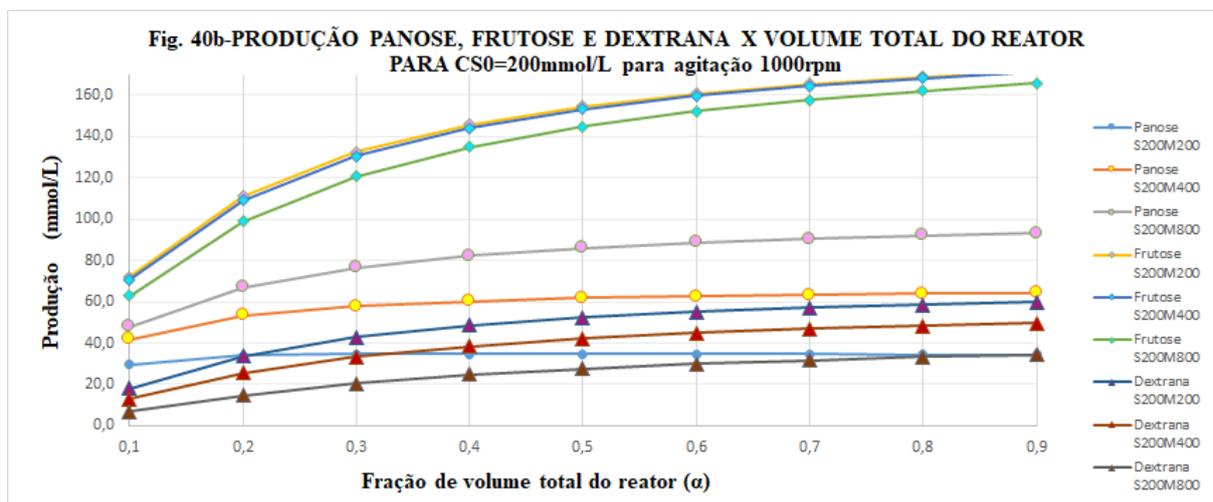
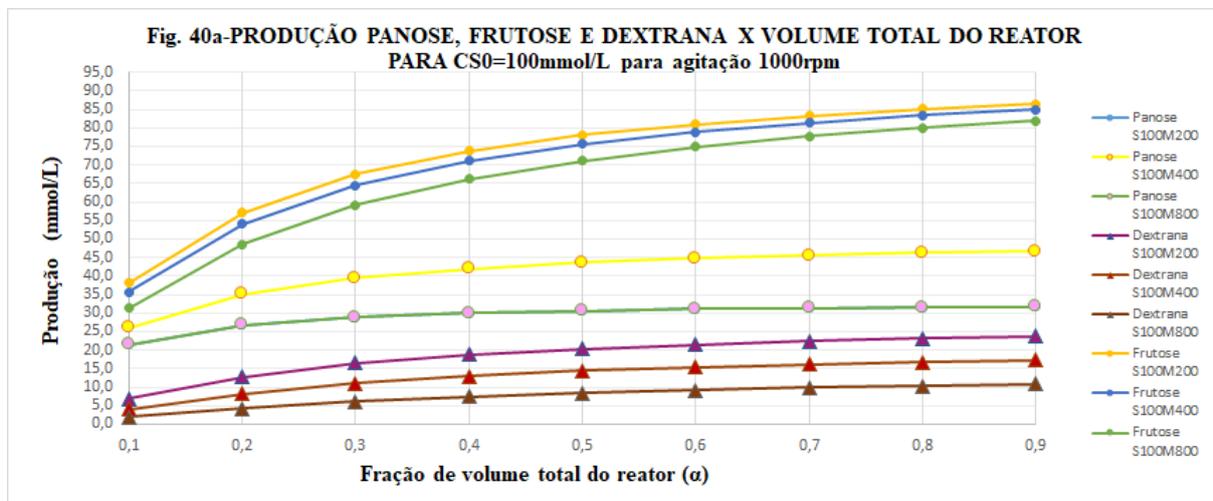
FIGURA 22 – Curva cinética da produção de Dextrana para $Q_0=0,05\text{m}^3/\text{s}$ 

Fonte: Autor

Quando se duplicou a vazão de alimentação do biorreator figura 22, observa-se que os perfis das curvas são semelhantes para as condições desse modelo, e que para $\alpha=0,9$ a menor produtividade de dextrana foi de 7,99 mmol/L que se deu para uma maior entrada da concentração de Maltose, e alcançou-se uma maior produtividade de dextrana de 103,47 mmol/L para a entrada das concentrações de sacarose e maltose iguais a 400 mmol/L.

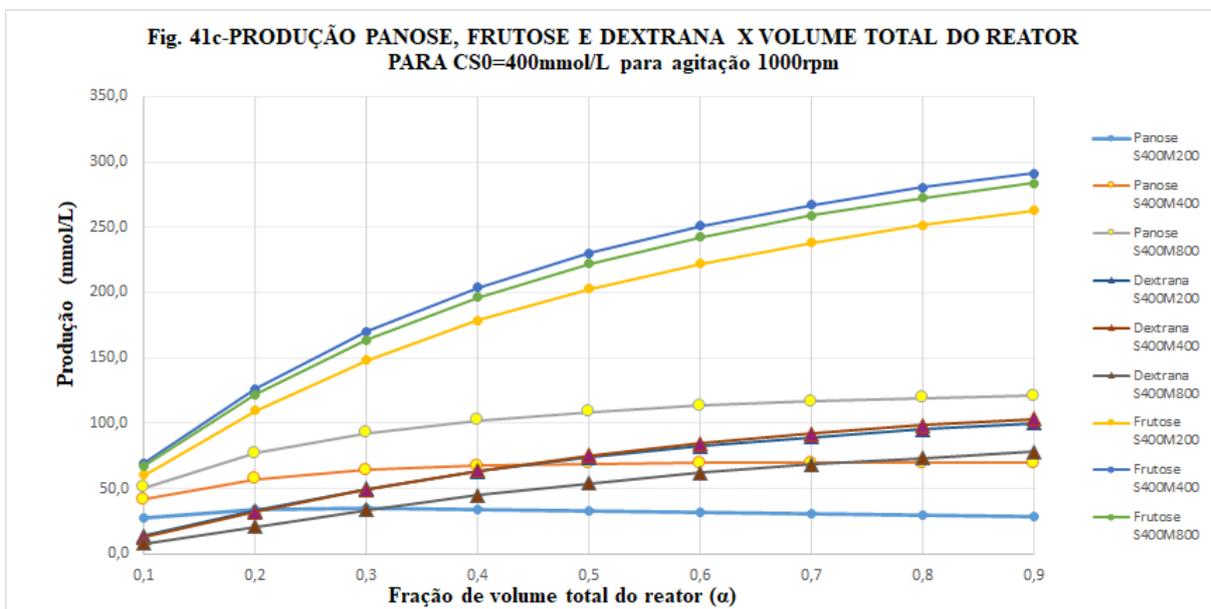
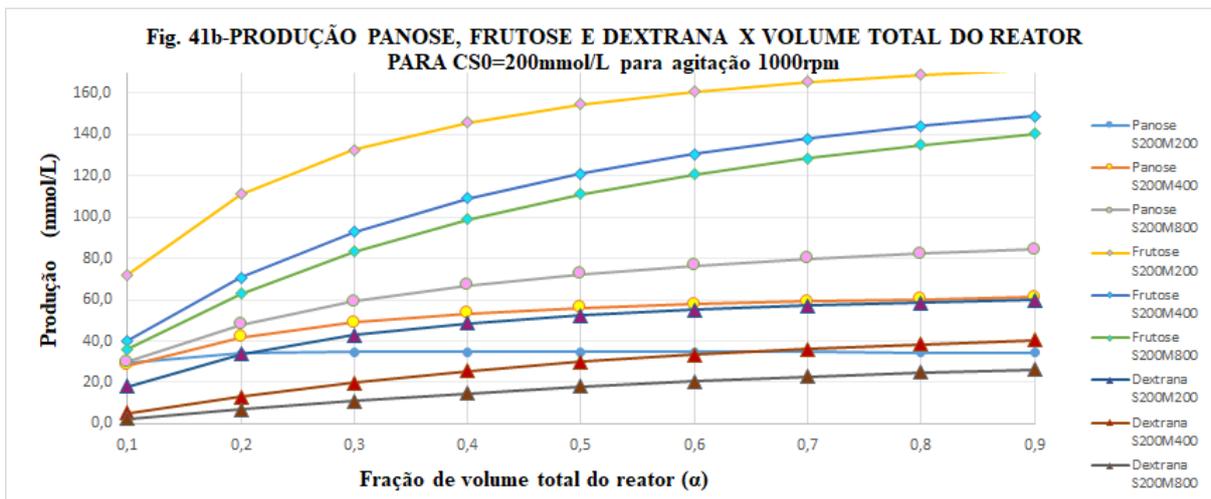
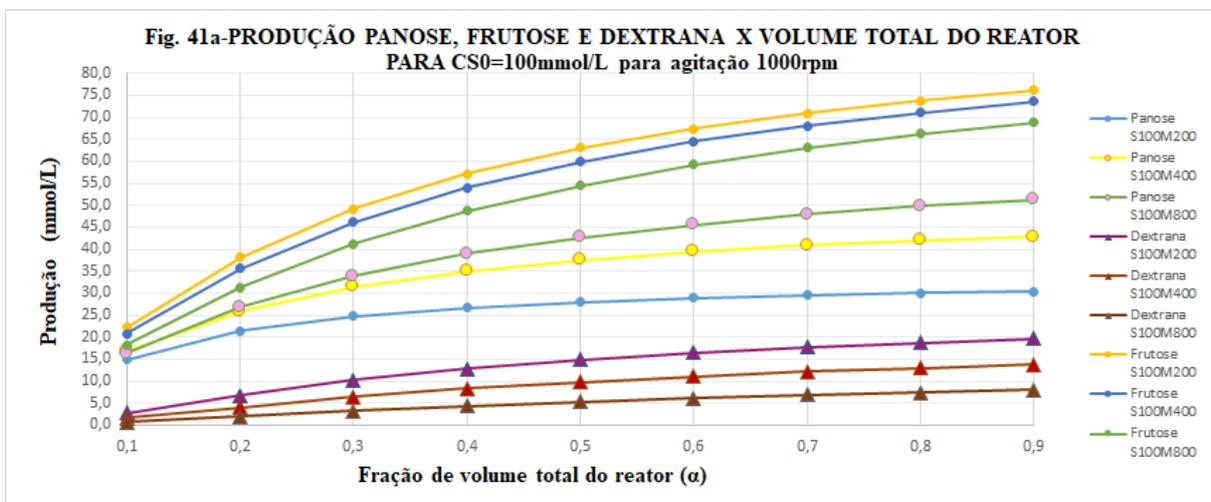
As Figuras 40 e 41 apresentam todos os resultados obtidos para o volume total do reator $\alpha=0,9$.

Figura 40 – Curvas cinética da produção de panose, frutose e dextrana para a concentração inicial constante da sacarose 100 mmol/L para agitação 1000 rpm e $Q_0=0,025m^3/s$.



Fonte: Autor

Figura 41 – Curvas cinética da produção de panose, frutose e dextrana para a concentração inicial constante da sacarose 100mmol/L para agitação 1000 rpm e $Q_0=0,05m^3/s$.



Fonte: Autor

Rodrigues (2005) afirma que altas concentrações de maltose diminuem o consumo da sacarose, pelo fato da sacarose alimentada não é completamente consumida no biorreator CSTR, devido à perda contínua (by-passing) na corrente de saída e Robyt *et al.* (1974) afirmam que a mistura de produtos obtidos depende da cinética das reações e da força do(s) acceptor(es), bem como de suas concentrações, estes foram evidenciados nesse estudo.

6 CONCLUSÕES

O modelo matemático respondeu de maneira satisfatória às variações das condições operacionais α e β , bem como às variações de agitação do biorreator para a produção via enzimática da panose. Isto demonstra a aplicabilidade potencial do modelo para diversos níveis de mistura.

Os resultados das simulações mostram que os efeitos de mistura influenciam na cinética enzimática e que a mistura incompleta no interior do biorreator via enzimática resulta em menor produção da panose e uma diminuição da eficiência. Já quando são completamente misturados, há o melhor contato da enzima, substrato e mantém-se a uniformidade de outros fatores e o uso efetivo de todo o volume do biorreator. E impedindo a estratificação se consegue um melhor rendimento e eficiência do processo, isso impacta sobre os custos da produção, pois uma pequena queda na eficiência pode levar à necessidade de equipamento significativamente maior e com elevado custo.

PERSPECTIVAS FUTURAS

De acordo com os resultados obtidos sugere-se que o funcionamento continuado do biorreator enzimático com alternância entre as alimentações de sacarose e maltose, sendo interessante enfatizar que seja realizada uma avaliação com uso de biorreatores paralelos.

Realizar a simulação para variação estrutural do biorreator, de modo a obter a maior eficiência enzimática para a obtenção da panose.

Realizar a otimização do processo.

REFERÊNCIAS

- ANDRIETTA, S. R.; MAUGERI, F. **Modelagem, Simulação e Controle de Fermentação Alcoólica Contínua em Escala Industrial**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas, 1994.
- AGUIRRE, L.A. **Introdução à identificação de sistemas: técnicas lineares e não lineares a sistemas reais**. Belo Horizonte. UFMG, 2004.
- ARENALES, S., DAREZZO, A. (2015). **Cálculo numérico: aprendizagem com apoio de software**. São Paulo. Cengage Learning.
- CHAPRA, S. C. **Métodos numéricos aplicados com MATLAB® para engenheiros e cientistas**. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2013.
- CHUNG; C.H.; DAY, D.F. **Glucooligosaccharides from *Leuconostoc mesenteroides* B-742 (ATCC 13146): A potential Prebiotic**. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v 2, p.196-199, 2002
- CHUNG, C.H.; DAY, D. F. **Efficacy of *Leuconostoc citreum* (ATCC 13146) isomaltooligosaccharides as poultryprebiotic**. Poultry Science, v. 83, p. 1302-1306, 2004.
- DEMUTH, K.; JÖRDENING, H.; BUCHHOLZ, K. **Oligosaccharide synthesis by dextransucrase: new unconventional acceptors**. Carbohydrate Research, v. 337, p. 1811-1820, 2002.
- DOBRE. T.G.; MARCANO, J.G. S. **Chemical Engineering: modeling, simulation an similitude**. Germany. Weinheim: willey-vch. 2007.
- FISCHER, E. **Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme**. European Journal of Inorganic Chemistry, v. 27, n. 3, p. 2985–2993, 1894.
- FOGAÇA, J.R.V. **Classificação dos carboidratos**. Química, 2022.

FOGLER, H. S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**. 4.ed. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

FRANCO, IVAN CARLOS. **Modelagem e simulação processos químicos**. Centro Universitario, FEI, 2020.

GIESE, E. C.; HIROSI, T.; SILVA, M. L. **Produção, propriedades e aplicações de oligossacarídeos**. Agricultural Sciences, v. 32, p. 683–700, 2011.

GILAT, A., SUBRAMANIAM, V. **Métodos numéricos para engenheiros e cientistas: uma introdução com aplicação usando MATLAB**. Porto Alegre: Bookman, 2008.

HEINCKE K., DEMUTH B., JÖRDENING H. J. AND BUCHHOLZ K. **Kinetics of the dextran sucrase acceptor reaction with maltose experimental results and modeling**. Enzyme and Microbial Technology, v. 24, p. 523–534, 1999.

HIGASHIMURA, Y.; EMURA, K.; KUZE, N.; SHIRAI, J.; KODA, T. **Canadian Patent 2378 464,2000**

HONORATO, T. L.; RABELO, M. C.; GONÇALVES, L. R. B.; PINTO, G. A. S.; RODRIGUES, S. **Fermentation of cashew apple juice to produce high added value**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 23, p. 1409 – 1415, 2007.

KIM, G.E.; KANG, H. K.; SEO, E. S.; JUNG, S. H.; PARK, J. S.; KIM, D, H.; KIM, D.W.; AHN, S. A.; SUNWOO, C.; KIM, D. **Glucosylation of the flavonoid, astragalin by *Leuconostoc mesenteroides* B-512 FCMCM dextran sucrase acceptor reactions and characterization the products**. enzyme and Microbial Technology, v. 50, p. 50-56, 2012.

KITAOKA, M.; ROBYT, J. F. **Mechanism the action of *Leuconostoc mesenteroides* B-512 FMC dextran sucrase: kinetics of the transfer of D-glucose to maltose and the effect so enzyme and substrate e concentration**. Carbohydrate Research, v. 32, p. 183-191, 1999.

KOSHLAND, D. E. J. **Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis**. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 44, n. 2, p. 98–104, 1958.

LEVENSPIEL, O. Engenharia **das reações Químicas**. São Paulo:Blucher,2000.

PINTO, J.C; LAGE, P.L.C. **Métodos Numéricos em Problemas de Engenharia Química**. Ed. E-papers,2001

PRADELLA, J. G.C. **Reatores com células imobilizadas: biotecnologia industrial**. São Paulo: E. Blucher, 2001.

RABELO, M. C.; FONTES, C. P. M. L.; RODRIGUES, S. **Enzyme synthesis of oligosaccharides using cashew apple juice as substrate**. Bioresource Technology, v. 100, p. 131 5574–5580, 2009.

ROBYT, J. F.; WALSETH, T. F. **The Mechanism of Acceptor Reactions of *Leuconostoc mesenteroides* B- 512F Dextranucrase**. Carbohydrate Research, v. 61, p. 433-445, 1978.

ROBYT, J. F.; YOON, S.; MUKERJEA, R. **Dextran sucrase and the mechanism for dextran bio synthesis**. Carbohydrate Research, v. 343, p. 3039–3048, 2008.

RODRIGUES, S., Lona L.M.F. and Franco T.T. **Bioprocess Bio systems Engineering**, 2005.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia sequencial de planejamentos**. Campinas, SP: Casado Pão Editora, 2005.

RODRIGUES S., LONA L. M. F. & FRANCO T. T. **Optimizing panose production by modeling and simulation using factorial design and surface response analysis**, Journal of Food Engineering, 75, 433–440, 2006.

RUGGIERO, M. G., LOPES, V. L. R. **Cálculo numérico: aspectos teóricos e computacionais**. São Paulo: Pearson Makron Books, 1996.

SANTO, I. A. C. P. do E. **Modelação e Estimação de Parâmetros**. Ramo da Engenharia de Produção e Sistemas – Área de Optimização Não Linear. Universidade do Minho, 2011.

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

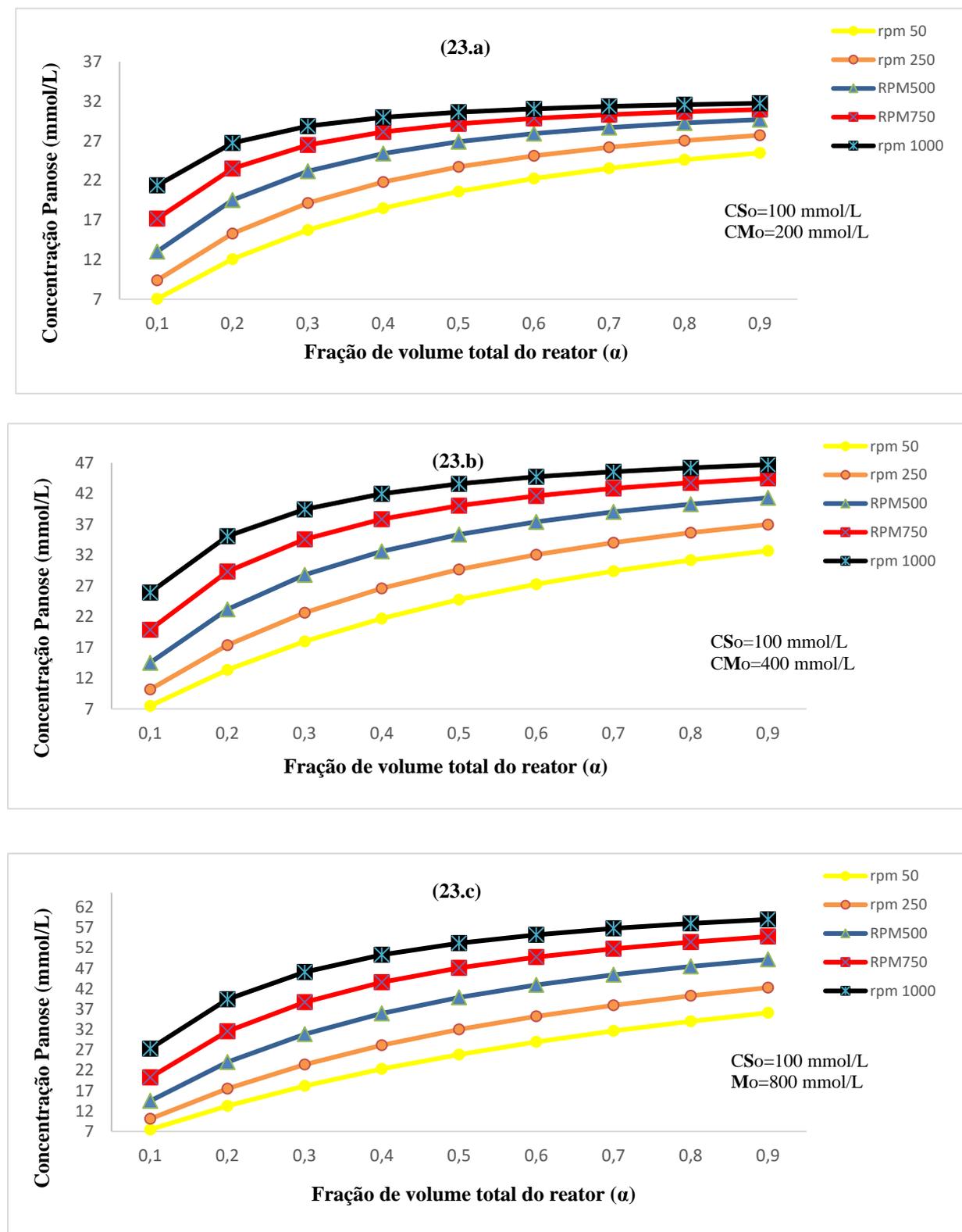
SIRÓ, I. *et al.*, **A funcional food. Product development, marketing and consumer acceptance** - A review. *Appetite*, v.51, n.3, p.456-467, 2008.

VERGARA, C. M. A. C.; HONORATO, T. L.; MAIA, G. A.; RODRIGUES, S. **Prebiotic effect off ermented cashew apple (*Anarcadium occidentale* L.) juice.** *Food and Science Technology*, v. 43, p. 141-145, 2010.

APÊNDICES

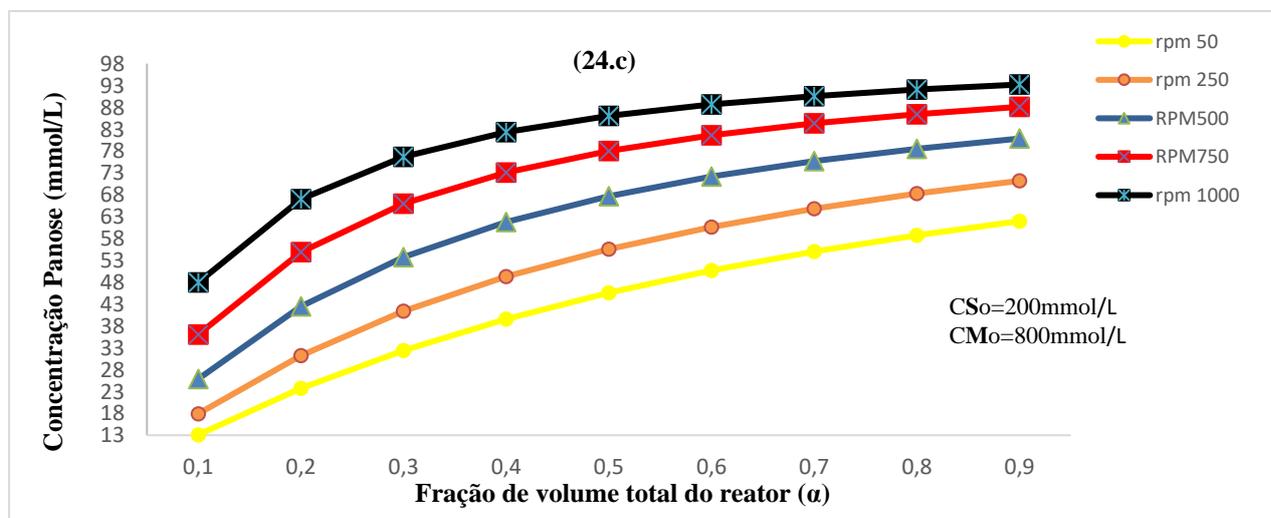
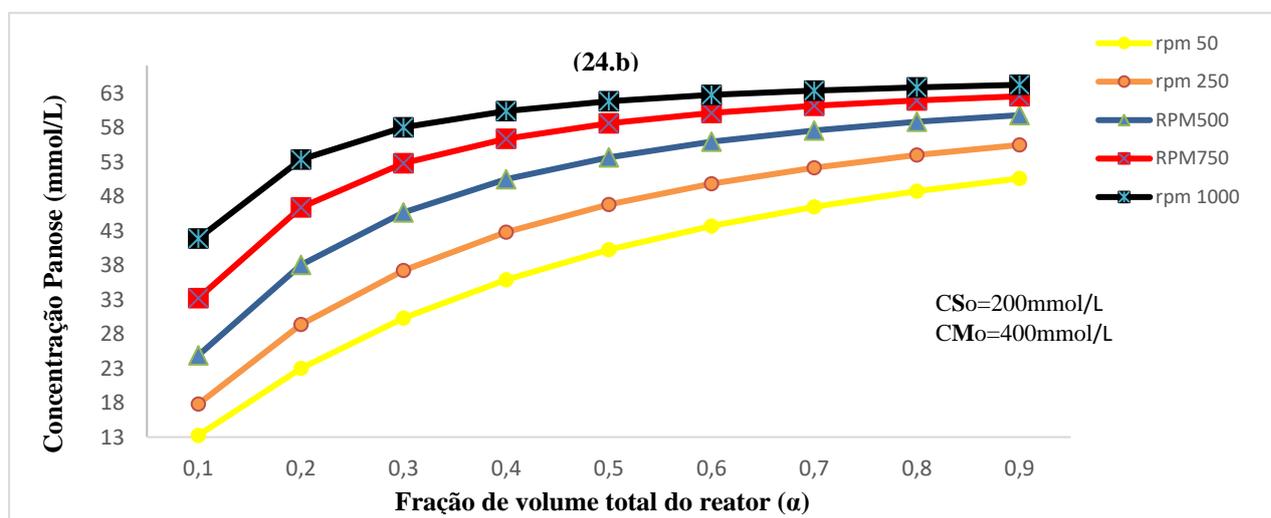
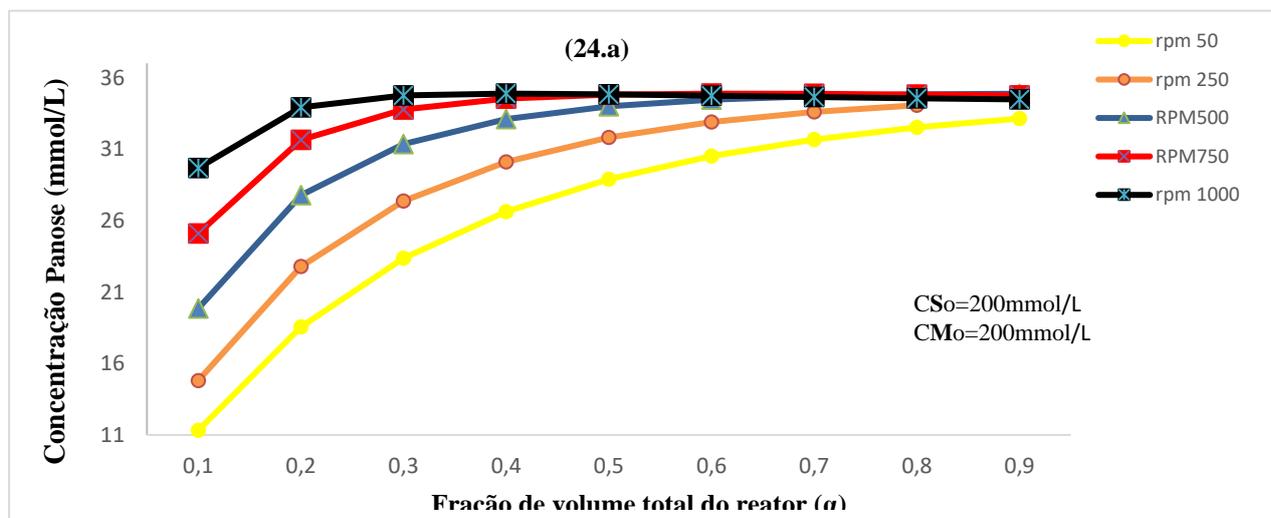
APÊNDICE A- RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES DO ESTUDO VARIANDO AS CONCENTRAÇÕES INICIAIS DE SACAROSE E MALTOSE EM FUNÇÃO DO VOLUME TOTAL DO REATOR.

Figura 23 – Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So}=100\text{ mmol/L}$).



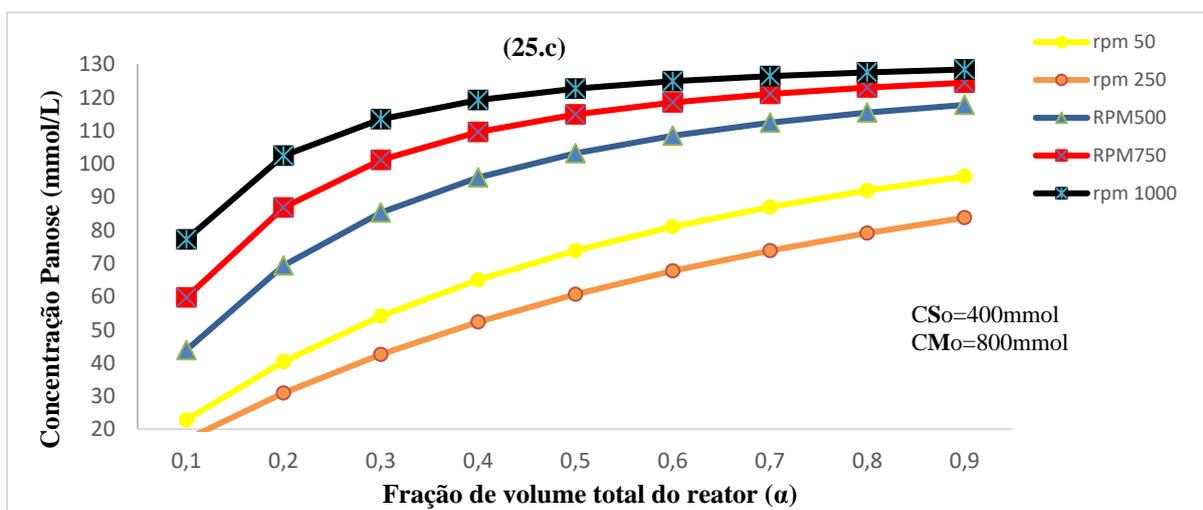
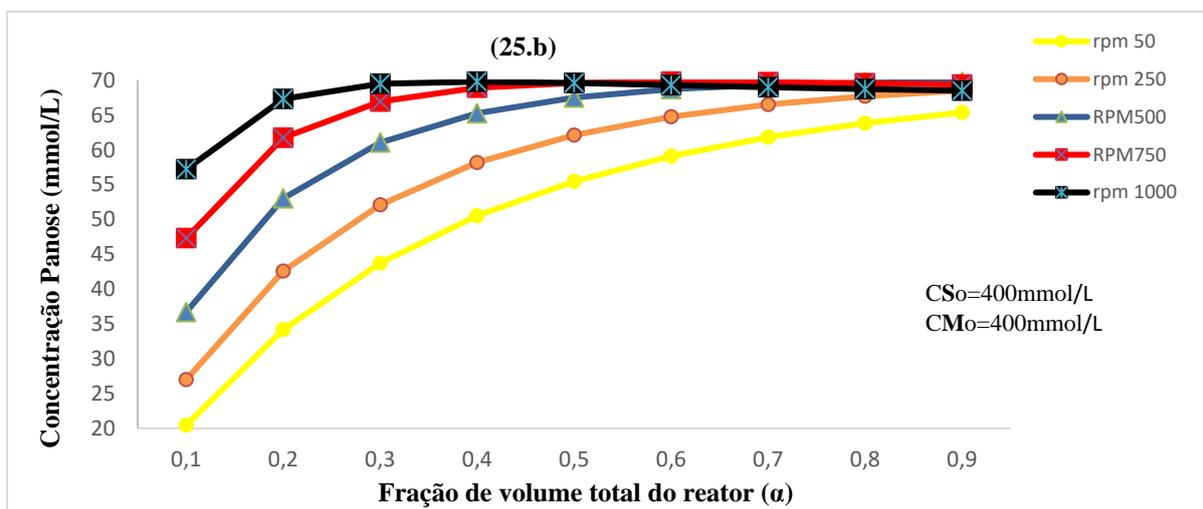
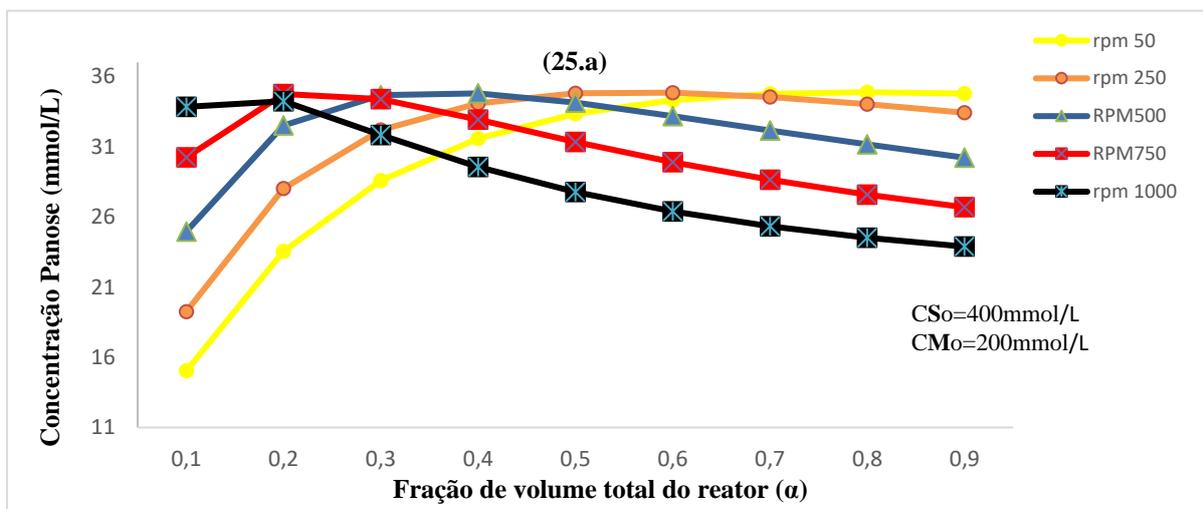
Fonte: Autor

Figura 24 – Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So}=200\text{mmol/L}$).



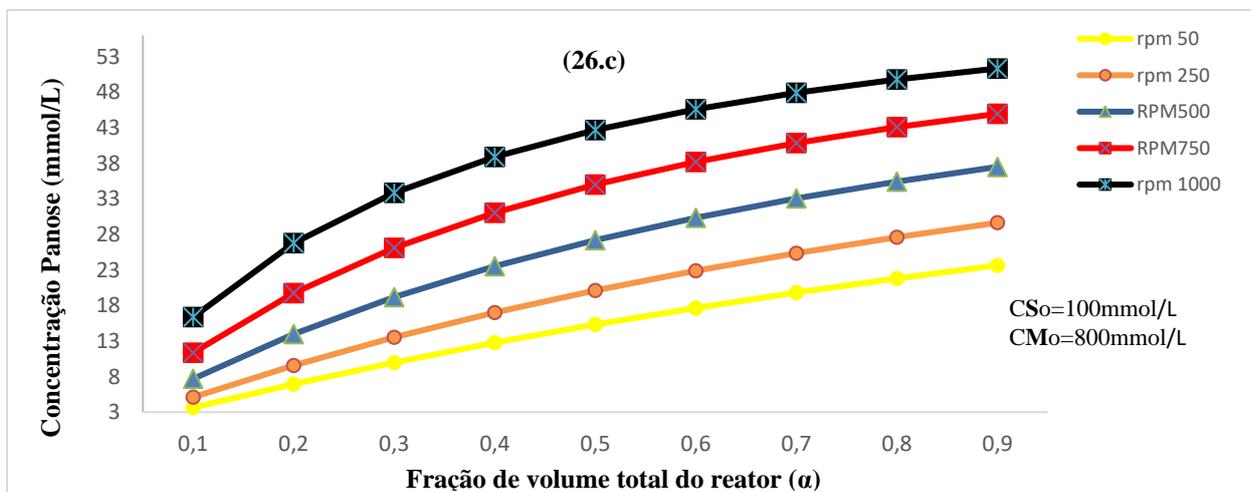
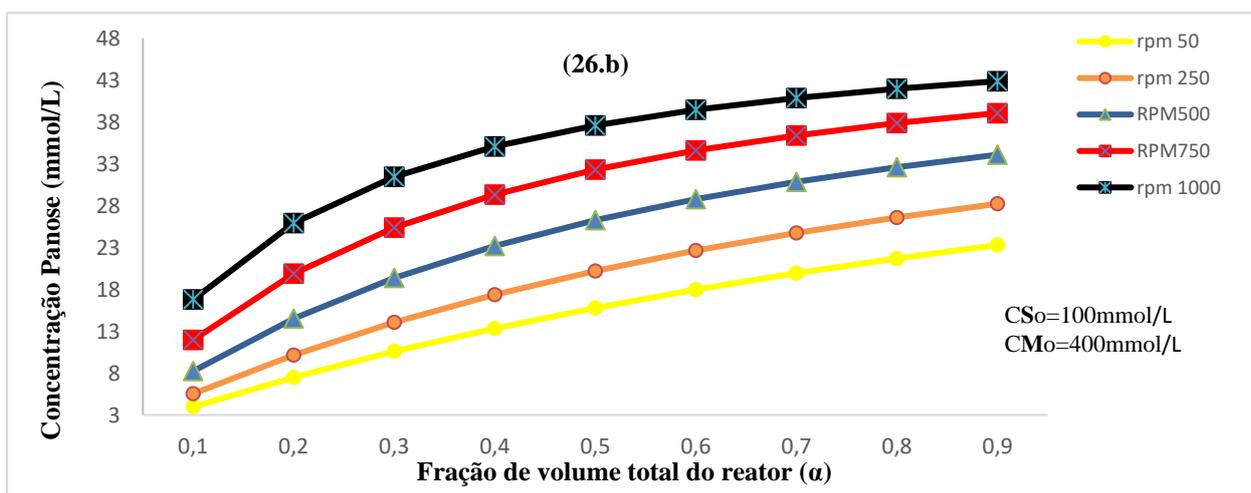
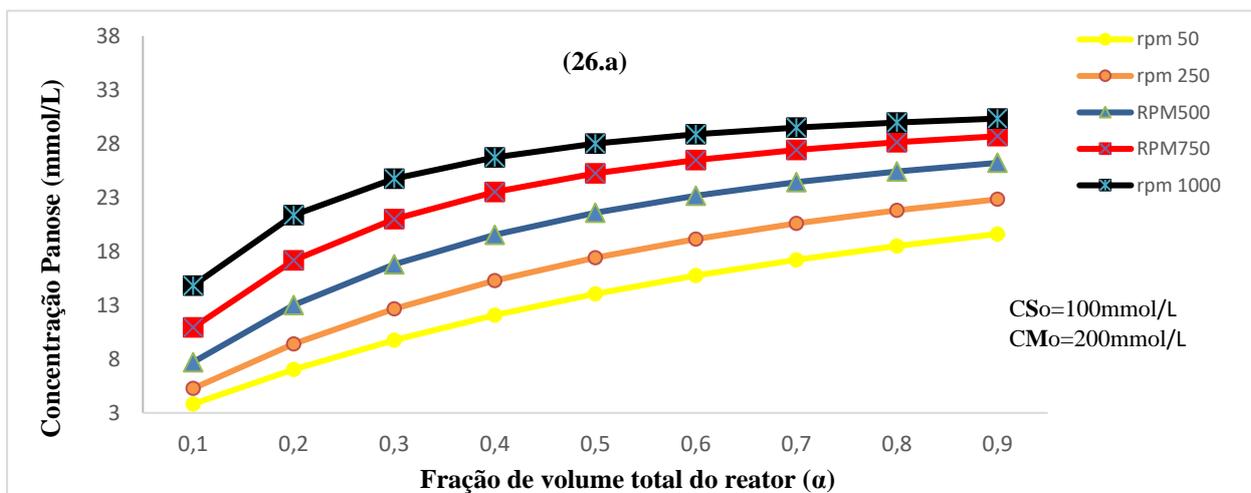
Fonte: Autor

Figura 25 – Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So}=400\text{ mmol/L}$).



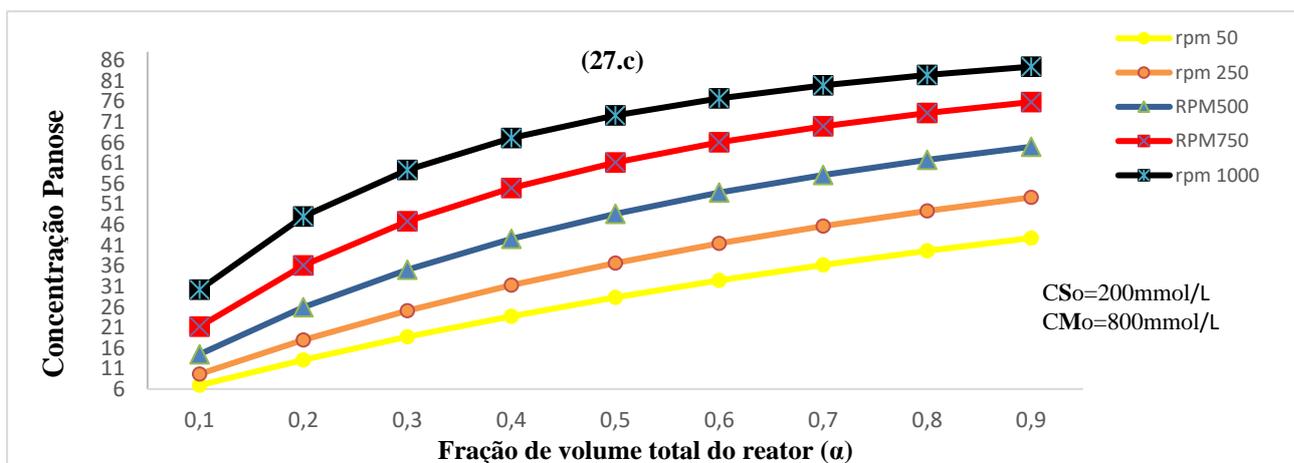
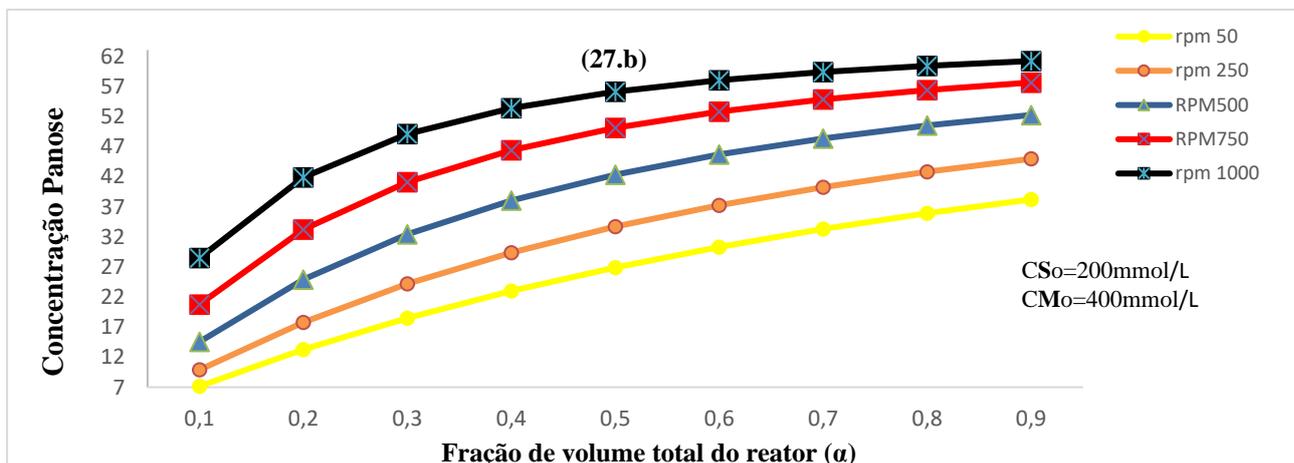
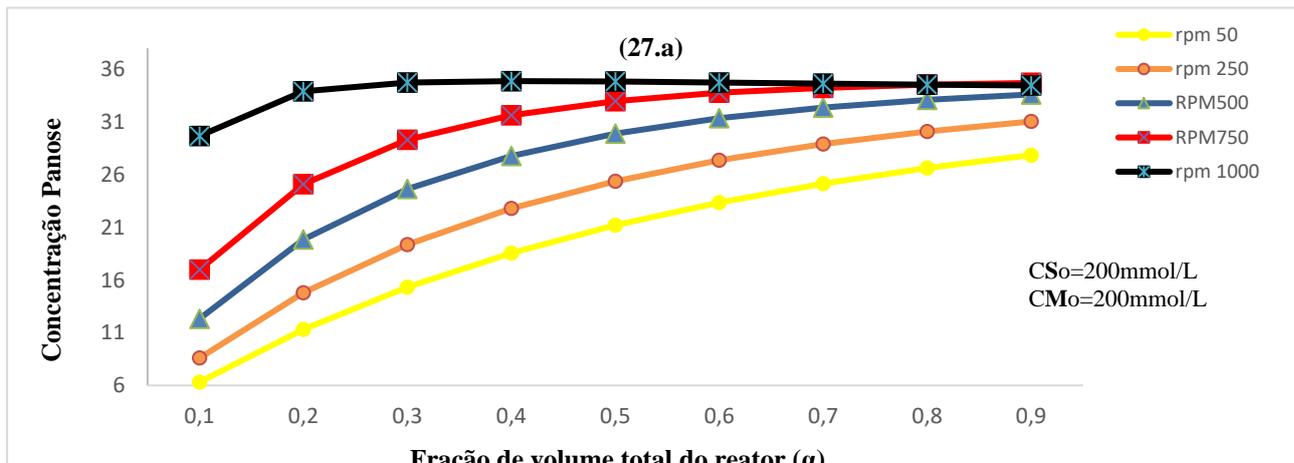
Fonte: Autor

Figura 26 – Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So} = 100\text{ mmol/L}$).



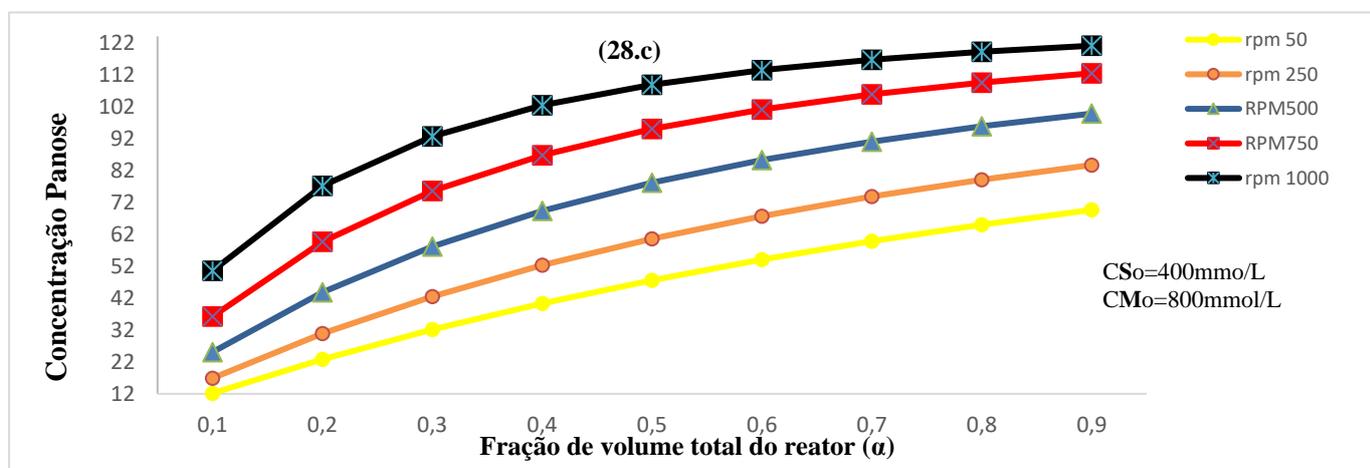
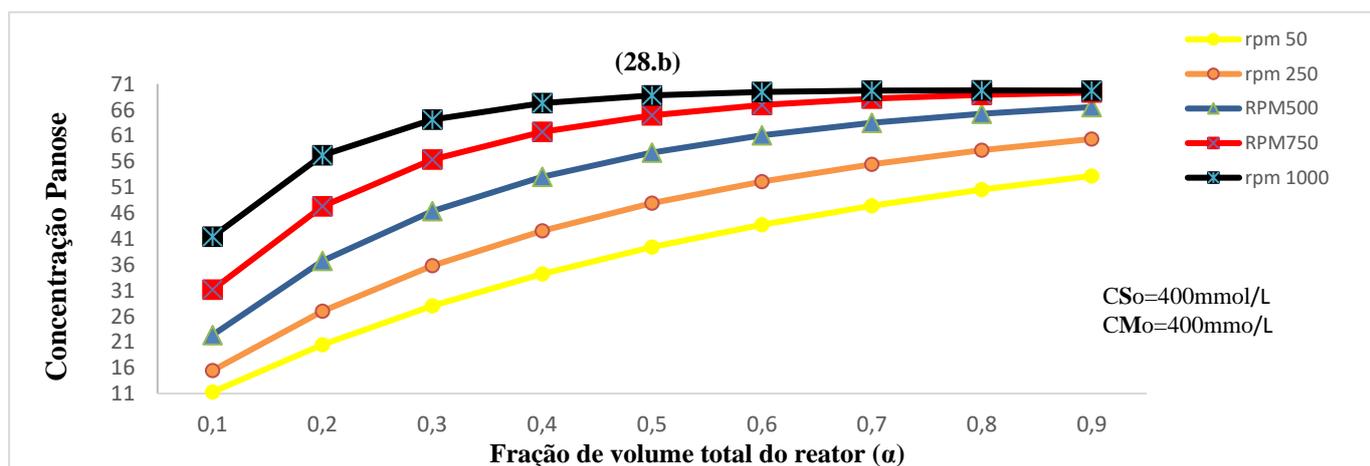
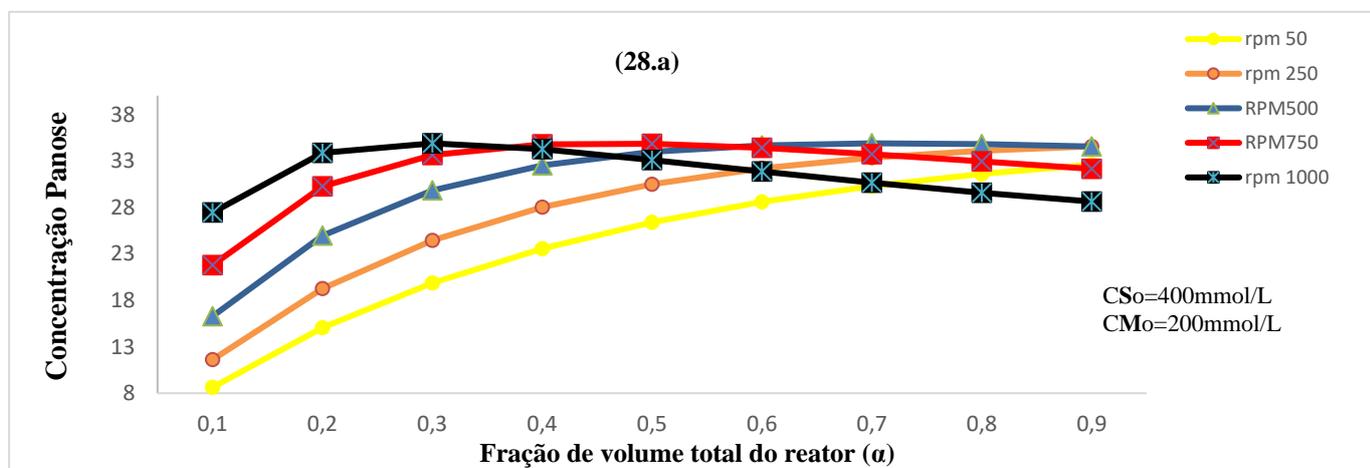
Fonte: Autor

Figura 27– Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05m^3/s$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So}=200\text{ mmol/L}$).



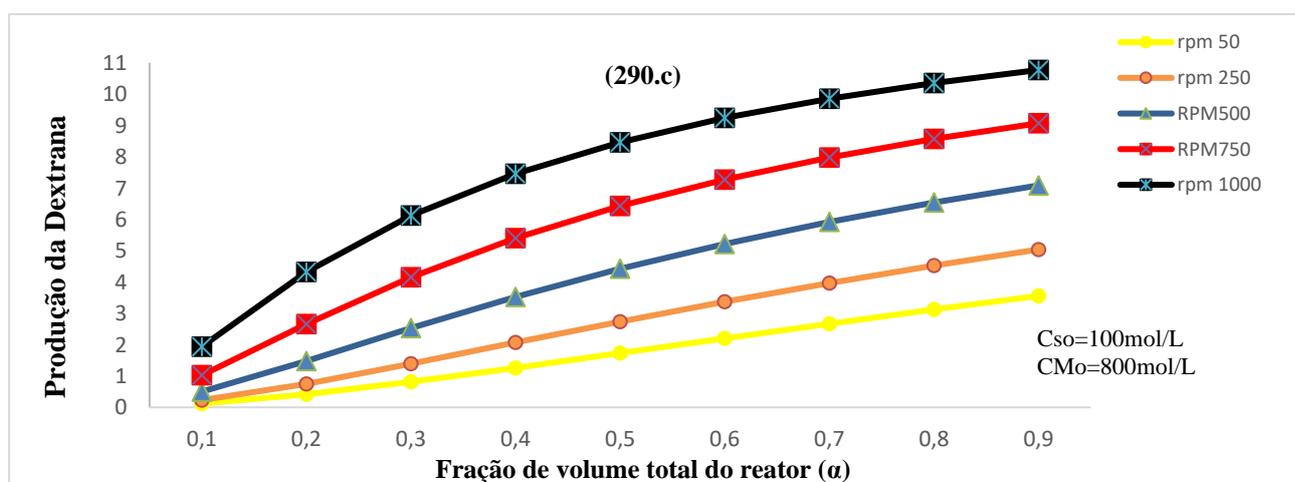
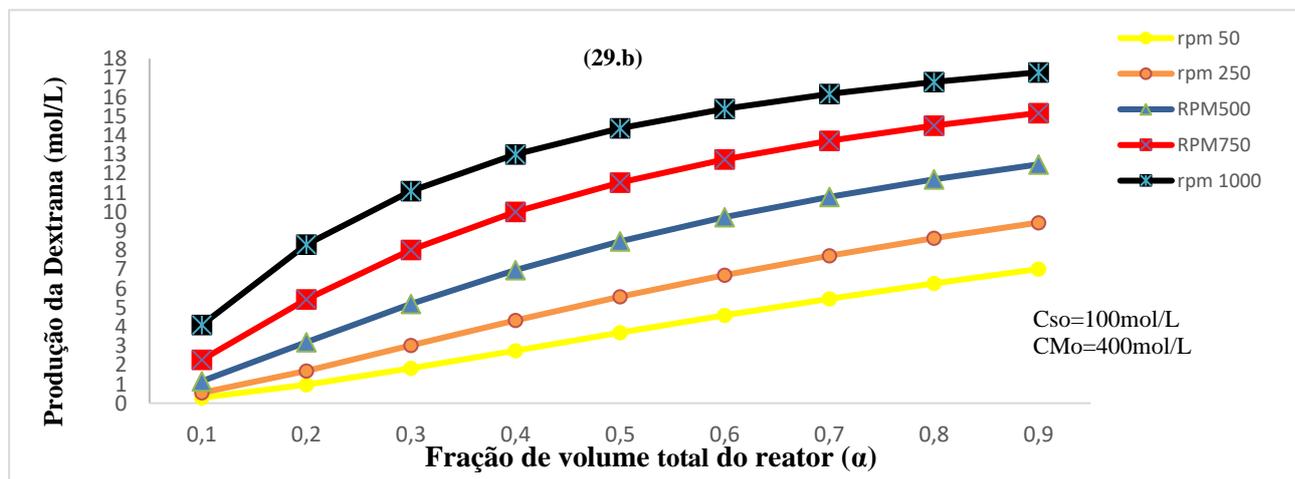
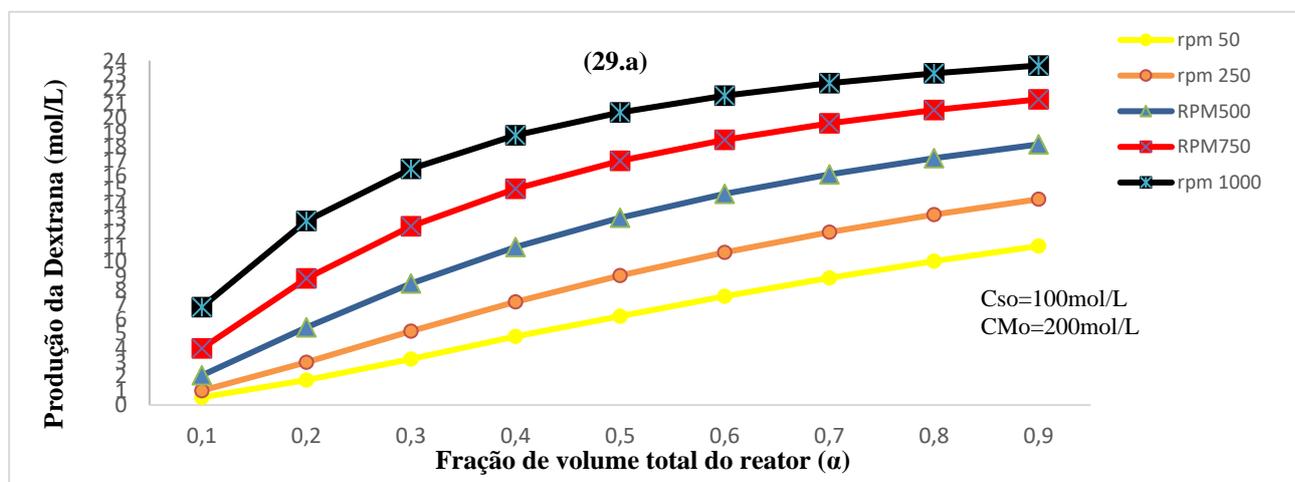
Fonte: Autor

Figura 28- Simulação para produção da panose para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato Sacarose ($C_{So}=400\text{ mmol/L}$).



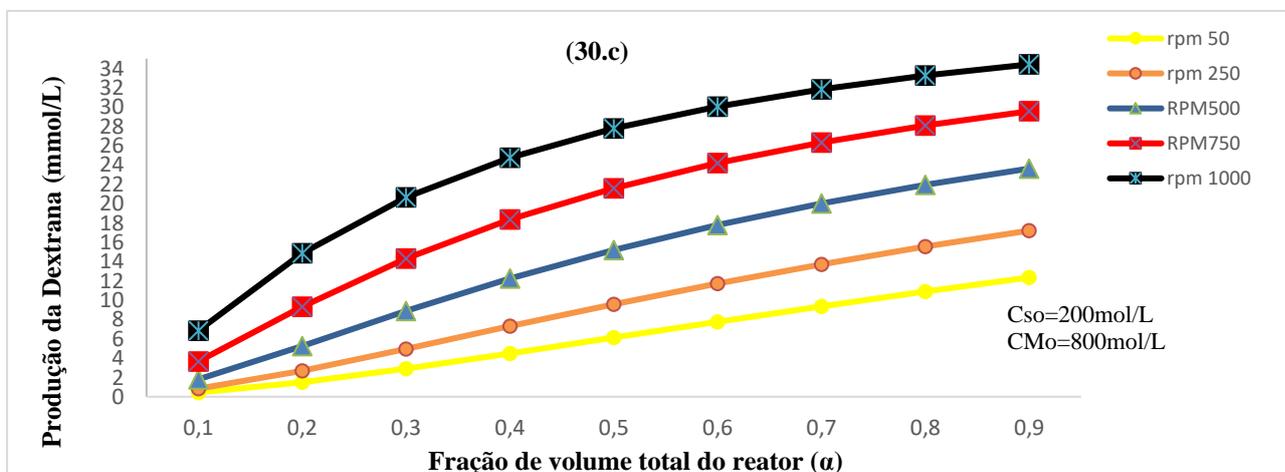
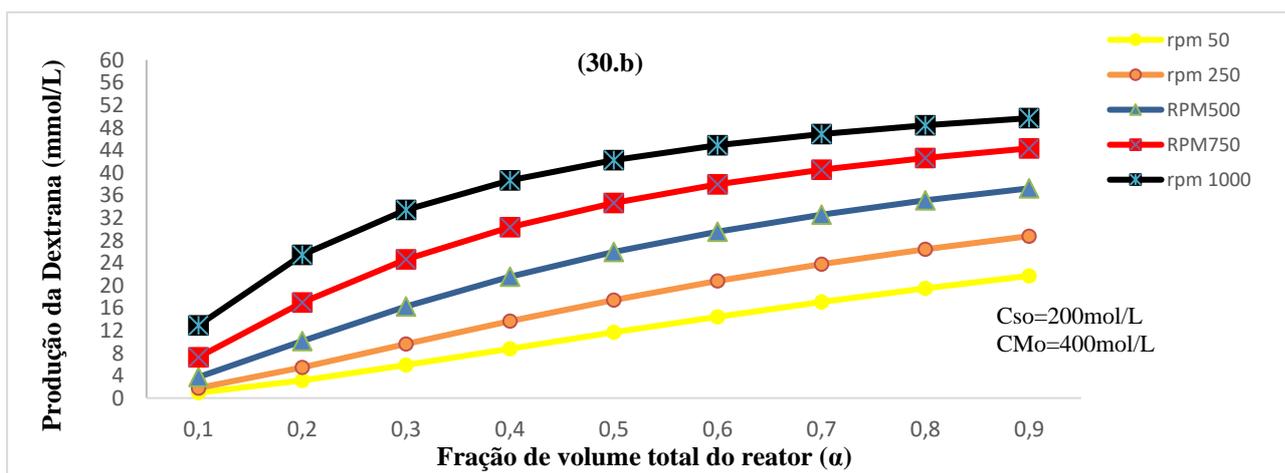
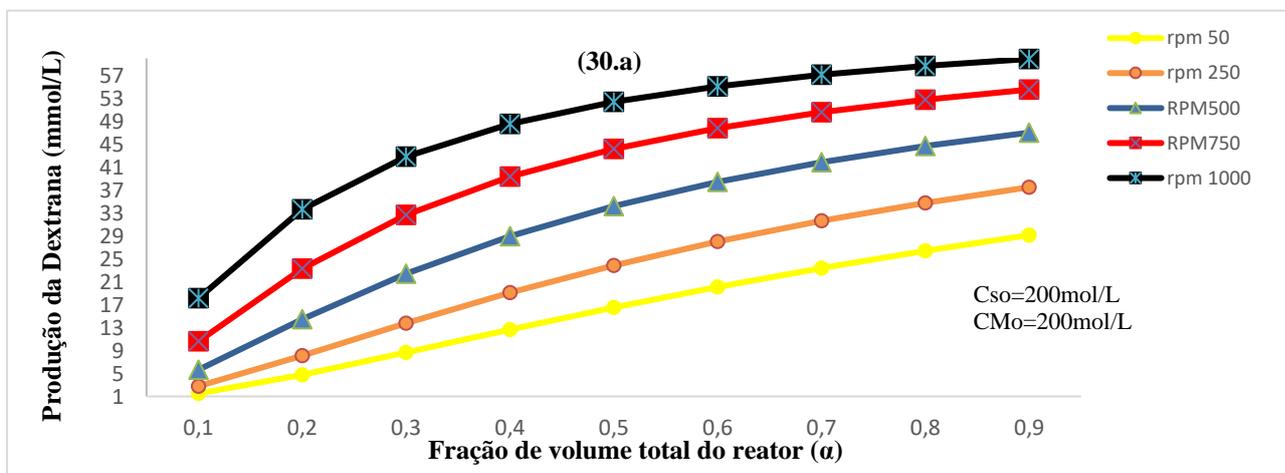
Fonte: Autor

Figura 29 – Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato Sacarose ($C_{so}=100\text{ mmol/L}$).



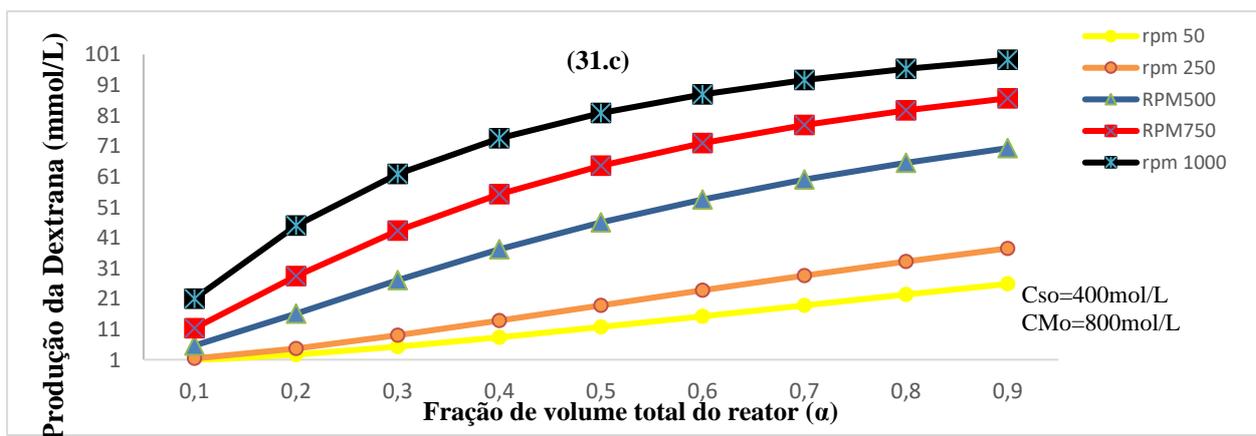
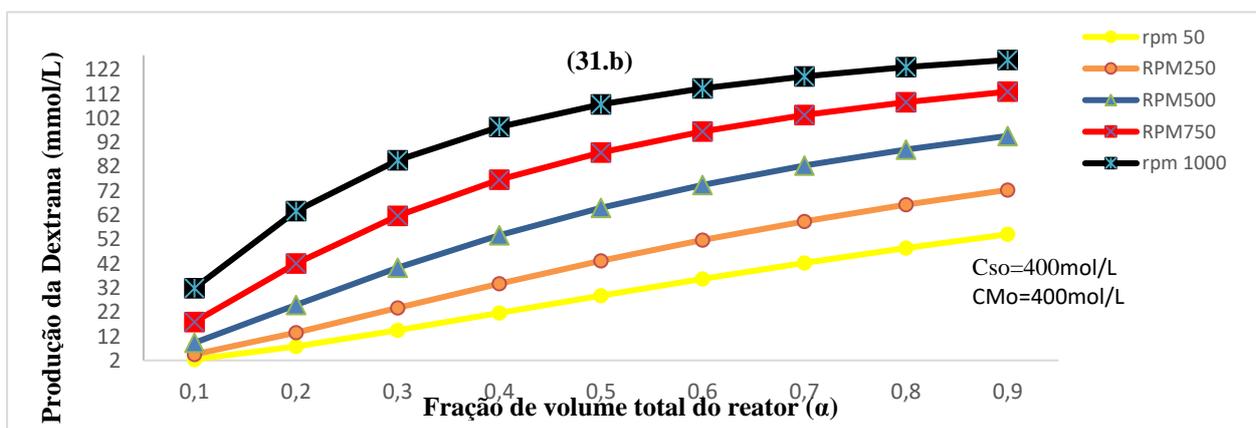
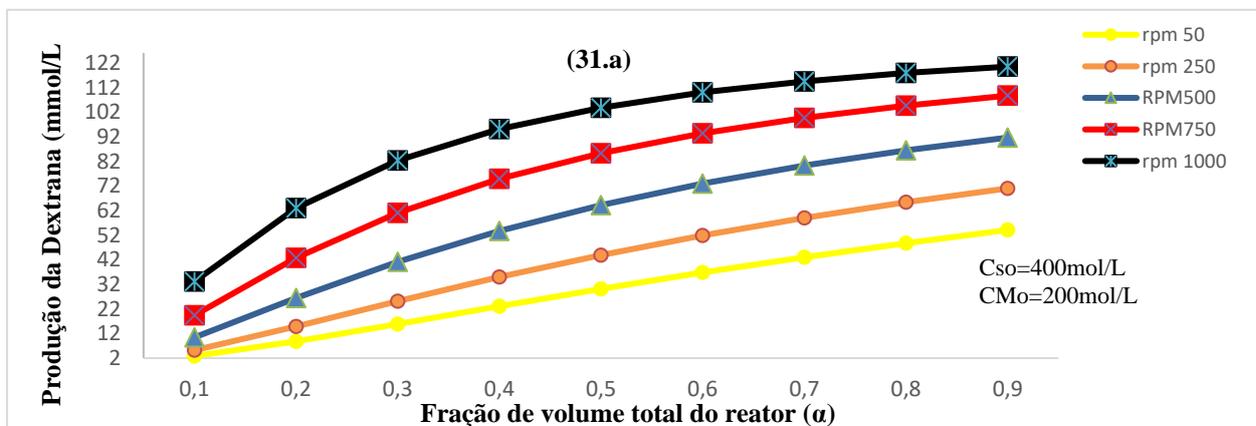
Fonte: Autor

Figura 30 – Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,025 \text{ m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato Sacarose ($C_{so} = 200 \text{ mmol/L}$).



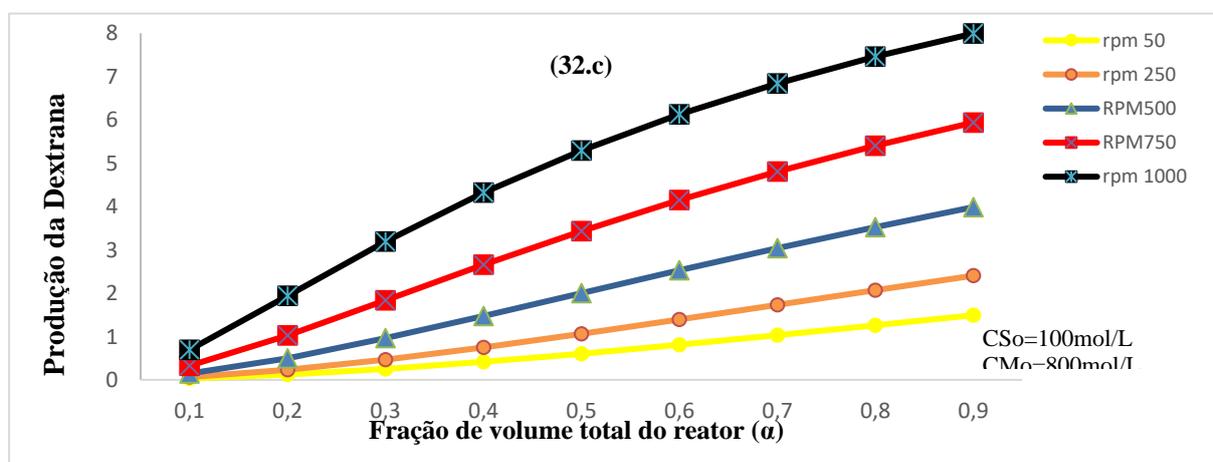
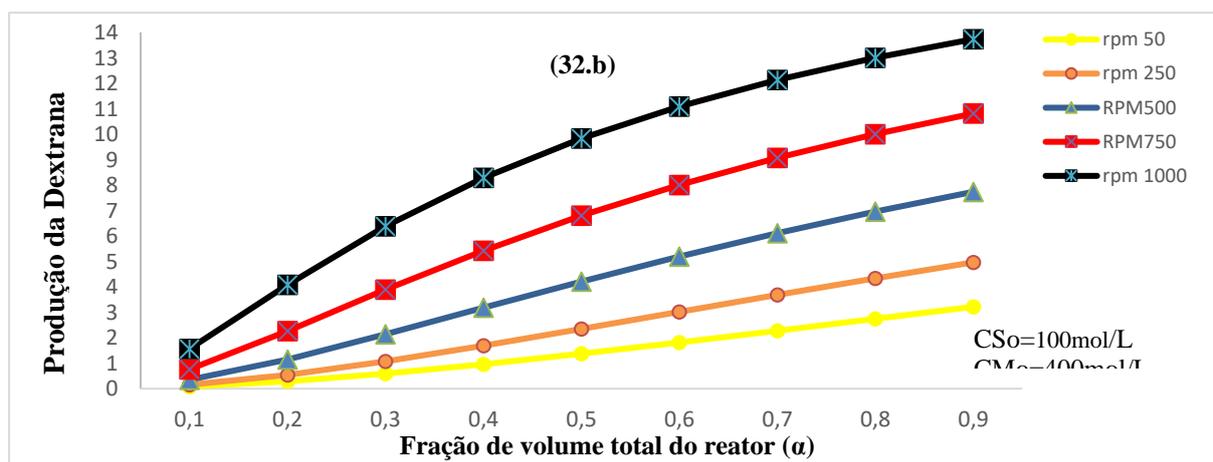
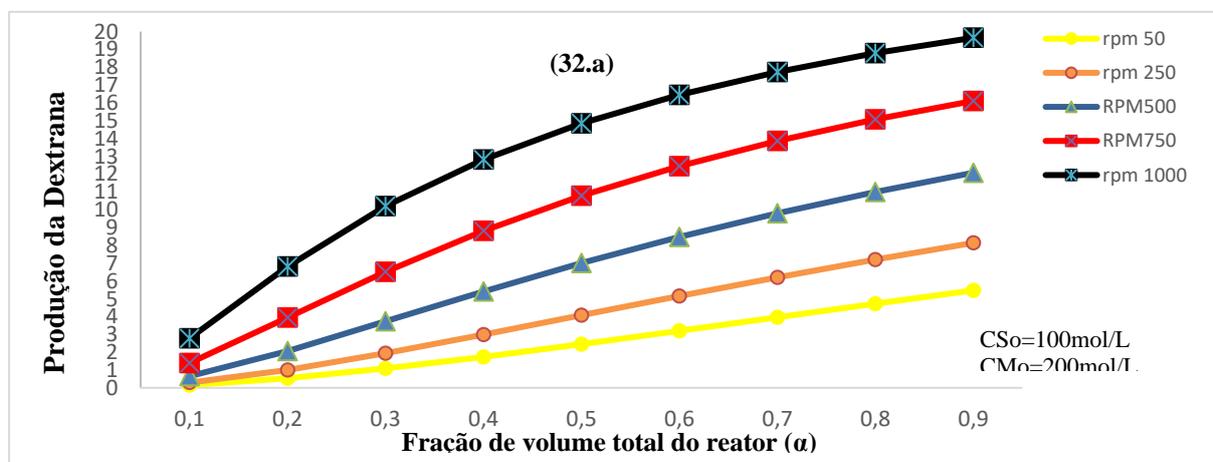
Fonte: Autor

Figura 31 – Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0= 0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{ mmol/L}$).



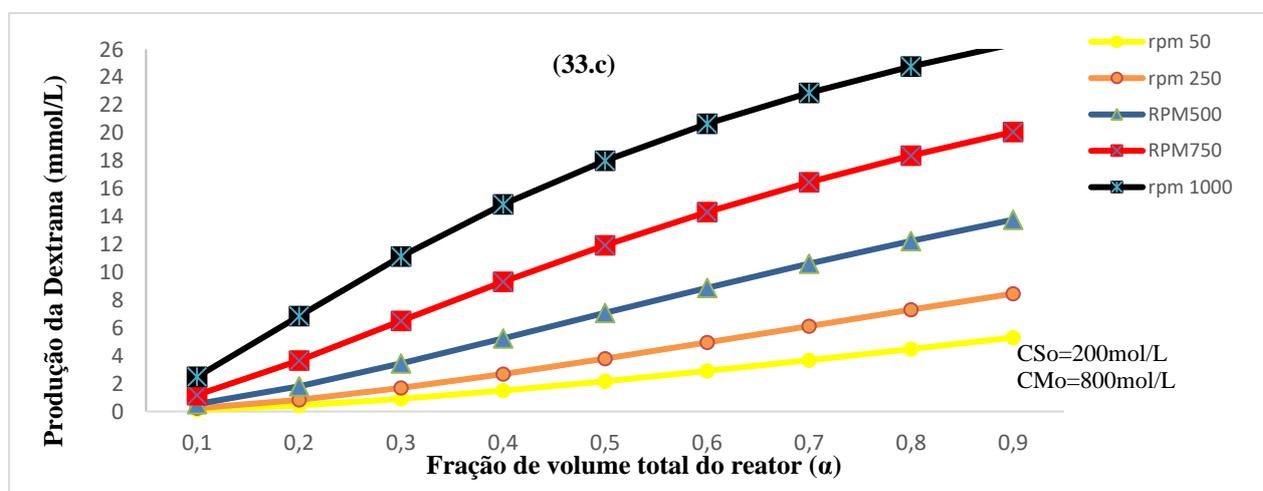
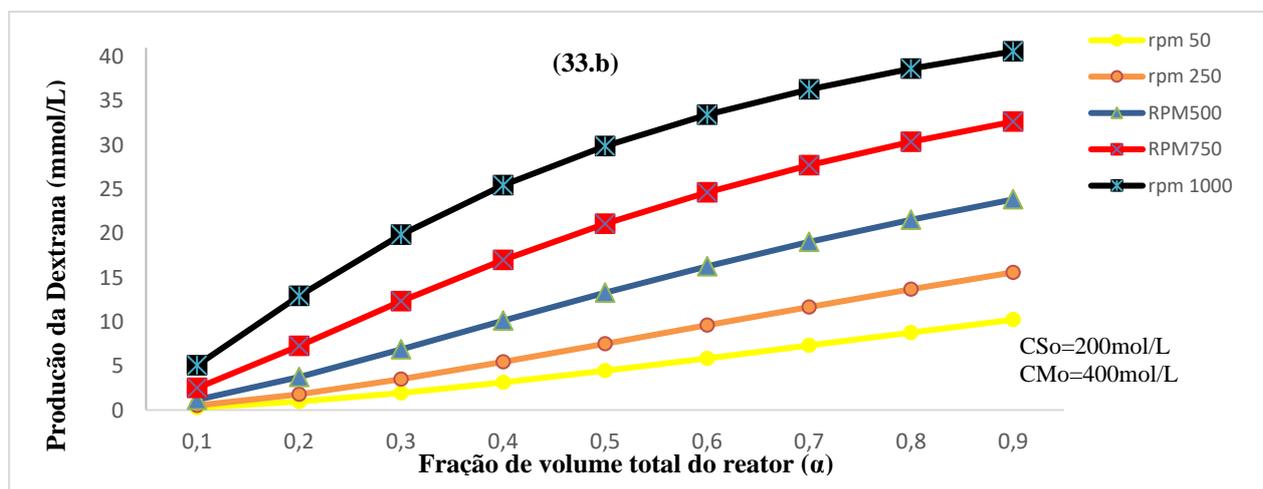
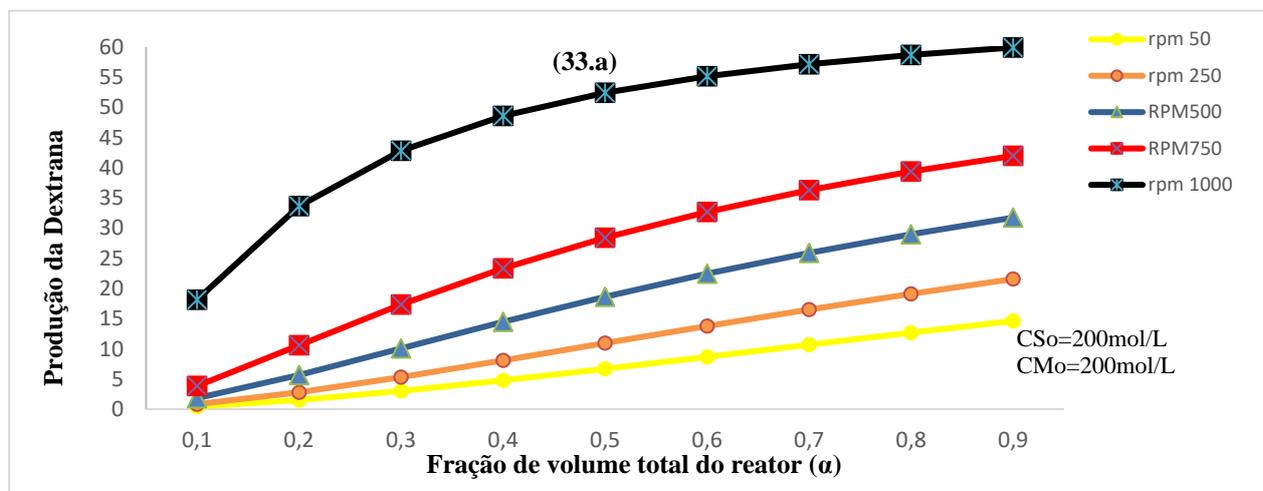
Fonte: Autor

Figura 32 – Simulação para produção da Dextrana para a vazão do Biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato Sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$).



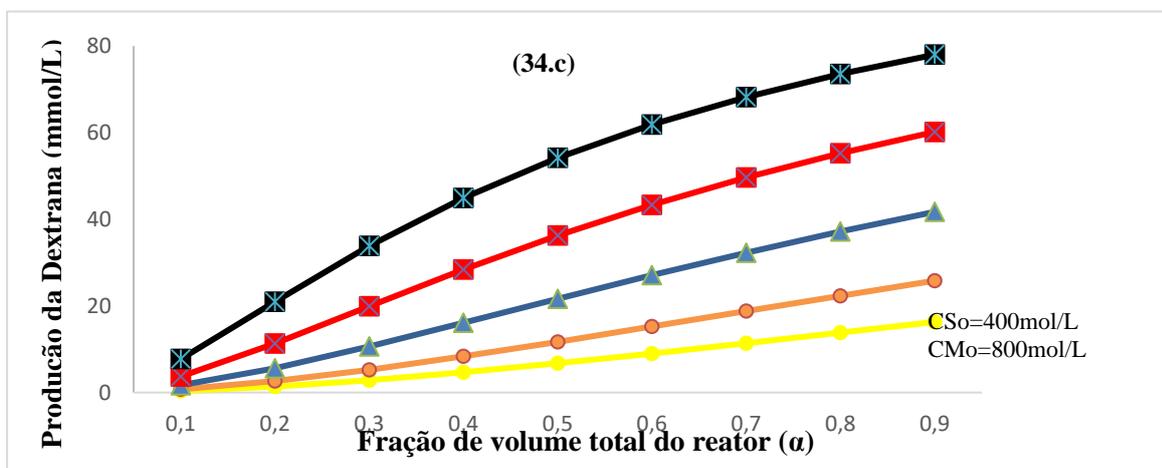
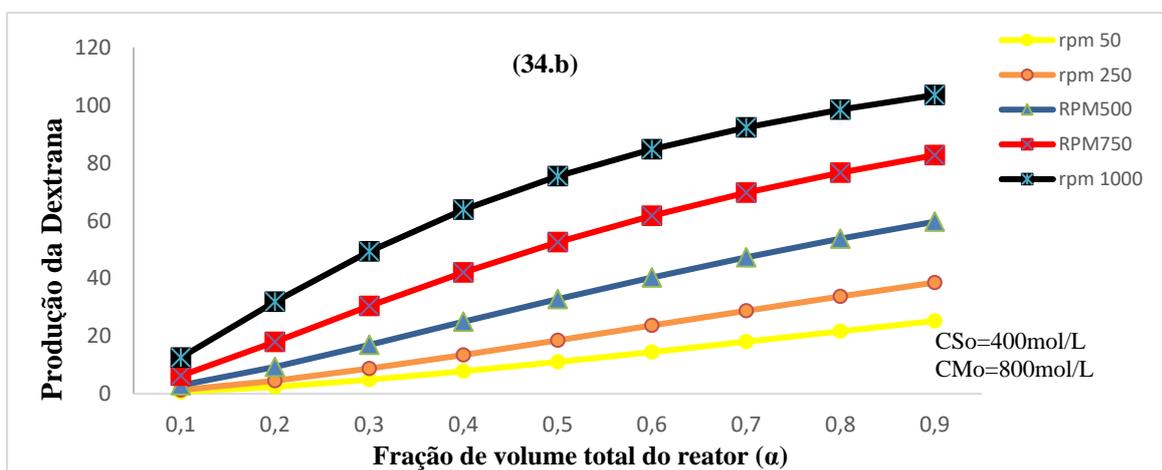
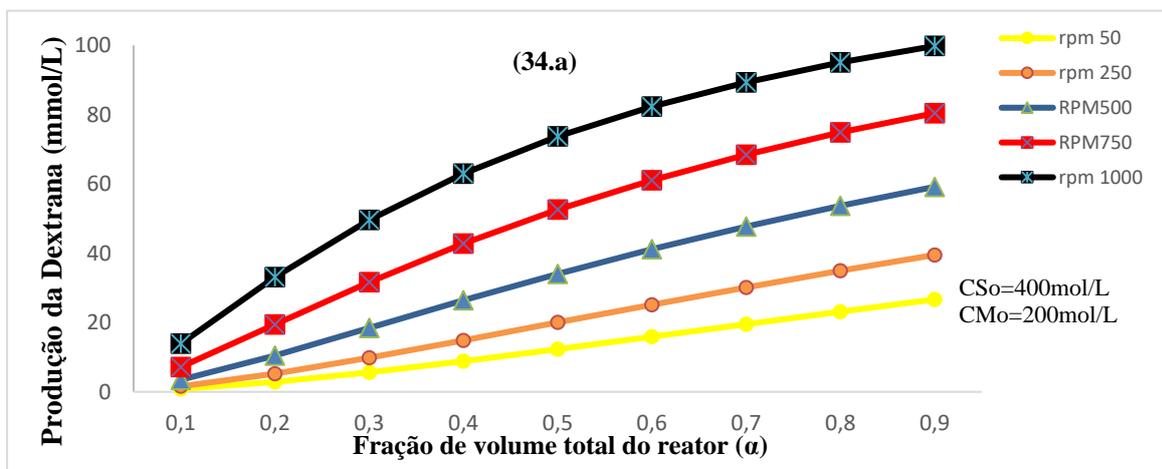
Fonte: Autor

Figura 33 – Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So} = 200\text{ mmol/L}$).



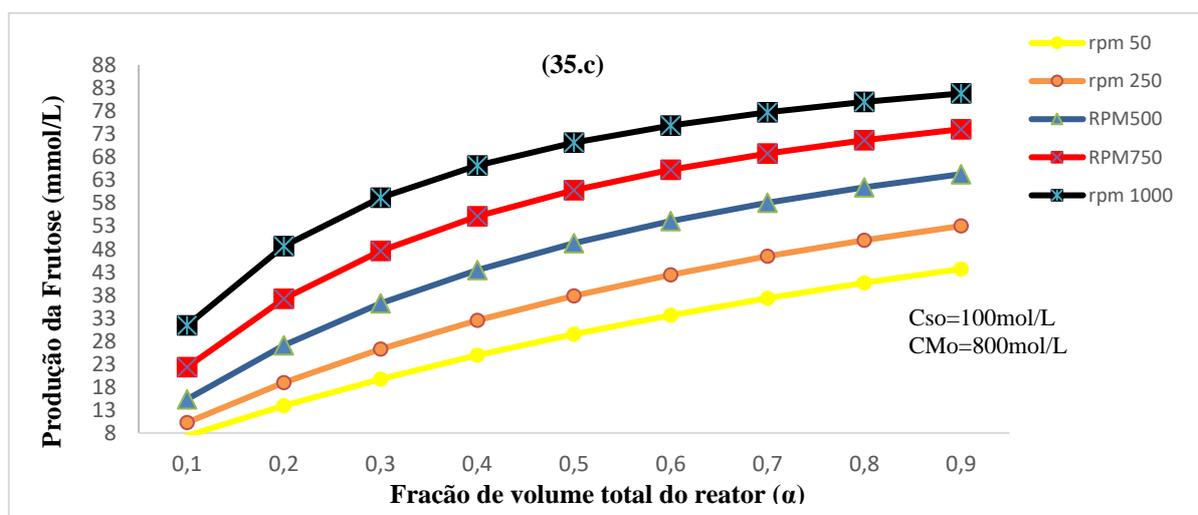
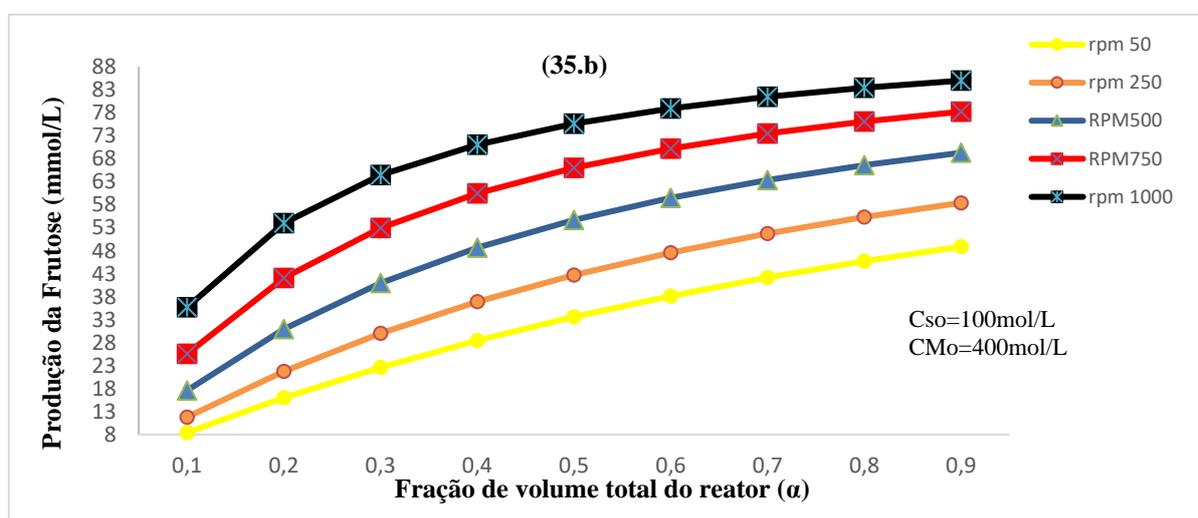
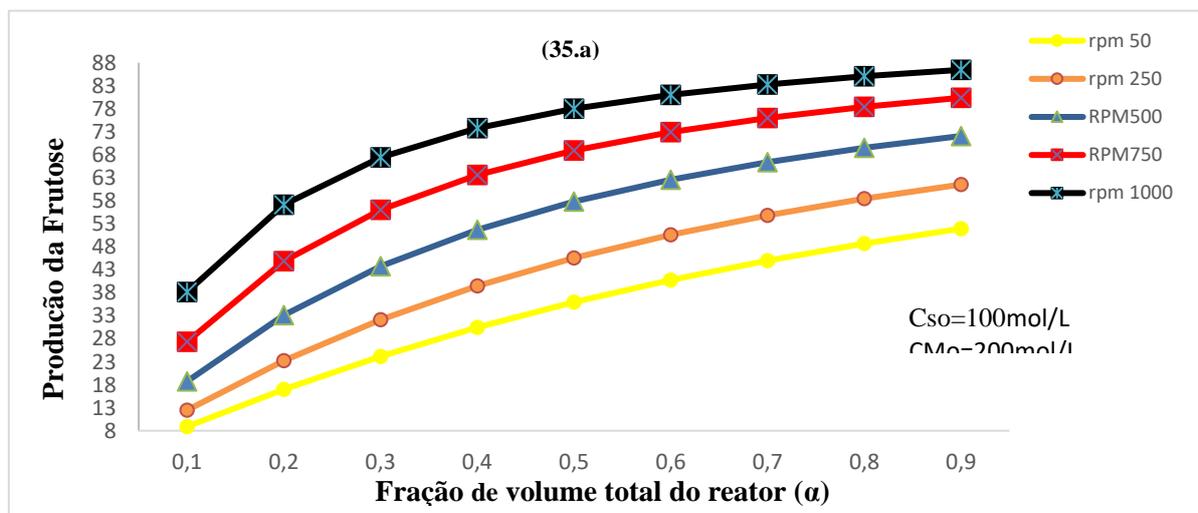
Fonte: Autor

Figura 34 – Simulação para produção da dextrana para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{So} = 400\text{ mmol/L}$).



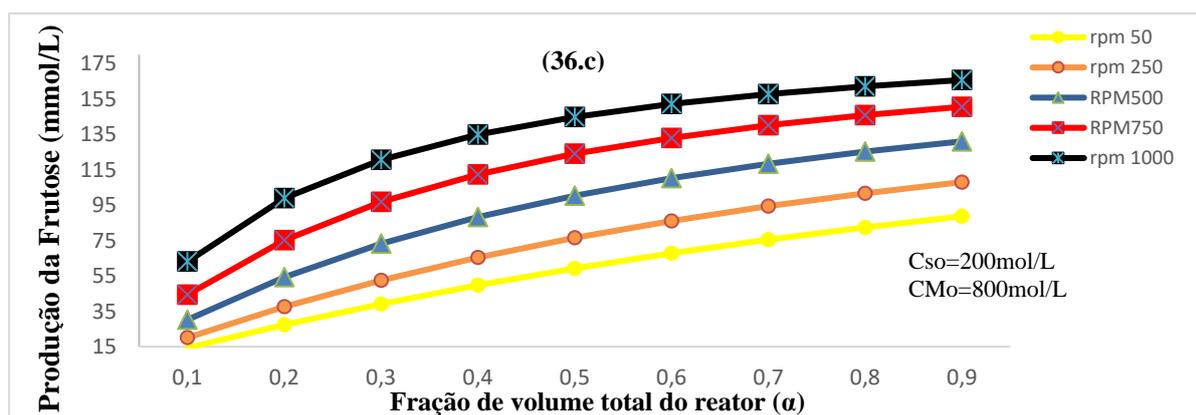
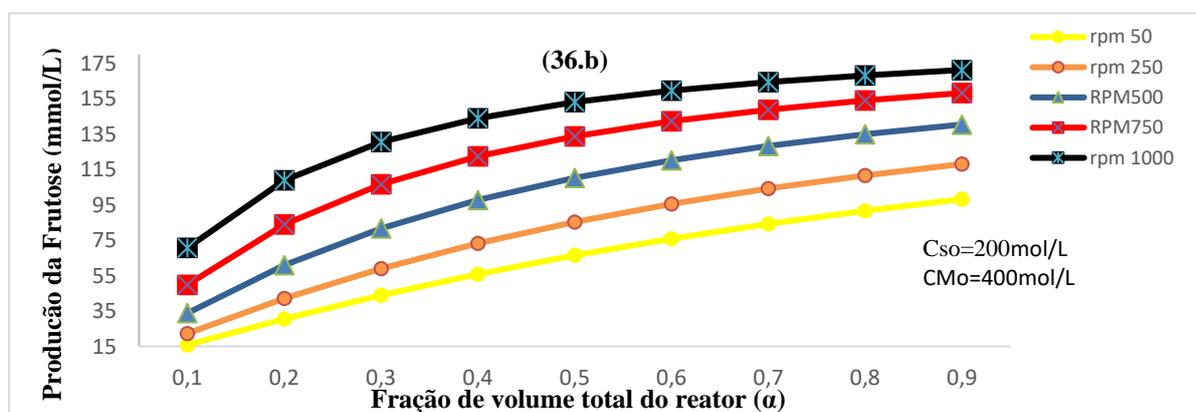
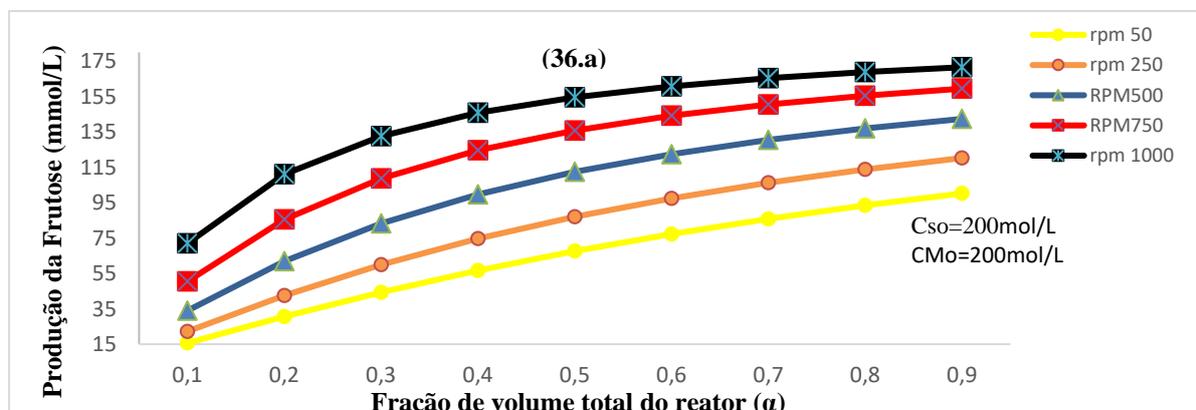
Fonte: Autor

Figura 35 – Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=100\text{mmol/L}$).



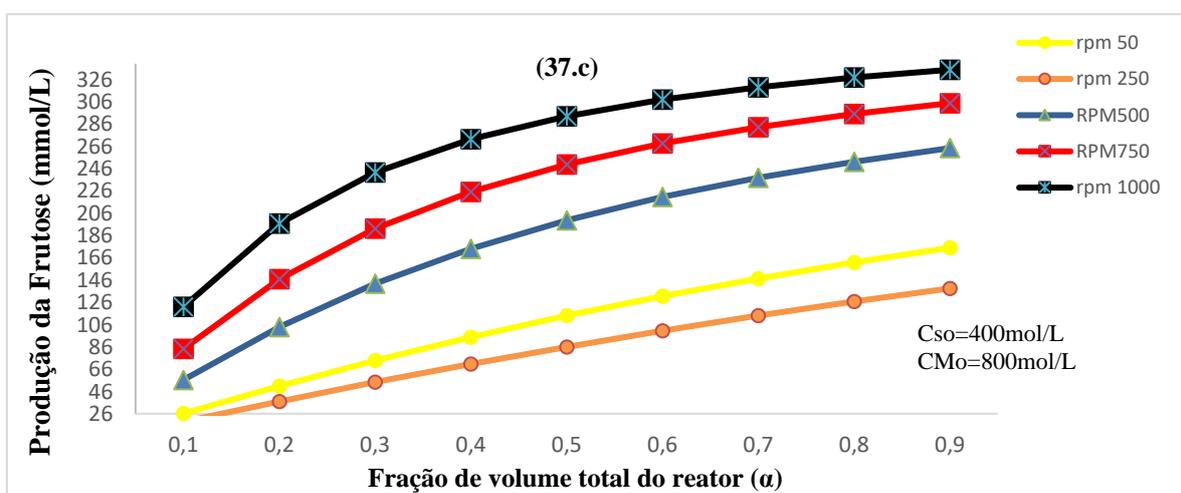
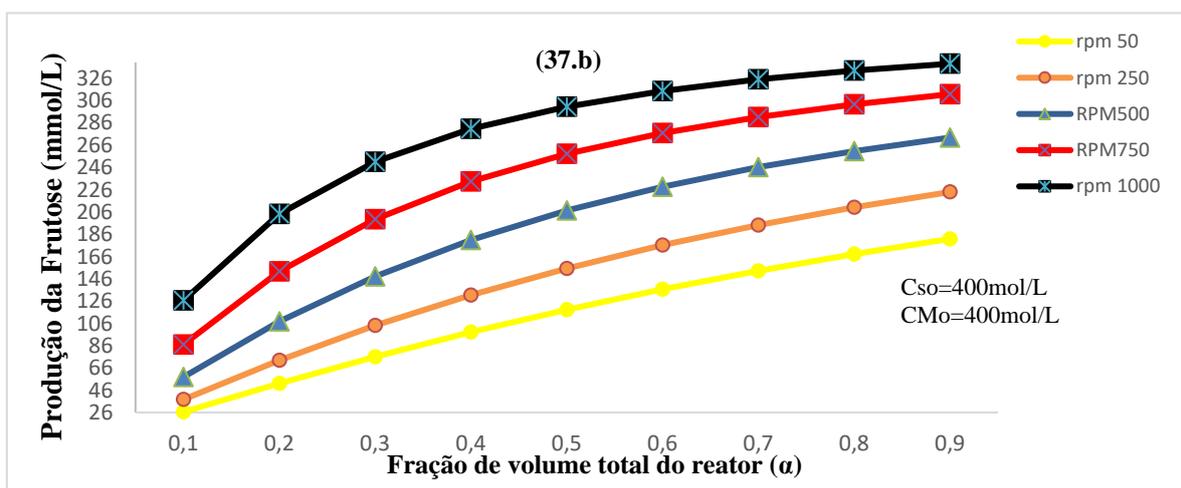
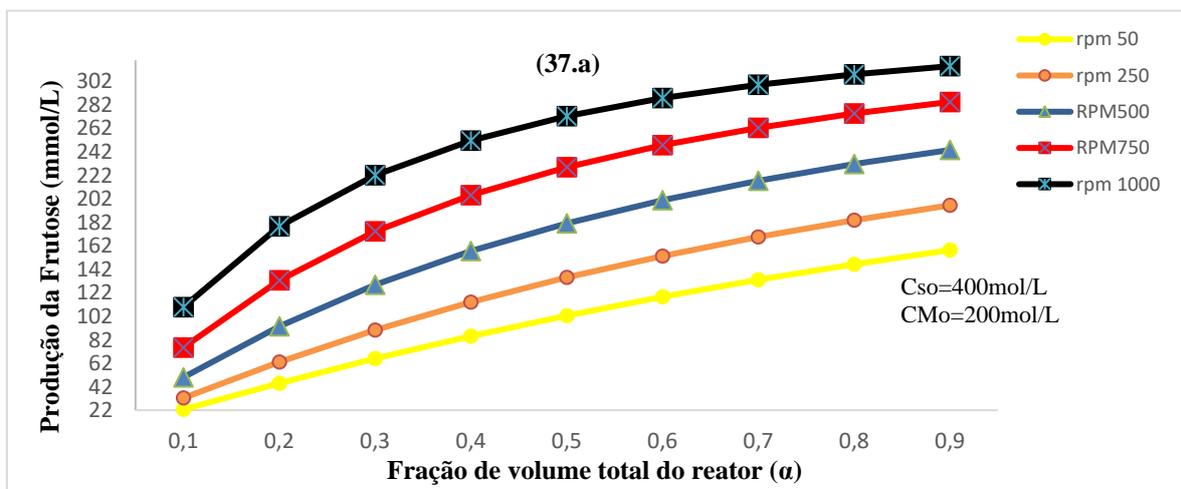
Fonte: Autor

Figura 36 – Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{ mmol/L}$).



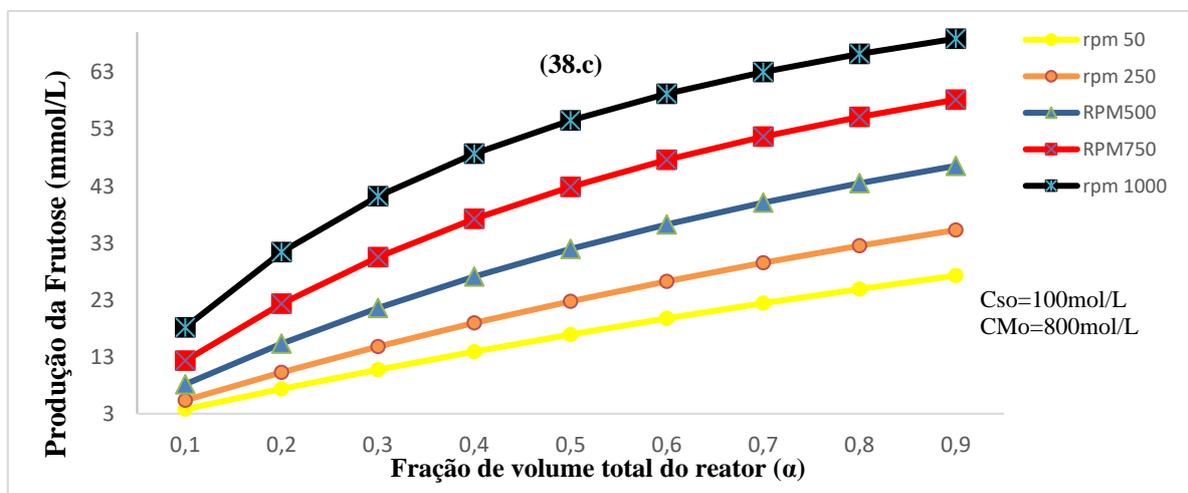
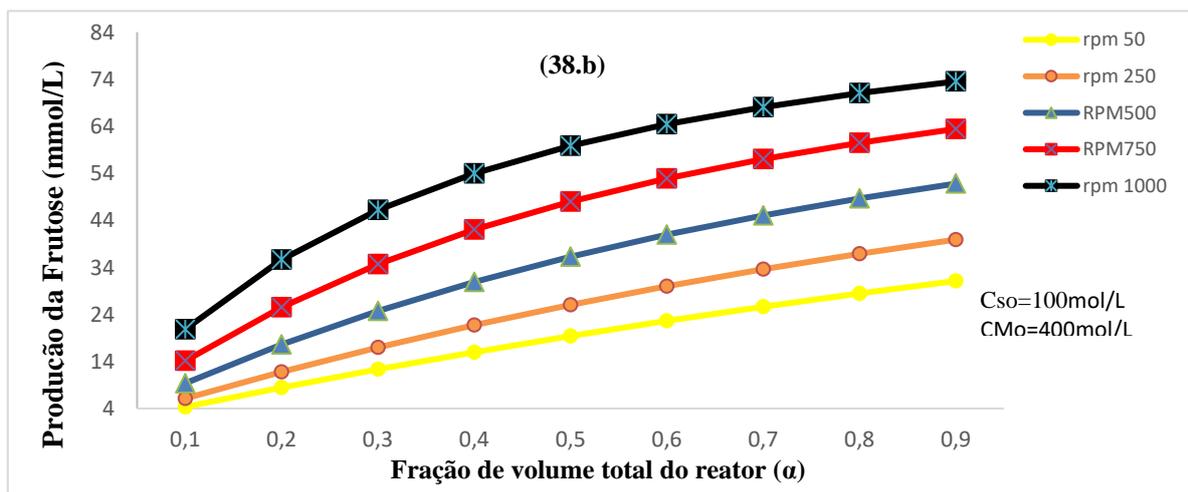
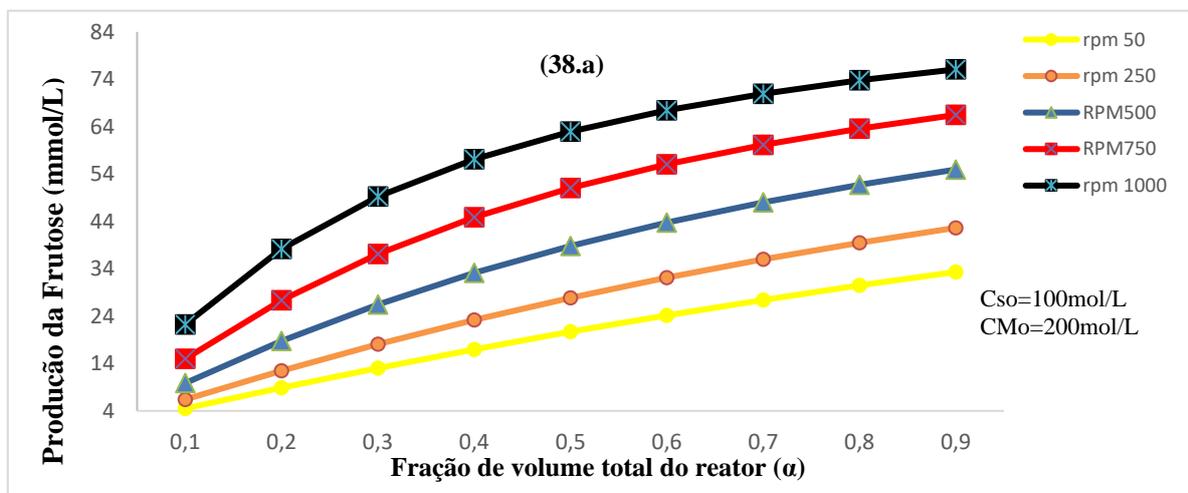
Fonte: Autor

Figura 37 – Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0=0,025\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{ mmol/L}$).



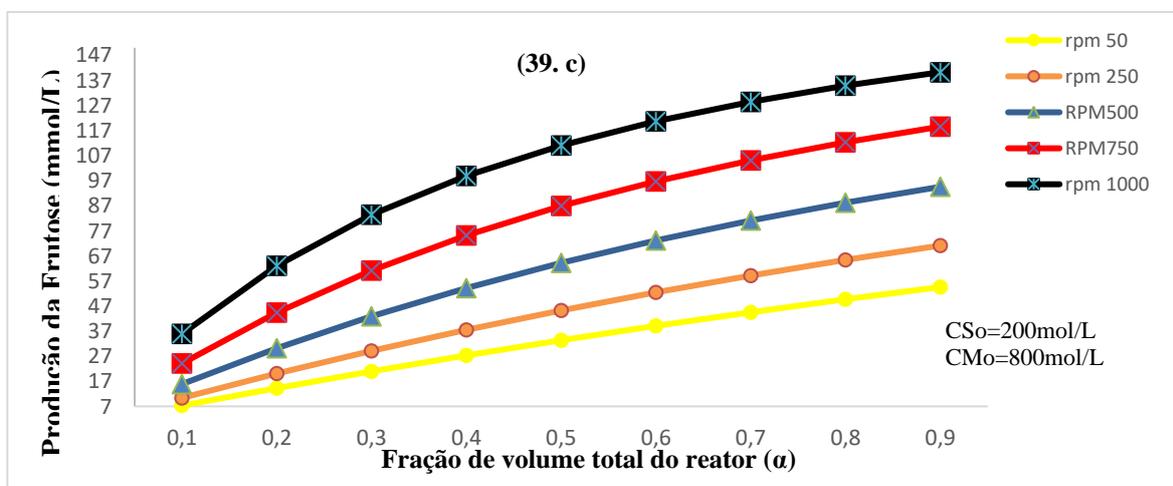
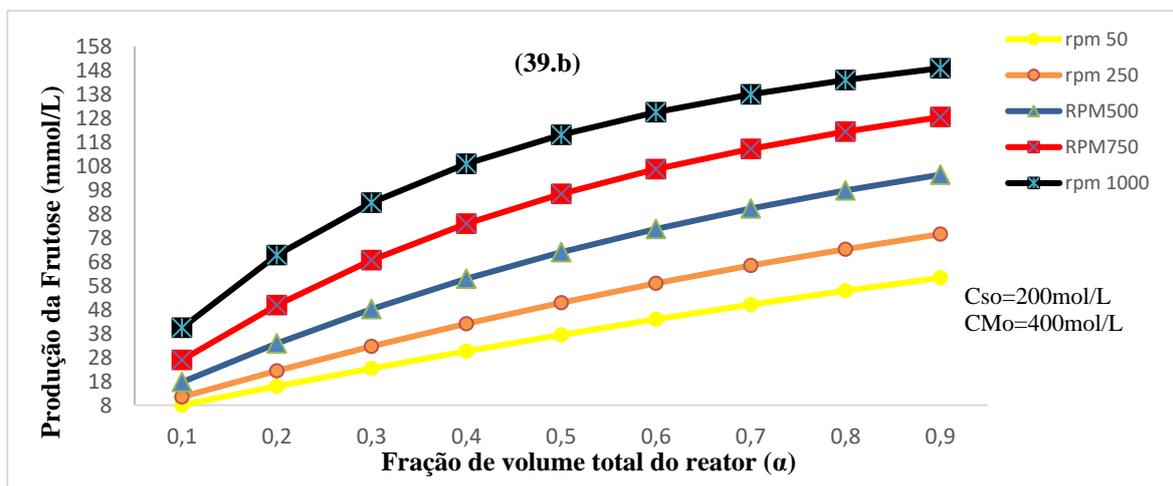
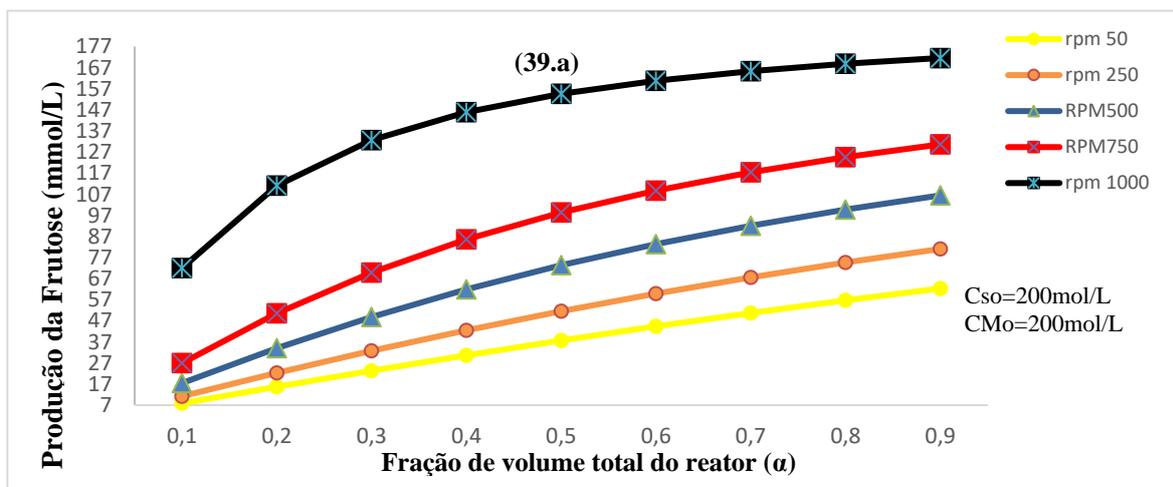
Fonte: Autor

Figura 38 – Simulação para produção da Frutose para a vazão do Biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato Sacarose ($C_{so}=100\text{ mmol/L}$).



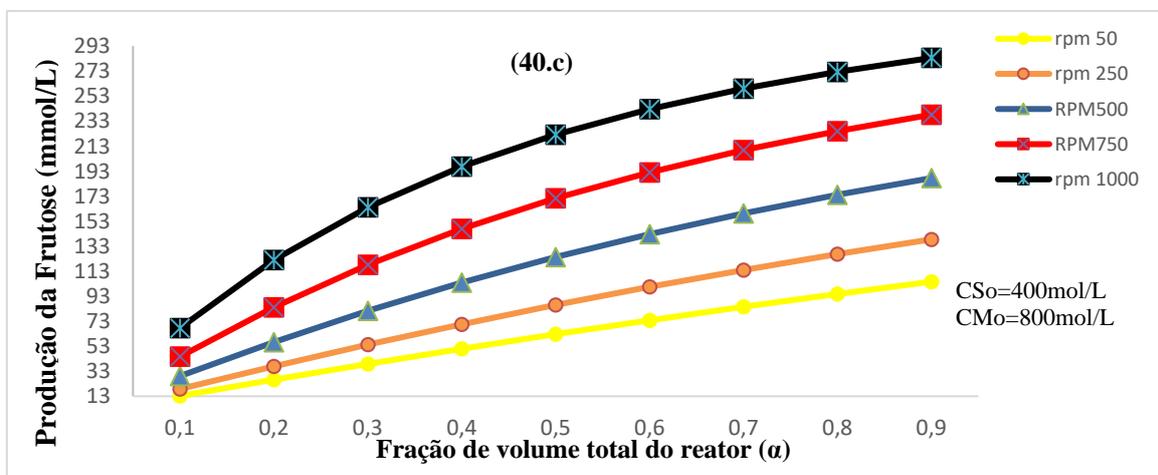
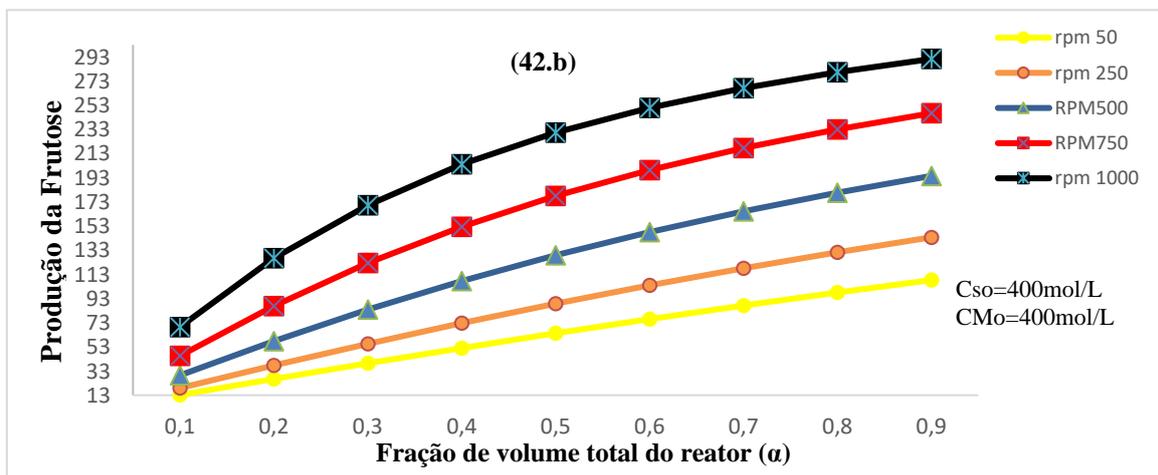
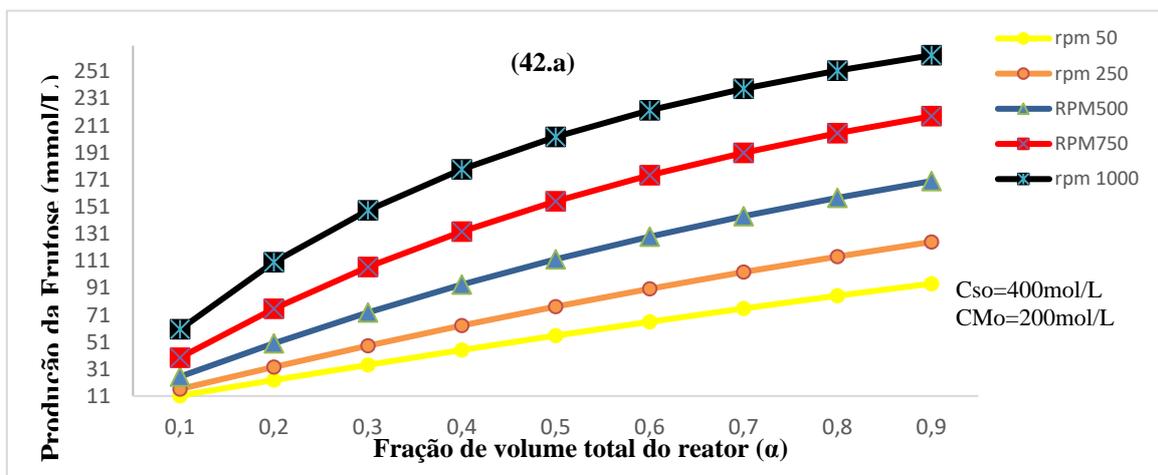
Fonte: Autor

Figura 39 – Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0= 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=200\text{ mmol/L}$).



Fonte: Autor

Figura 42 – Simulação para produção da frutose para a vazão do biorreator $Q_0 = 0,05\text{m}^3/\text{s}$ com concentração inicial do substrato sacarose ($C_{so}=400\text{ mmol/L}$).



Fonte: Autor

APÊNDICE B- CÁLCULO DO RENDIMENTO E PRODUTIVIDADE PARA REATORES (Rodrigues, 2005).

A porcentagem de sacarose consumida, bem como os rendimentos dos produtos (panose e dextrana) com base na quantidade inicial dos substratos (sacarose e maltose) podem ser calculados com base no número de moles de cada um dos substratos consumidos e o respectivo número de moles desses substratos incorporados em cada um dos produtos. Sendo assim tem-se:

Porcentagem de sacarose consumida na síntese:

$$\text{Sacarose Consumida} = \frac{(C_{S_0} - C_{S_f}) \times 100}{C_{S_0}}$$

Onde,

C_{S_0} = concentração inicial de sacarose

C_{S_f} = concentração final de sacarose

Rendimento em panose com base na sacarose consumida (R_{PS}):

$$\text{Rendimento da Panose} = \frac{(P_f) \times 100}{C_{S_0}}$$

Onde,

P_f = Frutose liberada na formação da panose

C_{S_0} = concentração inicial de sacarose

Rendimento em panose com base na maltose (R_{PM}):

$$\text{Rendimento da Panose} = \frac{(P_f) \times 100}{C_{M_0}}$$

Onde,

P_{fM} = Frutose liberada na formação da panose

C_{M_0} = concentração inicial de maltose

APÊNDICE C- EQUAÇÕES DIFERENCIAIS PARA O MODELO CINÉTICO

As equações constituintes do modelo cinético estudado neste trabalho, foram propostas por Heincke *et al.* (1999). Estas equações se baseiam no mecanismo de inserção para a síntese de dextrana (Robyt *et al.*, 1974).

1. Equações diferenciais para o modelo cinético da dextrana-sacarase

Consumo de sacarose (reação global)

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{p_1 \cdot S \cdot EG_i}{-p_{-1}S \cdot EG_i + p_5 \cdot S \cdot GEG_i - p_{-5}GESG_i} \quad (1)$$

Taxa de formação de frutose (reação global)

$$\frac{dF}{dt} = p_2 \cdot SEG_i + p_{-4} \cdot GEFG_i - p_4 \cdot F \cdot GEG_i \quad (2)$$

Taxa de consumo do Aceptor

$$-\frac{dA}{dt} = p_6 \cdot A \cdot GEG_i - p_{-6}GEAG_i \quad (3)$$

Produto primário de aceptor

$$\frac{dAG}{dt} = p_{13} \cdot GAG_i + p_{-7} \cdot GEAGG_i - p_7 \cdot GEG_i \cdot AG \quad (4)$$

Produto secundário de aceptor

$$\frac{dAG_2}{dt} = p_{15} \cdot GEAGG_i + p_{-8} \cdot GEAG_2G_i - p_8 \cdot GEG_i \cdot AG_2 \quad (5)$$

Produto terciário de aceptor

$$\frac{dGA_3}{dt} = p_{17} \cdot GEAG_2G_i \quad (6)$$

Formação de leucrose

$$\frac{dFG}{dt} = p_9 \cdot GEFG_i \quad (7)$$

2. Equações diferenciais para os complexos enzimáticos intermediários (exceto: EGi e GEGi)

$$\frac{dSEGi}{dt} = p1 \cdot S \cdot EGi - (p_{-1} + p2) \cdot SEGi \quad (8)$$

$$\frac{dGEFGi}{dt} = p4 \cdot F \cdot GEGi - (p_{-4} + p9 + p10) \cdot GEFGi \quad (9)$$

$$\frac{dGESGi}{dt} = p5 \cdot S \cdot GEGi - p_{-5} \cdot GESGi \quad (10)$$

$$\frac{dGEAGi}{dt} = p6 \cdot A \cdot GEGi - (p_{-6} + p13 + p14) \cdot GEAGi \quad (11)$$

$$\frac{dGEAGGi}{dt} = p7 \cdot AG \cdot GEGi - (p_{-7} + p15 + p16) \cdot GEAGGi \quad (12)$$

$$\frac{dGEAG2Gi}{dt} = p8 \cdot AG2 \cdot GEGi - (p_{-8} + p17 + p18) \cdot GEAG2Gi \quad (13)$$

$$\frac{dAEGi}{dt} = p19 \cdot A \cdot EGi - p_{-19} \cdot AEGi \quad (14)$$

$$\frac{dAGEGi}{dt} = p20 \cdot AG \cdot EGi - p_{-20} \cdot AGEGi \quad (15)$$

$$\frac{dAG2EGi}{dt} = p21 \cdot AG2 \cdot EGi - p_{-21} \cdot AG2EGi \quad (16)$$

$$\frac{dAG3EGi}{dt} = p22 \cdot AG3 \cdot EGi - p_{-22} \cdot AG3EGi \quad (17)$$

$$\frac{dAGiEGi}{dt} = p23 \cdot AGi \cdot EGi - p_{-23} \cdot AGiEGi \quad (18)$$

3. Balanço de enzima

$$E_o = EG_i + SEG_i + GEG_i + GEFG_i + GEAG_i + GEAGG_i + GEAG2G_i + GESG_i + AEG_i + AGEG_i + AG2EG_i + AG3EG_i + AG_iEG_i \quad (19)$$

Supondo estado estacionário para as equações de 8 a 18 tem-se:

$$SEG_i = \frac{p_1}{(p_{-1} + p_2) \cdot S \cdot EG_i} \quad (20)$$

$$GEFG_i = \frac{p_4}{(p_{-4} + p_9 + p_{10}) \cdot F \cdot GEG_i} \quad (21)$$

$$GESG_i = \frac{p_5}{p_{-5} \cdot S \cdot GEG_i} \quad (22)$$

$$GEAG_i = \frac{p_6}{(p_{-6} + p_{13} + p_{14}) \cdot A \cdot GEG_i} \quad (23)$$

$$GEAGG_i = \frac{p_7}{(p_{-7} + p_{15} + p_{16}) \cdot AG \cdot GEG_i} \quad (24)$$

$$GEAG2G_i = \frac{p_8}{(p_{-8} + p_{17} + p_{18}) \cdot AG2 \cdot GEG_i} \quad (25)$$

$$AEG_i = \frac{p_{19}}{p_{-19} \cdot A \cdot EG_i} \quad (26)$$

$$AGEG_i = \frac{p_{20}}{p_{-20} \cdot AG \cdot EG_i} \quad (27)$$

$$AG2EG_i = \frac{p_{21}}{p_{-21} \cdot AG2 \cdot EG_i} \quad (28)$$

$$AG3EG_i = \frac{p_{22}}{p_{-22} \cdot AG3 \cdot EG_i} \quad (29)$$

$$AG_iEG_i = \frac{p_{23}}{p_{-23} \cdot AG_i \cdot EG_i} \quad (30)$$

4. Balanço de massa para o complexo enzimático intermediário EGi de acordo com o Esquema

$$\frac{dEGi}{dt} = \begin{aligned} & p_{-1} \cdot SEGi + p_3 \cdot GEGi + (p_9 + p_{10}) \cdot GEFGi + (p_{11} + p_{12}) \cdot H_2 \cdot GEGi \\ & + (p_{13} + p_{14}) \cdot GEAGi + (p_{15} + p_{16}) \cdot GEAGGi + (p_{17} + p_{18}) \cdot GEAGi \\ & + p_{-19} \cdot AEGi + p_{-20} \cdot AGEGi + p_{-21} \cdot AG2Gi + p_{-22} \cdot AG3Gi + p_{-23} \cdot AGiEGi \\ & + p_1 \cdot S \cdot EGi - p_{19} \cdot A \cdot EGi - p_{21} \cdot AG2 \cdot EGi - p_{23} \cdot AGi \cdot EGi \end{aligned} \quad (31)$$

Combinando as Equações (31) e (20) e substituindo na Equação (30) tem-se:

$$\frac{dEGi}{dt} = -p_{24} \cdot EGi \cdot S + GEGi \cdot (p_{25} + p_{26} \cdot F + p_{27} \cdot A + p_{28} \cdot AG + p_{29} \cdot AG2) \quad (32)$$

Substituindo pelas expressões das Equações de 20 a 30 tem-se:

$$E_o = EGi \cdot (1 + p_{30} \cdot S + p_{31} \cdot A + p_{32} \cdot AG + p_{33} \cdot AG2 + p_{34} \cdot AG3 + p_{35} \cdot AGi) + GEGi \cdot (1 + p_{36} \cdot F + p_{37} \cdot S + p_{38} \cdot A + p_{39} \cdot AG + p_{40} \cdot AG2) \quad (33)$$

Resolvendo a equação (32) para EGi e substituindo na equação (33) e resolvendo-se para GEGi tem-se:

$$GEGi = p_{24} \cdot E_o \cdot S \cdot [(p_{25} + p_{26} \cdot F + p_{27} \cdot A + p_{28} \cdot AG + p_{29} \cdot AG2) \cdot (1 + p_{30} \cdot S + p_{31} \cdot A + p_{32} \cdot AG + p_{33} \cdot AG2 + p_{34} \cdot AG3 + p_{35} \cdot AGi) + (p_{24} \cdot S) \cdot (1 + p_{36} \cdot F + p_{37} \cdot S + p_{38} \cdot A + p_{39} \cdot AG + p_{40} \cdot AG2)]^{-1} \quad (34)$$

Fazendo as multiplicações, tem-se a seguinte expressão para o denominador:

$$\begin{aligned} & 1 + p_{42} \cdot S + p_{43} \cdot A + p_{44} \cdot AG + p_{45} \cdot AG2 + p_{34} \cdot AG3 + p_{35} \cdot AG + p_{46} \cdot F + p_{47} \cdot F \cdot S \\ & + p_{48} \cdot F \cdot A + p_{49} \cdot F \cdot AG + p_{50} \cdot F \cdot AG2 + p_{51} \cdot F \cdot AG3 + p_{52} \cdot F \cdot AGi + p_{53} \cdot A \cdot S \\ N = & + p_{54} \cdot A^2 + p_{55} \cdot A \cdot AG + p_{56} \cdot A \cdot AG2 + p_{57} \cdot A \cdot AG3 + p_{58} \cdot A \cdot AGi + p_{59} \cdot AG \cdot S \\ & + p_{60} \cdot AG^2 + p_{61} \cdot AG \cdot AG2 + p_{62} \cdot AG \cdot AG3 + p_{63} \cdot AG \cdot AGi + p_{64} \cdot AG2 \cdot S + \\ & p_{65} \cdot AG2^2 + p_{66} \cdot AG2 \cdot AG3 + p_{67} \cdot AG2 \cdot AGi + p_{68} \cdot S^2 \end{aligned} \quad (35)$$

4. Equações diferenciais resultantes:

Consumo de sacarose:

Substituindo a equação (35) na (34) para GEGi e combinado as equações (1), (20), (22), (33) tem-se:

$$\frac{-dS}{dt} = \frac{p41 \cdot Eo \cdot S(p25 + p26 \cdot F + p27 \cdot A + p28 \cdot AG + p29 \cdot AG2)}{N} \quad (36)$$

ou

$$\frac{-dS}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p69 + p70 \cdot F + p71 \cdot A + p72 \cdot AG + p73 \cdot AG2)}{N} \quad (37)$$

Formação de frutose

$$\frac{dF}{dt} = \frac{p41 \cdot Eo \cdot S \cdot (p2 \cdot p30/p24 + (p25 + (p26 + p74) \cdot F + p27 \cdot A + p28 \cdot AG + p29 \cdot AG2))}{N} \quad (38)$$

ou

$$\frac{dF}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p75 + p76 \cdot F + p77 \cdot A + p78 \cdot AG + p79 \cdot AG2)}{N} \quad (39)$$

partir das definições dos parâmetros é possível verificar que $p76 = 0$, então a equação (39) pode ser simplificada:

$$\frac{dF}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p75 + p77 \cdot A + p78 \cdot AG + p79 \cdot AG2)}{N} \quad (40)$$

A taxa de consumo do acceptor é dada por:

$$-\frac{dA}{dt} = \frac{p80 \cdot Eo \cdot A \cdot S}{N} \quad (41)$$

As taxas de formação dos produtos do acceptor (incluindo a formação de leucrose)

Produto primário (panose)

$$\frac{dAG}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p81 \cdot A - p82 \cdot AG)}{N} \quad (42)$$

Produto secundário (tetrassacarídeo)

$$\frac{dAG2}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p83 \cdot AG - p84 \cdot AG2)}{N} \quad (43)$$

Produto terciário (pentassacarídeo)

$$\frac{dAG3}{dt} = \frac{Eo \cdot S \cdot (p85 \cdot AG2)}{N} \quad (44)$$

Formação de Leucrose

$$\frac{dFG}{dt} = \frac{E_o \cdot S \cdot F \cdot p_{86}}{N} \quad (45)$$

Definição dos parâmetros

$$p_{24} = \frac{p_1 \cdot p_2}{(p_{-1} + p_2)}$$

$$p_{25} = p_3 + (p_{11} + p_{12}) \cdot H_2O$$

$$p_{26} = \frac{(p_9 + p_{10}) \cdot p_4}{(p_{-4} + p_9 + p_{10})}$$

$$p_{27} = \frac{(p_{13} + p_{14}) \cdot p_6}{(p_{-4} + p_{13} + p_{14})}$$

$$p_{28} = \frac{(p_{15} + p_{16}) \cdot p_7}{(p_{-7} + p_{15} + p_{16})}$$

$$p_{29} = \frac{(p_{17} + p_{18}) \cdot p_8}{(p_{-8} + p_{17} + p_{18})}$$

$$p_{30} = \frac{p_1}{(p_{-1} + p_2)}$$

$$p_{31} = \frac{p_{19}}{P_{-19}}$$

$$p_{32} = \frac{p_{20}}{P_{-20}}$$

$$p_{33} = \frac{p_{21}}{P_{-21}}$$

$$p_{34} = \frac{p_{22}}{P_{-22}}$$

$$p_{35} = \frac{p_{23}}{P_{-23}}$$

$$p_{38} = \frac{p_6}{(p_{-4} + p_{13} + p_{14})}$$

$$p_{39} = \frac{p_7}{(p_{-7} + p_{15} + p_{16})}$$

$$p_{40} = \frac{p_8}{(p_{-8} + p_{17} + p_{18})}$$

$$p_{41} = \frac{p_{24}}{p_{25}}$$

$$p_{42} = p_{30} + \frac{p_{24}}{p_{25}}$$

$$p_{43} = p_{31} + \frac{p_{27}}{p_{25}}$$

$$p_{44} = p_{32} + \frac{p_{28}}{p_{25}}$$

$$p_{45} = p_{33} + \frac{p_{29}}{p_{25}}$$

$$p_{46} = \frac{p_{26}}{p_{25}}$$

$$p_{47} = \frac{(p_{26} \cdot p_{30} + p_{24} \cdot p_{36})}{p_{25}}$$

$$p_{48} = p_{46} \cdot p_{31}$$

$$p_{49} = p_{46} \cdot p_{32}$$

$$p_{50} = p_{46} \cdot p_{33}$$

$$p36 = \frac{p4}{(p_{-4} + p9 + p10)}$$

$$p37 = \frac{p5}{p_{-5}}$$

$$p53 = \frac{(p27 \cdot p30 + p24 \cdot p38)}{p25}$$

$$p54 = \frac{p27 \cdot p30}{p25}$$

$$p55 = \frac{(p27 \cdot p32 + p28 \cdot p31)}{p25}$$

$$p56 = \frac{(p27 \cdot p33 + p29 \cdot p31)}{p25}$$

$$p57 = \frac{p27 \cdot p34}{p25}$$

$$p58 = \frac{p27 \cdot p35}{p25}$$

$$p59 = \frac{p28 \cdot p30}{p25}$$

$$p60 = \frac{p28 \cdot p32}{p25}$$

$$p61 = \frac{p28 \cdot p33}{p25}$$

$$p62 = \frac{p28 \cdot p34}{p25}$$

$$p63 = \frac{p28 \cdot p35}{p25}$$

$$p64 = \frac{(p29 \cdot p30 + p24 \cdot p40)}{p25}$$

$$p65 = \frac{p29 \cdot p33}{p25}$$

$$p66 = \frac{p29 \cdot p34}{p25} \quad p67 = \frac{p29 \cdot p35}{p25}$$

$$p68 = \frac{p24 \cdot p37}{p25} = p41 \cdot p37$$

$$p85 = \frac{p41 \cdot p17 \cdot p8}{p_{-4} + p17 + p18} = \frac{p73 \cdot p17}{p17 + p18}$$

$$p51 = p46 \cdot p34$$

$$p52 = p46 \cdot p35$$

$$p69 = p25 \cdot p41 = p24$$

$$p70 = p26 \cdot p41$$

$$p71 = p27 \cdot p41$$

$$p72 = p28 \cdot p41$$

$$p73 = p29 \cdot p41$$

$$p74 = \frac{p_{-4} \cdot p4}{(p_{-4} + p9 + p10)} - p4 = p26$$

$$p75 = \frac{p41 \cdot p2 \cdot p30 \cdot p25}{p24} = p24$$

$$p76 = p41 \cdot \frac{(p2 \cdot p30 \cdot p26)}{(p24 + p74)} = 0$$

$$p77 = \frac{p41 \cdot p2 \cdot p30 \cdot p27}{p24} = p71$$

$$p78 = \frac{p41 \cdot p2 \cdot p30 \cdot p28}{p24} = p72$$

$$p79 = \frac{p41 \cdot p2 \cdot p30 \cdot p29}{p24} = p73$$

$$p80 = p41 \cdot \left(\frac{p6 - p_{-6} \cdot p6}{(p_{-6} + p13 + p14)} \right) = p71$$

$$p81 = \frac{p41 \cdot p13 \cdot p6}{(p_{-6} + p13 + p14)} = \frac{p71 \cdot p13}{(p13 + p14)}$$

$$p82 = p41 \cdot \left(\frac{p7 - p_{-7} \cdot p7}{(p_{-7} + p15 + p16)} \right) = p72$$

$$p83 = \frac{p41 \cdot p15 \cdot p7}{(p_{-7} + p15 + p16)} = \frac{p72 \cdot p15}{(p15 + p16)}$$

$$p84 = p41 \cdot \left(\frac{p8 - p_{-8} \cdot p8}{(p_{-8} + p17 + p18)} \right) = p73$$

$$p86 = \frac{p41 \cdot p9 \cdot p4}{p_{-4} + p9 + p10} = \frac{p70 \cdot p10}{p9 + p10}$$