UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA

THAÍS RODRIGUES PINHEIRO

Modelagem, Simulação e Discriminação Estatística de Modelos de um Cultivo Descontínuo de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando o *software* livre EMSO

São Mateus - ES

2023

THAÍS RODRIGUES PINHEIRO

Modelagem, Simulação e Discriminação Estatística de Modelos de um Cultivo Descontínuo de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando o *software* livre EMSO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia do Centro Universitário do Norte do Espírito Santo da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Energia, na área de concentração Engenharia Tecnologia e Gestão.

Orientadora: Profª. Drª. Laura Marina Pinotti
Coorientador: Prof. Dr. Vinícius Barroso Soares

São Mateus – ES

2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

Pinheiro, Thaís Rodrigues, 1996-
P654m Modelagem, Simulação e Discriminação Estatística de Modelos de um Cultivo Descontínuo de Saccharomyces cerevisiae utilizando o software livre EMSO / Thaís Rodrigues Pinheiro. - 2023.
54 f. : il.

Orientadora: Laura Marina Pinotti.
Coorientador: Vinícius Barroso Soares.
Dissertação (Mestrado em Energia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo.

1. Saccharomyces cerevisiae. 2. Modelagem. 3. Estimativa de Parâmetros. 4. Álcool. I. Pinotti, Laura Marina. II. Soares, Vinícius Barroso. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 620.9

THAÍS RODRIGUES PINHEIRO

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E DESCRIMINAÇÃO ESTATÍSTICA DE MODELOS DE UM CULTIVO DESCONTÍNUO DE *Saccharomyces cerevisae* UTILIZANDO O SOFTWARE LIVRE EMSO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Energia.

Aprovada em 13 de dezembro de 2023.

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br
LAURA MARINA PINOTTI
Data: 19/12/2023 12:36:44-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profª. Drª. Laura Marina Pinotti
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Documento assinado digitalmente
gov.br
VINICIUS BARROSO SOARES
Data: 18/12/2023 15:17:41-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Vinícius Barroso Soares
Universidade Federal do Espírito Santo

Documento assinado digitalmente
gov.br
TAISA SHIMOSAKAI DE LIRA
Data: 18/12/2023 16:18:11-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profª. Drª. Taisa Shimosakai de Lira
Universidade Federal do Espírito Santo

Documento assinado digitalmente
gov.br
MAURICIO CORDEIRO MANCINI
Data: 18/12/2023 15:59:37-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Maurício Cordeiro Mancini
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada disso seria possível. Sou grata por toda força, resiliência e determinação que me foi concedida. Aos meus pais, Terezinha e Juscelino, por todo apoio, amor e companheirismo em todos os momentos da minha vida; e por sempre me colocarem em suas orações! Aos meus irmãos, Jhonatan e Jhenniffer, pela torcida e por acreditarem em mim. Ao meu querido Alan, pelo carinho e paciência durante toda caminhada! Aos meus orientadores, professora Drª. Laura Marina Pinotti e professor Dr. Vinícius Barroso Soares, pelo ensino e acompanhamento nesse período. Aos demais professores por todo conhecimento passado e auxílio nas dificuldades encontradas. Aos meus colegas de turma, por cada experiência trocada, auxílio e amizade. Ao meu chefe e amigo, Ivan Marques, por ter me incentivado e me permitido trilhar esse caminho. E, finalmente, à Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, e aos seus professores e colaboradores, que ao longo desse período me proporcionaram um grande processo evolutivo como pessoa, estudante e profissional.

RESUMO

A preocupação com a poluição ambiental causada pelo uso contínuo de combustíveis fósseis, especialmente o petróleo, estimula a busca por alternativas para minimizar esta problemática. O etanol ganha destaque neste cenário por ser um combustível renovável e por ter no Brasil uma abundante fonte de matéria-prima. O etanol pode ser obtido por meio da fermentação de açúcares na presença da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A modelagem matemática deste processo possibilita uma melhor compreensão dos fenômenos físico-químicos envolvidos e, consequentemente, auxiliar nas etapas de projeto, controle e otimização. Apesar disso, a grande maioria dos trabalhos disponíveis na literatura possuem um caráter puramente experimental. Neste trabalho foi dado ênfase ao uso do *Environment for Modelling, Simulation and Optimization* (EMSO), um programa livre e de código aberto, que pode ser utilizado para modelagem e simulação de processos biotecnológicos. Utilizou-se dados experimentais da literatura referentes à produção de álcool com *Saccharomyces cerevisiae*, em biorreator batelada durante 28 horas de fermentação. As cinéticas foram investigadas por meio dos modelos de Monod, Moser, Contois e Andrews. Os parâmetros destes modelos foram estimados usando programação não-linear (NLP) com nível de confiança estatístico de 95%. Os critérios utilizados para a discriminação dos modelos foram o desvio médio absoluto (MAD), o erro percentual absoluto médio (MAPE) e o quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$. Dentre os modelos investigados, o de Contois apresentou os melhores resultados, tanto para o crescimento celular quanto para o consumo de substrato. Para crescimento celular os valores de MAD, MAPE e $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ foram de 0,2451 g/L, 9,82% e 0,9737, respectivamente. Para o consumo de substrato os valores de MAD, MAPE e $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ foram de 4,1683 g/L, 17,67% e 0,9886, respectivamente.

Palavras-chave: Modelagem matemática. Estimação de parâmetros. Discriminação de modelos. Etanol. Biocombustível. *Saccharomyces cerevisiae*. Biorreator.

ABSTRACT

Concern about environmental pollution caused by the continuous use of fossil fuels, especially oil, encourages the search for alternatives to minimize this problem. Ethanol stands out in this scenario because it is a renewable fuel and Brazil has an abundant source of raw materials. Ethanol can be obtained through the fermentation of sugars in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae.* The mathematical modeling of this process enables a better understanding of the physical-chemical phenomena involved and, consequently, assists in the design, control and optimization stages. Despite this, the vast majority of works available in the literature are purely experimental in nature. In this work, emphasis was placed on the use of the Environment for Modelling, Simulation and Optimization (EMSO), a free and open-source program, for modeling and simulating biotechnological processes. Experimental data from the literature regarding alcohol production with *Saccharomyces cerevisiae* was used in a batch bioreactor during 28 hours of fermentation. The kinetics were investigated using the Monod, Moser, Contois and Andrews models. The parameters of these models were estimated using non-linear programming (NLP) with a statistical confidence level of 95%. The criteria used to discriminate the models were the mean absolute deviation (MAD), the mean absolute percentage error (MAPE) and the square of the correlation coefficient between predicted and observed values $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$. Among the models investigated, the Contois model showed the best results, both for cell growth and substrate consumption. For cell growth, the MAD, MAPE and $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ values were 0.2451 g/L, 9.82% and 0.9737, respectively. For substrate consumption, the MAD, MAPE and $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ values were 4.1683 g/L, 17.67% and 0.9886, respectively.

Keywords: Mathematical modeling. Parameter estimation. Discrimination of models. Ethanol. Biofuel. *Saccharomyces cerevisiae*. Bioreactor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção mundial de etanol combustível entre 2018 e 2022. 5

Figura 2 – Matriz Energética Brasileira 2022. 6

Figura 3 – Resumo da metodologia adotada. 17

Figura 4 – Parte de uma *flowsheet* implementada no EMSO. 20

Figura 5 – Parte de um *estimation* implementado no EMSO. 20

Figura 6 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Monod. 23

Figura 7 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Monod. 23

Figura 8 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Moser. 24

Figura 9 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Moser. 25

Figura 10 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Contois. 26

Figura 11 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Contois. 26

Figura 12 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Andrews. 27

Figura 13 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Andrews. 28

Figura 14 – Comparação entre os modelos para o consumo de substrato. 29

Figura 15 – Comparação entre os modelos para o crescimento celular. 29

Figura 16 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Monod. 31

Figura 17 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Moser. 31

Figura 18 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Contois. 32

Figura 19 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Andrews. 32

Figura 20 – Desvios absolutos para o consumo de substrato. 34

Figura 21 – Desvios absolutos para o crescimento celular. 34

Figura 22 – Predito *versus* observado para o consumo de substrato. 36

Figura 23 – Predito *versus* observado para crescimento celular. 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Faixa usual de trabalho com a levedura *Saccharomyces cerevisiae.* 8

Tabela 2 – Dados experimentais de um cultivo descontínuo de *S. cerevisiae*. 18

Tabela 3 – Parâmetros estimados no EMSO. 28

Tabela 4 – Resultados obtidos com a estatística MAD. 33

Tabela 5 – Resultados obtidos com a estatística MAPE. 35

Tabela 6 – Quadrado do coeficiente de correlação para os gráficos predito *versus* observado. 35

LISTA DE ABREVIATURAS E DE SIGLAS

1G	Etanol de primeira geração.
2G	Etanol de segunda geração.
ATP	Adenosina trifosfato.
BEN	Balanço Energético Nacional.
EMSO	*Environment for Modelling, Simulation and Optimization.*
MAD	*Mean Absolute Deviation* (Desvio Absoluto Médio).
MAPE	*Mean Absolute Percentage Error* (Erro Percentual Absoluto Médio).
NPL	*Nonlinear Programming Solver.*
RFA	*Renewable Fuels Association*.
rpm	Rotações por minuto (sistema de agitação).

LISTA DE SÍMBOLOS

C_s	Concentração de substrato ($g \cdot L^{-1}$).
C_x	Concentração celular ($g \cdot L^{-1}$).
K_c	Parâmetro da equação de Contois (adimensional).
K_D	Constante de difusão ($g \cdot L^{-1}$).
K_i	Constante de inibição causada pelo substrato ($g \cdot L^{-1}$).
K_P	Constante de inibição pelo produto ($g \cdot L^{-1}$);
K_s	Constante de saturação ($g \cdot L^{-1}$).
ms	Coeficiente de manutenção da célula (h^{-1}).
n	Parâmetro adimensional (modelo de Moser).
N	Número de pontos experimentais.
$\left(R_{y_c y_e}\right)^2$	Quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados (*square of the correlation coefficient between predicted and observed values)*.
μ_m	Velocidade específica máxima (h^{-1}).
μ_x	Velocidade específica de crescimento (h^{-1}).
y_i^e	Dado experimental.
y_i^c	Valor calculado pelo modelo.
$\bar{y}_c$	Média dos valores calculados.
$\bar{y}_e$	Média dos valores experimentais.
$Y_{x/s}$	Fator de conversão de substrato em biomassa.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4
2.1. Importância e Produção do Álcool 4
2.2. *Saccharomyces cerevisiae* 7
2.3. Fermentação Alcoólica com *Saccharomyces cerevisiae* 9
2.4. Modelos Cinéticos de Processos Fermentescíveis 12
3. METODOLOGIA 17
3.1. Seleção dos Dados Experimentais 17
3.2. Escolha dos Modelos 18
3.3. Implementação dos Modelos no EMSO 19
3.4. Qualidade do Ajuste dos Modelos 21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 22
4.1. Ajuste Obtido com o Modelo de Monod 22
4.2. Ajuste Obtido com o Modelo de Moser 24
4.3. Ajuste Obtido com o Modelo de Contois 25
4.4. Ajuste Obtido com o Modelo de Andrews 27
4.5. Comparação entre os Modelos 28
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES 37
5.1. Conclusões 37
5.2. Sugestões para Trabalhos Futuros 37
6. REFERÊNCIAS 38

1 INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial, a produção em massa de meios de transporte e o elevado consumo de energia, foram alguns dos fatores que impulsionaram de forma significativa a exploração do petróleo e de outras fontes de energia não renováveis. A maior parte da energia consumida no mundo vem do petróleo, do carvão e do gás natural, que são fontes esgotáveis e poluentes (PINOTTI *et al*., 2016). O incentivo e a implantação de energias renováveis têm ganhado cada vez mais força, visando minimizar os impactos causados pelo estilo de vida atual. A despeito disso, tem-se estimulado pesquisas que visam desenvolver novos insumos de natureza renovável, especialmente no que diz respeito à produção de biocombustíveis (SUAREZ *et al*., 2007).

O etanol, popularmente conhecido como álcool etílico, é considerado um biocombustível renovável com capacidade para substituir a gasolina. A maior parte da produção mundial de etanol de primeira geração (1G) é proveniente de sacarose (melaço ou caldo de cana) ou compostos amiláceos (fontes de amido; um tipo de carboidrato). A sua produção tem aumentado significativamente ao longo dos anos em todo o mundo, sendo os Estados Unidos e o Brasil os dois principais produtores deste combustível (CASTANHEIRA, 2013).

A utilização do etanol em substituição à gasolina se mostra vantajosa visto que os biocombustíveis ajudam a reduzir a emissão de dióxido de carbono (CO_2), ao evitar o uso de combustíveis fósseis e ao reciclar o CO_2 que é liberado durante a sua queima (CAMARGOS, 2019). O interesse em tal substituição se deve, principalmente, ao preço do petróleo, além de diminuir a utilização e dependência por combustíveis fósseis, servindo também como uma política de aumento de utilização de energia proveniente de recursos renováveis (CASTANHEIRA, 2013).

Nesse contexto, novas tecnologias vêm sendo estudadas a fim de se produzir álcool a partir de biomassa não alimentícia (materiais lignocelulósicos), o chamado etanol de segunda geração (2G). É o caso, por exemplo, da utilização do bagaço da cana-de-açúcar, que é considerado um dos principais subprodutos da indústria sucroalcooleira (ZAVARISE, 2018). Os materiais lignocelulósicos são constituídos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, sendo normalmente a celulose o

componente predominante e que pode ser hidrolisada em açúcares monoméricos fermentescíveis por meio da ação enzimática das celulases (CATELAN *et al.,* 2021).

Tanto na produção do álcool 1G, quanto do álcool 2G, a conversão dos açúcares ocorre pela metabolização feita por microrganismos a partir de uma série de reações bioquímicas que resultam no etanol (ARRUDA, 2019). Dentre estes, Teixeira (2015) aponta que a *Saccharomyces cerevisiae* é o principal microrganismo empregado em produções industriais de fermentação alcóolica. Dentre algumas das características que tornam esta levedura como a mais indicada para este processo, cita-se a sua capacidade de transformar rapidamente açúcares em etanol, alta tolerância ao produto formado, tolerância a grandes variações de temperatura e atividade celular em ambientes ácidos (SILVA, 2016).

A *S. cerevisiae* é, sem dúvidas, o mais importante microrganismo explorado pela humanidade (CASTANHEIRA, 2013). Sua contribuição na indústria é ampla, e seu uso se estende desde aplicações mais simples, como na fabricação de pães, a processos mais complexos, como é o caso da produção de etanol. Diante deste cenário, o estudo deste microrganismo se mostra interessante, uma vez que seu entendimento pode contribuir para alcançar melhorias na produção e no rendimento do etanol.

Nesse sentido, a utilização de modelagem matemática para a simulação de processos se apresenta como uma opção capaz de contribuir para o estudo de diversos problemas, possibilitando a realização de análises, bem como otimização e validação de processos. Este recurso vem se destacando por ser “um dos instrumentos científicos mais poderosos na busca de avanços em ciência e inovação, representando a possibilidade de entender e solucionar problemas da realidade” (HENRICHSEN, 2019).

Atualmente, o desenvolvimento de simuladores de processos é realizado por empresas privadas e o custo para a aquisição e uso desses programas têm se mostrado altos e, muitas vezes, inacessíveis para empresas de pequeno e médio porte, além de instituições públicas de ensino. O programa EMSO (*Environment for Modelling, Simulation and Optimization*) tem se mostrado uma alternativa interessante entre os simuladores de acesso livre (OSPINO-PINEDO; SÁNCHEZ; MATALLANA-

PÉREZ, 2018). O EMSO possui uma linguagem simples, com acesso a recursos gráficos e respostas estatísticas (SOARES, 2007).

Nos processos biotecnológicos para que seja possível a utilização de um microrganismo para uma finalidade específica é necessário o estudo da sua cinética de crescimento, bem como das condições de operação e meios de cultura mais adequados ao processo (SCHMIDELL *et al*., 2001). Este tipo de estudo é perfeitamente possível com a plataforma EMSO, uma vez que ela permite ao usuário realizar tarefas de modelagem, simulação e discriminação de modelos.

Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho é simular no programa EMSO o consumo de substrato e o crescimento celular de *Saccharomyces cerevisiae* em biorreator descontínuo, utilizando diferentes modelos cinéticos. Como objetivos específicos destaca-se: i) compreender os principais conceitos envolvidos na área de modelagem, estimação de parâmetros e simulação de processo; ii) entender os diferentes modelos cinéticos frequentemente utilizados em processos fermentescíveis; iii) assimilar as bases estatísticas usadas na etapa de discriminação de modelos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Importância e Produção do Álcool

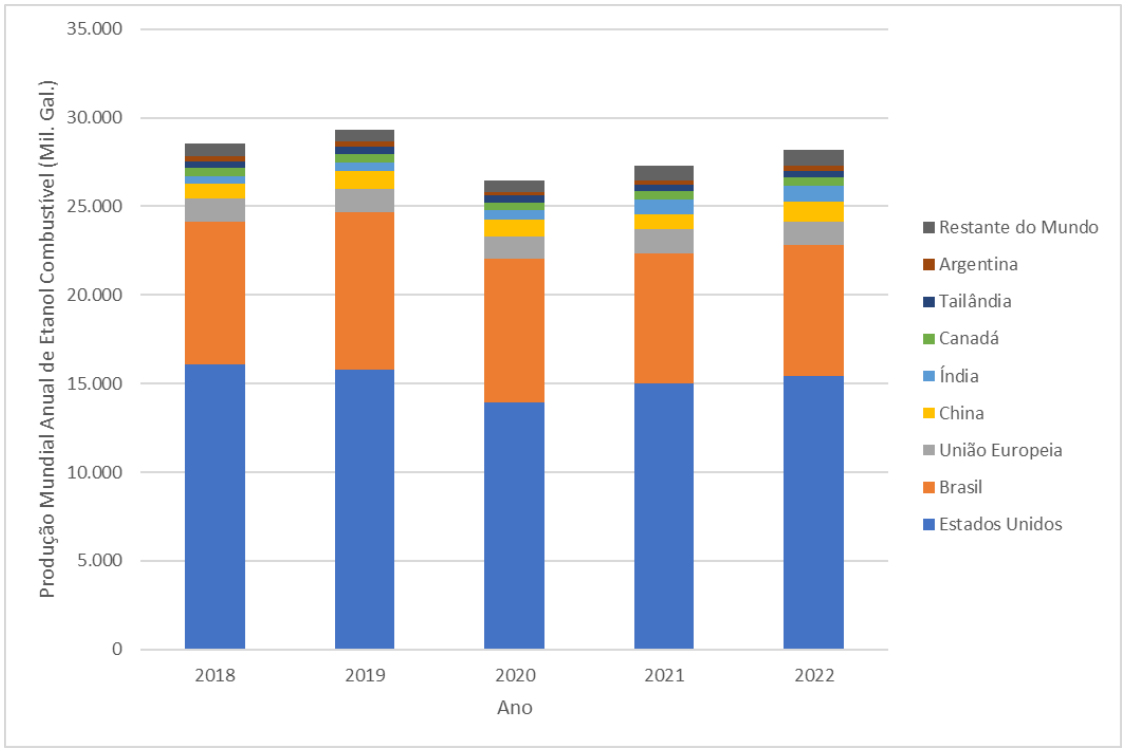
O impacto ambiental causado pelo uso excessivo de produtos derivados do petróleo, em especial os combustíveis, tem estimulado uma busca crescente por energias renováveis (SONEGO *et al.*, 2014). Nesse sentido, alternativas como a utilização de etanol passaram a ser consideradas e no Brasil, um programa pioneiro para produção de álcool combustível foi instalado em 1927, mas só a partir da década de 70 que a indústria do etanol foi alçada ao primeiro plano com a criação do Programa Nacional do Álcool (ProÁlcool), em 1975 (CASTANHEIRA, 2013).

O uso do etanol como combustível carburante se mostrou muito vantajoso para países com grande extensão territorial para plantação de cana-de-açúcar e poucas reservas petrolíferas (SILVA, 2016). Dentre algumas de suas aplicações, cita-se o seu aproveitamento na forma hidratada (com cerca de 5% de água) para produção de bebidas, alimentos, produtos de limpeza, remédios, além de ser matéria prima de solventes, aerossóis, tintas, dentre outros (SILVA, 2016).

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol, dispondo de importantes vantagens na tecnologia de produção, como grandes áreas cultiváveis e condições climáticas favoráveis (CAMARGOS, 2019). Além disso, o fato de o Brasil ser o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, a qual é a matéria-prima mais eficiente conhecida para a produção de etanol, contribui para que sua produção a partir do caldo de cana seja um processo bem estabelecido no país (CAMARGOS, 2019).

Em um panorama mundial, a produção de etanol alcançou um total de 28.160 milhões de galões no ano de 2022, e o Brasil foi responsável por 27% desse valor, ficando atrás somente dos Estados Unidos com 55% (RFA, 2023). A Figura 1 abaixo apresenta a produção mundial de etanol combustível dos principais produtores no período de 2018 a 2022.

Figura 1 – Produção mundial de etanol combustível entre 2018 e 2022.

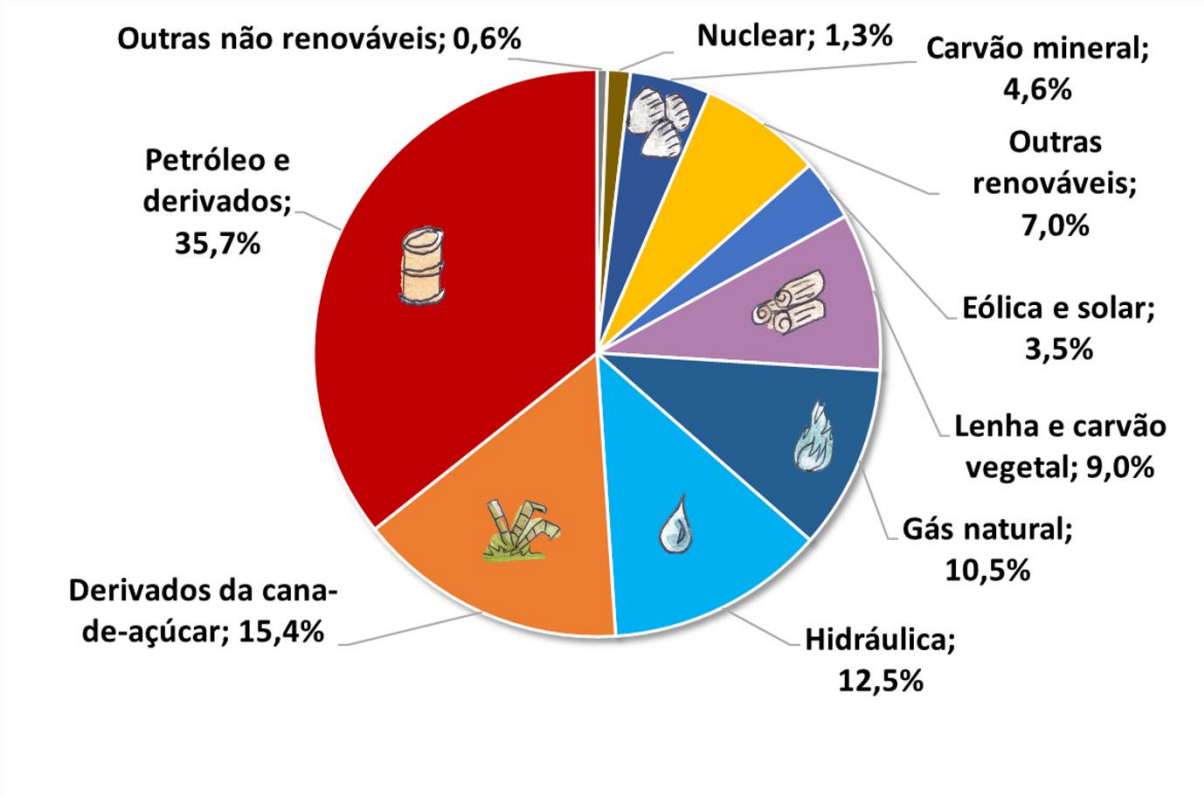


Fonte: Adaptado de RFA, (2023).

Observa-se pela Figura 1 que houve uma pequena redução da produção a partir do ano de 2020, o que pode ser justificado pela Pandemia da Covid 19, que desestabilizou diversos setores da indústria. Entretanto, estima-se que a produção voltará a crescer nos próximos anos, alcançando níveis pré-pandêmicos (RFA, 2023).

O Brasil apresenta uma matriz energética bastante interessante quando se trata de energia renovável. Considerando a soma das diferentes fontes (lenha e carvão vegetal; hidráulica; derivados de cana; eólica e solar; e outras renováveis), dispõem-se de cerca de 47,4%, ou seja, representam o equivalente a quase metade da matriz energética nacional (BEN, 2023). A Figura 2 traz o panorama da matriz energética brasileira para o ano de 2022.

Figura 2 – Matriz Energética Brasileira 2022.



Fonte: BEN, 2023.

Como é possível verificar na Figura 2, grande contribuição para a matriz enérgica vem dos derivados da cana-de-açúcar, principal matéria prima para produção de etanol, representando 15,4% do total. De acordo com Andrade (2012), o Brasil se encontra em uma posição de destaque na produção deste combustível por processos fermentativos no mundo, e seu estudo gera grande interesse industrial e econômico.

Tal processo se dá a partir da fermentação alcóolica, um dos processos biotecnológicos mais utilizados atualmente, em que se emprega seres vivos, geralmente leveduras, responsáveis pela transformação de açúcares em álcool etílico e dióxido de carbono (GÓES-FAVONI, 2018). Este é um processo anaeróbico realizado a nível citoplasmático, com a finalidade de produzir energia, na forma de ATP (adenosina trifosfato), para uso nas atividades celulares e no crescimento (MELO, 2023).

Basicamente, o processo de produção no Brasil utiliza a sacarose proveniente da cana-de-açúcar, na forma de caldo de cana e melaço, como substrato para a fermentação (BATISTOTE *et al.,* 2010). Uma vez retirada as impurezas presentes no melaço (areia, bagaço, entre outros), o caldo segue para a etapa de fermentação em dornas (tanques) onde se adiciona um fermento com leveduras, sendo mais comum a *Saccharomyces cerevisiae* (SILVA, 2016).

Nesse processo, as leveduras metabolizam as moléculas de glicose, produzindo etanol e gás carbônico. Dessa forma, é necessário que as dornas sejam fechadas para recuperar o álcool arrastado pelo gás carbônico e utiliza-se trocadores de calor para manter a temperatura nas condições ideais para as leveduras (SILVA, 2016). Vários subprodutos também são produzidos durante a fermentação, sendo o glicerol, o principal deles (CASTANHEIRA, 2013).

2.2. *Saccharomyces cerevisiae*

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são as mais conhecidas e comercializadas mundialmente, sendo nomeada pela primeira vez por Meyen em 1870 (MELO, 2023). São microrganismos unicelulares, biologicamente classificados como fungos (SILVA, 2016). Sua reprodução pode ocorrer assexuadamente (mitose) ou sexuadamente (meiose). Quando no meio de cultura há disponibilidade de nutrientes, como nas fermentações industriais, a reprodução é assexuada, ocorrendo a multiplicação das leveduras por brotamento ou gemulação, originado células-filhas idênticas à célula mãe (MORAIS, 2013).

Este é um vasto gênero que se divide em oito espécies, sendo elas: *S. cerevisiae, S. paradoxus, S. mikatae, S. jurei, S. kudriavzevii, S. arboricola, S. eubayanus* e *S. uvarum* (ALSAMMAR e DELNERI, 2020). Dentre estas, destaca-se a *Saccharomyces cerevisiae*, principal espécie aplicada na produção de etanol (SILVA *et al*., 2016; SILVA, 2018).

A *S. cerevisiae* é um microrganismo facultativo, ou seja, capaz de crescer com ou sem a presença de oxigênio. Quando ocorre o crescimento em condições aeróbias, a levedura exige a biotina no meio de cultivo; já em condições de absoluta anaerobiose, outros componentes como ácidos graxos insaturados e ergosterol são necessários (ROEPCKE, 2007).

Seu nome deriva do latim *Saccharomyces* “fungo açucareiro”, ceres “grão” e vise “força”. É facilmente encontrado em frutas e apresenta consumo acelerado de monossacarídeos. Suas células são elípticas, medindo cerca de 6 a 8μm de comprimento e 5μm de largura e devido às suas características se tornou uma levedura de grande importância econômica há muitos anos (MELO, 2023). Na indústria, desempenha um papel importante, sendo largamente utilizada na fabricação de pães e também na produção de cervejas, vinhos e outras bebidas alcóolicas (ROEPCKE, 2007; MARTIN *et al.,* 2006).

Normalmente, durante uma fermentação alcóolica, esta levedura é empregada em condições brandas de temperatura e pH. De acordo com Silva (2016), o pH tem capacidade para restringir o crescimento microbiano, e dessa forma, o mosto nas usinas fica na faixa de 4,5 a 5,5 e o pH ótimo para fermentações com *S. cerevisiae* se encontra, em geral, entre 4 e 5. Os autores apontam ainda que a produção de etanol nas indústrias é conduzida em temperaturas na faixa de 25°C a 35°C. A Tabela 1 apresenta alguns valores usuais de temperatura, pH e agitação para trabalhos com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Tabela 1 – Faixa usual de trabalho com a levedura *Saccharomyces cerevisiae.*

Fonte	**Temperatura**	**pH**	**Agitação**
Tirpan *et al.,* (2019)	30 °C	5 – 5,5	Baixas agitações
Sonego *et al.,* (2014)	34 °C	4,6	250 rpm
Silva *et al.,* (2016)	32 °C	3,0	175 rpm
Castanheira (2013)	30 °C	4,5	200 rpm
Batistote *et al.,* (2010)	30 °C	5,0	200 rpm

Fonte: Própria Autora, (2023).

2.3. Fermentação Alcoólica com *Saccharomyces cerevisiae*

Para uma aplicação industrial espera-se que os microrganismos utilizados apresentem elevada eficiência na conversão do substrato em produto. De fato, uma célula deve permitir elevada conversão do substrato em produto, pois, com muita frequência, as matérias-primas incidem pesadamente no custo do produto, podendo-se mencionar uma incidência de 38 a 73% do custo total de produção como sendo devido às matérias-primas (SCHMIDELL *et al*., 2001).

Também nas aplicações industriais é sempre desejável que o microrganismo permita um elevado acúmulo do produto no meio, sem sofrer inibição mais acentuada em virtude deste acúmulo, pois isto concorre para uma redução nos custos de recuperação, os quais também podem ser muito acentuados (SCHMIDELL *et al*., 2001).

Por exemplo, para o caso da fermentação alcoólica, glicose em anaerobiose sendo convertida em etanol e gás carbônico, aqui representada simplificadamente pela equação (1), o fungo *Saccharomyces cerevisiae* permite obter um rendimento da ordem de 90% do valor estequiométrico, o que torna este microrganismo o mais importante para realizar esta conversão.

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 \qquad (\mathbf{1})$$

Obviamente, não se consegue manter um processo de fermentação alcoólica obtendo-se 100% de rendimento, pois as células têm de proliferar, o que significa a síntese de muitos outros compostos intermediários. De acordo com Castanheira (2013), existem ainda diversos subprodutos da fermentação em leveduras como por exemplo, dióxido de carbono, glicerol e outros produtos secundários além de biomassa celular, que contribuem para a diminuição do rendimento total de etanol.

A produção de etanol por via fermentativa é o processo mais utilizado e aplicado pela indústria (SONEGO *et al.,* 2014). Segundo os autores, este processo consiste em uma série de reações químicas catalisadas por microrganismo, em que geralmente a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é empregada, principalmente, devido à sua maior produtividade, adaptação ao meio e robustez.

No Brasil, a fermentação alcóolica é caracterizada por alta densidade celular (10-14% g/v), com reciclo de células, temperatura na faixa de 30 a 34 °C, ciclos de fermentação entre 8 e 12 horas com vinhos fermentados finais contendo entre 7 e 12% v/v de etanol, operando em modo batelada, batelada alimentada ou contínua (CAMARGOS, 2019). De acordo com Andrade (2012), os processos industriais de fermentação no Brasil operam tradicionalmente em modo batelada alimentada. Ao final da fermentação dos açúcares, o mosto fermentado é enviado para centrifugação e recuperação das leveduras do processo, para então serem reutilizadas nas fermentações seguintes (LOPES *et al.,* 2016).

O etanol produzido a partir do caldo da cana-de-açúcar é um processo bem estabelecido no Brasil, além de ser lucrativo e muito vantajoso, havendo uma imensa área para o cultivo da matéria-prima sem comprometer a produção alimentar (CAMARGOS, 2019). Entretanto, durante o seu processo de produção, uma elevada quantidade de resíduos é gerada tornando-se um grande problema ambiental (SILVA, 2018).

Neste contexto, os resíduos agroindustriais podem ser submetidos a tratamentos específicos e reaproveitados para fabricação do etanol de segunda geração. A produção do etanol 2G usa como matéria prima a biomassa lignocelulósica em que se utiliza processos de origem química (ácido e base), biológica (enzimas) ou física como pré-tratamentos para liberação dos carboidratos que serão hidrolisados para a fermentação (BERTUCI, 2021).

O procedimento necessário para obtenção do etanol a partir desta biomassa consiste basicamente em quatro etapas: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação do produto (CASTANHEIRA, 2013). O pré-tratamento e a hidrólise são fundamentais para desestruturar a matéria-prima lignocelulósica, que é composta por uma mistura complexa de celulose, hemicelulose e lignina que fazem parte da estrutura dos vegetais, para que assim as fibras celulósicas se tornem mais acessíveis e possam ser transformadas em açúcares fermentescíveis, que serão utilizados pelas leveduras na fermentação e, consequentemente, na produção de etanol (SILVA, 2018).

Entretanto, a hidrólise dos resíduos lignocelulósicos libera também compostos que podem afetar a fermentação (BERTUCI, 2021; SILVA, 2018). Nesses casos, a *S. cereviciae* também se mostra útil, visto a sua não exigência de oxigenação e a relativa tolerância ao etanol e a inibidores da fermentação (SANTOS, GUSMÃO E GOUVEIA, 2010). Além inibidores da fermentação, destaca-se que o etanol produzido é um dos principais componentes tóxicos para a fermentação alcoólica, agindo como inibidor de sua própria biossíntese (SONEGO *et al.,* 2014).

Uma alternativa para contornar este efeito da inibição é a adoção de técnicas de extração do etanol do meio fermentativo à medida que ele é produzido. Para realizar a extração combinada com a fermentação, pode-se aplicar a operação de esgotamento (*stripping*), técnica corresponde a um processo em que compostos voláteis presentes em uma solução são transferidos para uma fase gasosa, por meio do contato direto da solução com uma corrente gasosa insolúvel (SONEGO *et al.,* 2014).

Andrade (2012), em seu trabalho, buscou modelar o processo de produção de etanol a partir da fermentação de hidrolisado enzimático de bagaço concentrado com melaço de cana-de-açúcar por *S. cerevisiae*. Foram realizadas 23 fermentações em batelada com e sem reciclo de células em várias temperaturas: 30, 32, 34, 36 e 38 °C. Para a temperatura de 30 °C foram realizadas quatro fermentações com as seguintes concentrações iniciais de substrato: 149,464 g/L; 118,1631 g/L; 116,591 g/L e 131,029 g/L, para as quais o autor obteve os seguintes resultados para o crescimento de microrganismo: 6,01 g/L após 35,31 h de fermentação; 10,31 g/L após 41 h; 13,20 g/L após 37,25 h e 12,71 g/L após 28,83 h, respectivamente.

Silva (2016), realizou ensaios fermentativos com *S. cereviciae* utilizando mel de usina como substrato, a fim de analisar questões como produção de etanol e variação da concentração celular. Foram realizadas 10 fermentações sob diferentes condições de operação, para as quais foram obtidos os seguintes resultados para o crescimento de microrganismo: 8,42g/L após 8,20h de fermentação; 16,8 g/L após 9,70 h; 28,4 g/L após 9,20 h; 17,4 g/L após 8,65 h; 18,1 g/L após 9,25 h; 18,5 g/L após 12,45 h; 12,6 g/L após 9 h; 16,9 g/L após 10,05 h; 24,1 g/L após 12,65 h; 14,5 g/L após 14,40 h.

2.4. Modelos Cinéticos de Processos Fermentescíveis

Nos bioprocessos geralmente ocorre a liberação de energia, seja na presença ou na ausência de oxigênio, a partir de um conjunto de reações enzimáticas, por meio das quais a molécula orgânica é degradada em compostos mais simples pela ação de microrganismos (BUSTAMANTE, 2013). A cinética de processos fermentescíveis vem sendo estudada há alguns anos (SCHMIDELL *et al*., 2001).

Existem diversos modelos disponíveis na literatura que podem ser utilizados para prever o comportamento de interesse de vários sistemas biológicos. Por exemplo, em 1942, o microbiologista francês Jacques Monod propôs a equação (2) que ficou conhecida como modelo de Monod (ZANARDI; CARVALHO; COSTA JÚNIOR, 2016).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \qquad (\mathbf{2})$$

em que μ_x é a velocidade específica de crescimento do microrganismo (h^{-1}); μ_m é a velocidade máxima de crescimento celular (h^{-1}); C_s é a concentração de substrato no meio ($g \cdot L^{-1}$); K_s é a constante de saturação de Monod ($g \cdot L^{-1}$).

Conforme pode ser observado na equação (2), o modelo de Monod é uma tentativa de relacionar a velocidade específica de crescimento microbiano com o consumo de substrato no meio (SILVA, 2018). O parâmetro K_s pode ser interpretado fazendo-se $C_s = K_s$ na equação (2), o que resulta em $\mu_x = \mu_m/2$. Ou seja, K_s representa a concentração do substrato na qual a velocidade específica de crescimento é a metade do seu valor máximo (SCHMIDELL *et al*., 2001).

O modelo de Monod, devido a sua simplicidade e por possuir parâmetros com significados físicos, normalmente é o ponto de partida para muitos trabalhos. Por exemplo, Birol *et al.,* (1998) utilizaram o modelo de Monod para investigar as características de fermentação de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 em um reator batelada e agitado, com concentrações iniciais de glicose de 20, 40, 80 e 100 $g \cdot L^{-1}$. O modelo foi considerado satisfatório e os resultados mostraram um valor de μ_m igual a 0,758 h^{-1} e K_s igual a 362,65 $g \cdot L^{-1}$.

Gretschmann (2009) aplicou o modelo de Monod para simular a produção de etanol com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* com presença de caldo de cana-de-açúcar como fonte de substrato, na concentração inicial de 100 g·L^{-1}. Os resultados mostraram valores de μ_m igual a 0,0955 h^{-1} e K_s igual a 325,82 g·L^{-1}.

Nascimento *et al.,* (2018) usaram o modelo de Monod como forma de representar a fermentação do caldo de jabuticaba na presença de *Saccharomyces cerevisiae*. Foi realizado o monitoramento da concentração celular (biomassa), açúcares redutores totais (substrato) e etanol (produto) ao longo do tempo. Os resultados mostraram valores de μ_m igual a 0,04176 h^{-1} e K_s igual a 80 g·L^{-1}.

Apesar de muito utilizado, o modelo de Monod não é viável quando existem componentes metabólicos tóxicos que inibem o crescimento celular. Isso porque ele não leva em consideração o efeito inibidor causado, tanto pelo substrato como pelo produto formado (ZANARDI; CARVALHO; COSTA JÚNIOR, 2016). A ausência de inibição é uma situação pouco comum na prática, principalmente durante um cultivo batelada, onde há um crescente acúmulo de metabólitos que acabam interferindo de modo desfavorável o crescimento microbiano.

Pode-se atenuar esses efeitos inibitórios fazendo-se operações em semi batelada, ou seja, adicionando os nutrientes ao reator durante o cultivo. Uma alternativa é utilizar uma concentração inicial de substrato relativamente baixo, o que resultaria em baixas concentrações de produtos inibidores. Essa alternativa é pouco interessante do ponto de vista industrial, visto que baixas concentrações de produtos acarretam custos elevados na fase de separação e purificação.

O efeito do substrato se manifesta quando um valor alto da concentração inicial de C_s pode, ao invés de aproximar μ_x de μ_m, provocar um efeito contrário, causando uma inibição no crescimento celular. Em geral, o modelo de Monod só se aplica para valores relativamente baixos de C_s, menores ou iguais a K_s (BRANDÃO, 2002).

A equação (3) representa o modelo de Monod modificado e foi proposta para explicar a redução na velocidade específica de crescimento do microrganismo provocada pelos altos valores iniciais da concentração de substrato, em que K_i (g·L^{-1}) é a constante de inibição pelo substrato (SCHMIDELL *et al*., 2001).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \cdot \frac{K_i}{K_i + C_s} \quad (\mathbf{3})$$

Pela equação (3) nota-se que se $\mathrm{K_i} \gg C_s$, então essa equação se reduz a equação original de Monod e, consequentemente, o efeito inibidor do substrato sobre o crescimento não é mais levado em consideração.

Halder *et al.,* (2016) analisaram a produção de bioetanol de *Madhuca indica* com *Saccharomyces cerevisiae*. Os experimentos foram investigados para três diferentes concentrações iniciais de substrato e os resultados mostraram que o efeito inibidor do substrato inviabilizou o uso do modelo de Monod.

Em 1936, portanto, antes mesmo do modelo de Monod, Teissier propôs uma relação semilogarítmica, equação (4), entre velocidade de crescimento e concentração de substrato como forma de explicar os efeitos dos hormônios no crescimento de certas culturas (VARGAS, 2017).

$$\mu_X = \mu_m \cdot \left[1 - exp\left(-\frac{C_s}{K_s}\right)\right] \quad (\mathbf{4})$$

Ali *et al*., (2021) usaram o modelo de Teissier para analisar a eficácia da *Chlorophyta picocystis sp.* na remoção do contaminante bisfenol do esgoto doméstico. O modelo apresentou um bom ajuste aos dados experimentais com um coeficiente de determinação igual a 0,92.

Vários outros modelos foram desenvolvidos a partir de modificações feitas no modelo de Monod. É o caso, por exemplo, do modelo de Moser, que sugere o uso de um parâmetro adimensional n (POLL, 2018). A equação (5) mostra o modelo de Moser que é equivalente ao modelo de Monod para o caso de $n = 1$. Esse parâmetro não possuindo nenhum significado físico-químico, sendo apenas um parâmetro associado ao ajuste do modelo.

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{{C_s}^n}{{K_s}^n + {C_s}^n} \quad (\mathbf{5})$$

Esfahanian *et al*., (2016) empregaram o modelo de Moser para investigar a fermentação do etanol na presença de *Saccharomyces cerevisiae* num biorreator convencional contínuo e num biorreator de membrana contínua. A fonte de substrato foi glicose com concentração inicial de 100 g·L^{-1}. Os resultados mostraram que a inibição pelo substrato foi menor no reator de membrana contínua. Os valores dos parâmetros μ_m, n e K_s estimados foram 0,27 h^{-1}, 1,2 e 24,69 g·L^{-1}, respectivamente.

O modelo de Contois e Fujimoto também é uma modificação do modelo de Monod para considerar não apenas a concentração de substrato, mas também o efeito da concentração de microrganismo (SCHMIDELL *et al*., 2001). Este modelo é dado na forma da equação (6), em que K_c é um parâmetro adimensional (POLL, 2018).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_c \cdot C_x + C_s} \qquad (\mathbf{6})$$

Outro modelo que pode ser mencionado é o modelo de Powell. A grande contribuição desse modelo é que ele une a transferência de massa do substrato por meio da célula à equação Monod, incorporando a difusividade do substrato e sua permeabilidade na membrana (VARGAS, 2017). O modelo pode ser representado pela equação (7), em que K_D é a constante de difusão (g·L^{-1}) e K_s é a constante de saturação (g·L^{-1}).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{(K_s + K_D) + C_s} \qquad (\mathbf{7})$$

Modificações físico-químicas e metabólicas podem explicar a inibição do crescimento microbiano e o modelo de Jerusalimsky e Neronova busca representar a inibição de crescimento pelo substrato e pelo produto (SCHMIDELL *et al*., 2001). Esse modelo é representado pela equação (8), em que C_p é a concentração de produto (g·L^{-1}) e K_P é a constante de inibição pelo produto (g·L^{-1}).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \cdot \frac{K_P}{K_P + C_p} \qquad (\mathbf{8})$$

Mendoza-Turizo *et al.,* (2016) aplicaram o modelo de Jerusalimsky e Neronova na produção de bioetanol com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* sob efeito de campo magnético. Os resultados foram considerados satisfatórios e apresentaram valores de μ_m, K_s e K_P de 0,021 h^{-1}, 30,47 $g \cdot L^{-1}$ e 12,79 $g \cdot L^{-1}$, respectivamente.

O modelo de Andrews considera o substrato como componente limitante de crescimento e inibidor ao mesmo tempo (SCHMIDELL *et al*., 2001). Este modelo é representado pela equação (9), em que μ_m é a velocidade específica máxima de consumo de substrato (h^{-1}) e K_i é a constante de inibição pelo substrato ($g \cdot L^{-1}$).

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_i}} \qquad (9)$$

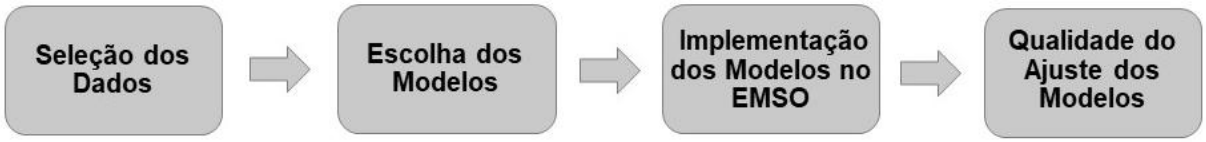
Santana *et al*., (2003) investigaram alterações que ocorrem na biomassa oriunda de um sistema de tratamento de esgoto sanitário, ao ser submetida a condições anóxicas (ausência de oxigênio e presença de nitratos) de desnitrificação. Os ensaios cinéticos foram realizados em distintos estágios da adaptação da biomassa submetida a condições de desnitrificação. O modelo de Andrew proporcionou um bom ajuste dos dados experimentais.

Reginatto *et al.,* (2008) utilizaram o modelo de Andrews num reator de lodo ativado, aplicado num processo de nitrificação, com o objetivo de avaliar o comportamento da cultura mista de microrganismos. O lodo adotado como inóculo foi diluído de forma a deixar a concentração de sólidos suspensos voláteis no reator em torno de 3,6 $g \cdot L^{-1}$ e, para quantificar as possíveis mudanças que ocorreram no lodo por causa da alteração do meio de alimentação, foram realizados testes de respirometria. O modelo de Andrews foi capaz de ajustar os dados experimentais.

3. METODOLOGIA

Os dados experimentais utilizados neste trabalho se referem à produção de álcool em reator batelada, com o uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os dados foram obtidos de Schmidell *et al*., (2001). Os modelos cinéticos testados foram o de Monod, Moser, Contois e Andrews. A estimação dos parâmetros e a análise da qualidade do ajuste foi realizada com o auxílio do *software* livre EMSO. A Figura 3 resume as principais etapas adotadas na execução deste estudo e o detalhamento de cada etapa é apresentado nas próximas seções.

Figura 3 – Resumo da metodologia adotada.



Fonte: Própria Autora, (2023).

3.1. Seleção dos Dados Experimentais

A Tabela 2 mostra os dados experimentais obtidos de um cultivo descontínuo de *Saccharomyces cerevisiae*. As medições foram realizadas em intervalos regulares de 4 horas, sendo C_x a concentração celular, C_s a concentração de substrato e C_p a concentração de produto. Schmidell *et al*., (2001) sugerem que estes dados sejam ampliados com o uso de equações polinomiais de ordem elevada, antes do cálculo das velocidades específicas de crescimento, de consumo de substrato e de formação de produto. Este “alisamento” não foi utilizado neste trabalho. Portanto, os dados são exatamente aqueles vistos na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados experimentais de um cultivo descontínuo de *S. cerevisiae*.

Tempo (h)	C_x (g/L)	C_s (g/L)	C_p (g/L)
0	0,91	106,9	0,0
4	0,91	106,9	0,0
8	1,61	96,8	6,2
12	2,42	83,6	15,0
16	3,59	59,9	23,5
20	4,71	31,6	34,3
24	5,51	10,6	42,2
28	5,56	7,0	42,8

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

3.2. Escolha dos Modelos

As equações (10) e (11) foram usadas para descrever o crescimento celular e o consumo de substrato, respectivamente. A taxa específica de consumo de substrato foi calculada a partir da equação (12), sendo $Y_{x/s}$ o fator de conversão de substrato em biomassa e ms o coeficiente de manutenção da célula (h^{-1}).

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_x C_x \qquad (\mathbf{10})$$

$$\frac{dC_s}{dt} = -\mu_s C_x \qquad (\mathbf{11})$$

$$\mu_s = \frac{\mu_x}{Y_{x/s}} + ms \qquad (\mathbf{12})$$

Embora, o coeficiente de manutenção da célula apareça na modelagem, nas simulações realizadas neste trabalho a contribuição deste parâmetro foi considerada desprezível ($ms = 0$). Os modelos de Monod, Moser, Contois e Andrews são reapresentados nas equações (13), (14), (15), e (16), respectivamente.

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (\mathbf{13})$$

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{{C_s}^n}{{K_s}^n + {C_s}^n} \quad (\mathbf{14})$$

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_c \cdot C_x + C_s} \quad (\mathbf{15})$$

$$\mu_x = \mu_m \cdot \frac{C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_i}} \quad (\mathbf{16})$$

A escolha da equação para o cálculo da velocidade específica de crescimento do microrganismo (μ_x) irá determinar a forma das equações (10) e (11) e, portanto, os perfis das curvas de crescimento celular e consumo de substrato.

3.3. Implementação dos Modelos no EMSO

A implementação e simulação dos modelos foi realizada com o programa EMSO. No *software* foram criadas duas estruturas de programação distintas. Na estrutura chamada de *Flowsheet* os modelos foram inseridos, as variáveis identificadas, as condições iniciais informadas e o método de resolução estabelecido. Na estrutura chamada *Estimation* o método de estimação de parâmetros foi escolhido (*Nonlinear Programming Solver* – NPL), o nível de confiança estatístico definido (95%) e as estimativas iniciais de cada parâmetro informadas. As Figuras 4 e 5 mostram uma parte da *Flowsheet* e do *Estimation* implementados no EMSO, respectivamente.

Figura 4 – Parte de uma *flowsheet* implementada no EMSO.

```
81
82  # Definição dos valores das condições iniciais
83  Cso = 106.9;
84  Cxo = 0.91;
85
86  INITIAL
87  Cx = Cxo;
88  Cs = Cso;
89
90  EQUATIONS
91          Mix = (Mim*(Cs^n))/((Ks^n)+(Cs^n));
92          Mis = Mix*(1/Yxs)+ms;
93  diff(Cx)*'h' = Mix*Cx;
94  diff(Cs)*'h' = -Mis*Cx;
95
96  OPTIONS
97  TimeStart = 0.0;
98   TimeStep = 0.1;
99    TimeEnd = 28.0;
100  TimeUnit = 'h';
101
102 end
```

Fonte: Própria Autora, (2023).

Figura 5 – Parte de um *estimation* implementado no EMSO.

```
259     ESTIMATE
260     # PARAMETER   START     LOWER      UPPER      UNIT
261     Mim           0.07      0.001      1.0          ;
262     Ks            1.0       0.1        2.0          ;
263
264     EXPERIMENTS
265     # DATA FILE            WEIGTH      TYPE
266     "DADOSEXPERIMENTAIS.dat"            1         "fit";
267
268     OPTIONS
269     Statistics(
270         Fit=true,
271         Parameter=true,
272         Prediction=false
273     );
274     Significance = 0.95;
275     BiLateral = true;
276     NumJac = true;
277
278     NLPSolver(
279         MaxIterations = 100000,
280         File = "complex"
```

Fonte: Própria Autora, (2023).

3.4. Qualidade do Ajuste dos Modelos

Esta etapa consiste em avaliar a qualidade de ajuste dos modelos e, consequentemente, prosseguir com a etapa de discriminação. Inicialmente foram calculados o Desvio Absoluto Médio (*Mean Absolute Deviation* – MAD) e o Erro Percentual Absoluto Médio (*Mean Absolute Percentage Error* – MAPE), com as equações (17) e (18), respectivamente.

$$MAD = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^{N} |y_i^e - y_i^c| \qquad (\mathbf{17})$$

$$MAPE = \frac{100\%}{N} \cdot \sum_{i=1}^{N} \left| \frac{y_i^e - y_i^c}{y_i^e} \right| \qquad (\mathbf{18})$$

sendo y_i^e o dado real (experimental), y_i^c o dado calculado pelo modelo e N o número de pontos experimentais.

Por fim, foi plotado o gráfico predito *versus* observado em cada caso e com base neste resultado foi calculado o Quadrado do Coeficiente de Correlação entre Valores Preditos e Observados (*Square of the Correlation Coefficient Between Predicted and Observed Values* – $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$) na forma da equação (19), em que $\bar{y}_c$ é a média dos valores calculados e $\bar{y}_e$ a média dos valores experimentais.

$$\left(R_{y_c y_e}\right)^2 = \left[\frac{\sum_{i=1}^{N} (y_i^e - \bar{y}_e)(y_i^c - \bar{y}_c)}{\sqrt{\sum_{i=1}^{N} (y_i^e - \bar{y}_e)^2 \sum_{i=1}^{N} (y_i^c - \bar{y}_c)^2}} \right]^2 \qquad (\mathbf{19})$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o auxílio do programa livre EMSO foram criadas rotinas de simulação para estudar o crescimento celular e o consumo de substrato com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Os modelos cinéticos testados foram Monod, Moser, Contois e Andrews. Os parâmetros foram estimados utilizando *Nonlinear Programming Solver* (NPL) e nível de confiança estatístico de 95%. A partir das rotinas de simulação desenvolvidas, foi possível obter o perfil do consumo de substrato (C_s) e do crescimento celular (C_x) durante as primeiras 28 horas de fermentação.

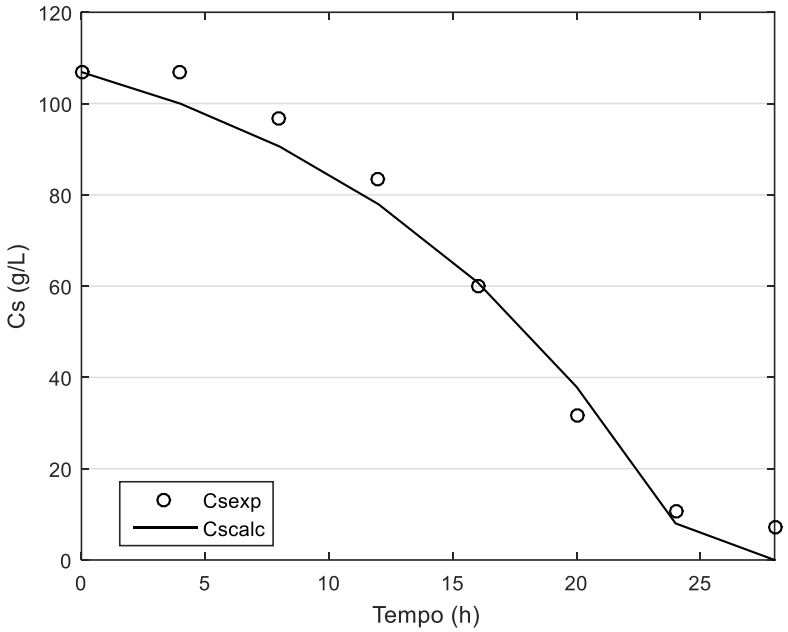
4.1. Ajuste Obtido com o Modelo de Monod

Dos modelos estudados neste trabalho, o modelo cinético de Monod é considerado o de maior simplicidade. Para Zanardi, Carvalho, Costa Júnior (2016), o modelo de Monod é capaz de descrever adequadamente a cinética fermentativa de muitos processos, mas o seu uso não é viável quando há componentes metabólicos tóxicos que inibem o crescimento celular. Destaca-se que no estudo em questão, não havia nenhum destes componentes.

O modelo de Monod apresentou um bom ajuste aos dados experimentais conforme pode ver visto nas Figuras 6 e 7. Os pontos discretos representam os dados experimentais. A linha contínua representa o resultado obtido com o uso do modelo. Visualmente é possível observar uma boa aderência do modelo aos dados experimentais.

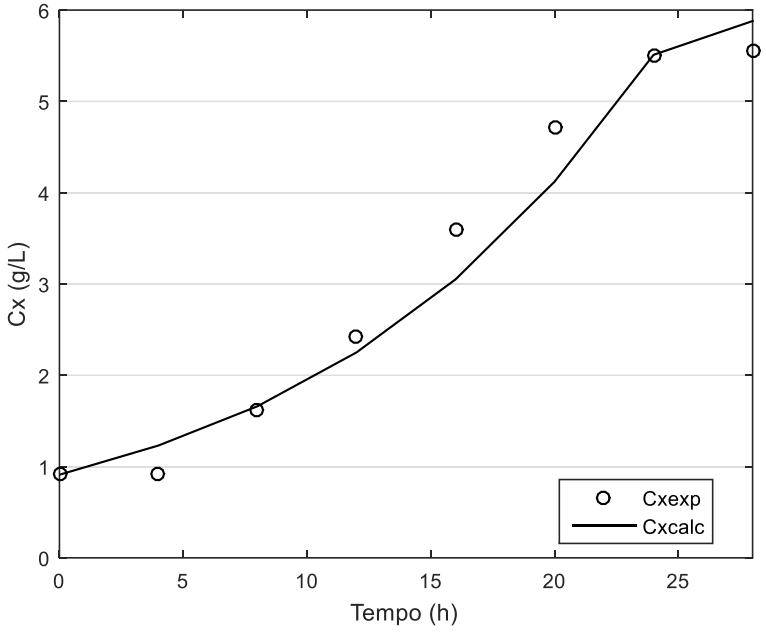
O quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ para o crescimento celular (C_x) e para o consumo de substrato (C_s) foi de 0,9695 e 0,9870, respectivamente. Os valores estimados para μ_m e K_s foi de 0,0763 h^{-1} e de 1,0153 $g \cdot L^{-1}$, respectivamente. Esses valores de μ_m estão de acordo com Gretschmann (2009) e Nascimento *et al.,* (2018), sendo estes iguais a 0,0955 h^{-1} e 0,04176 h^{-1}, respectivamente.

Figura 6 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Monod.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 7 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Monod.



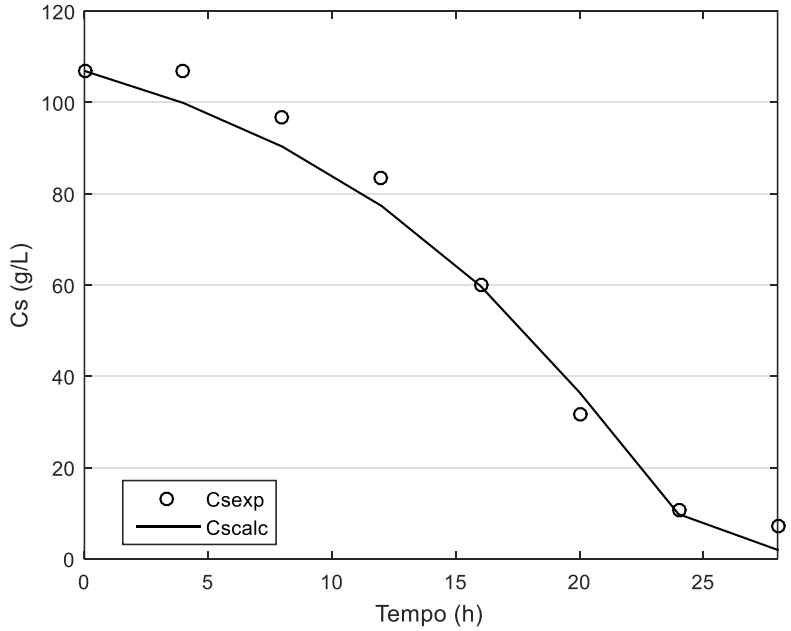
Fonte: Própria autora, (2023).

4.2. Ajuste Obtido com o Modelo de Moser

De acordo com Schmidell *et al*. (2001), o modelo de Moser se diferencia do modelo de Monod apenas pela inclusão do parâmetro adimensional (n); portanto, para n igual a 1 o modelo de Moser se torna exatamente igual ao modelo de Monod.

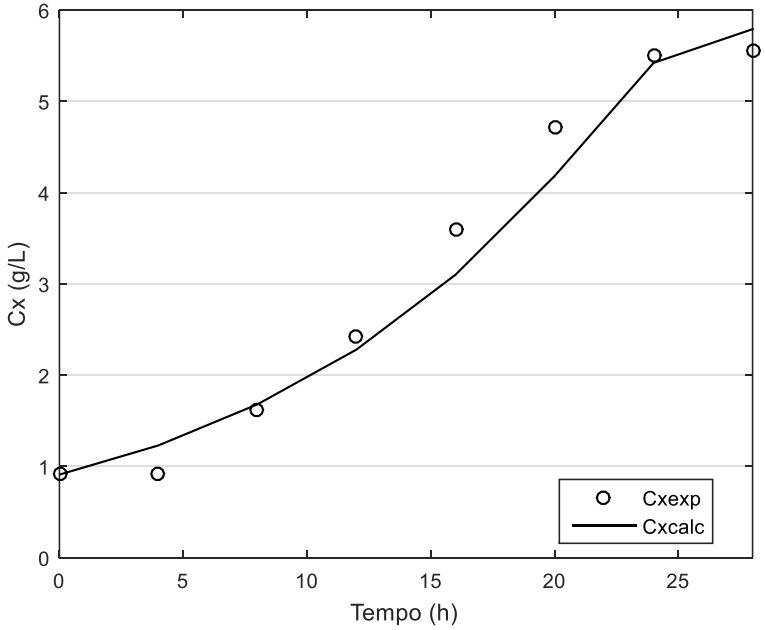
As Figuras 8 e 9 mostram os resultados obtidos com o modelo de Moser. O quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ para o crescimento celular (C_x) e para o consumo de substrato (C_s) foi de 0,9716 e 0,9899, respectivamente. Os valores estimados para a velocidade específica máxima (μ_m), para a constante de saturação (K_s) e para o parâmetro adimensional (n) foram 0,0771 h^{-1} e 8,4311 $g \cdot L^{-1}$ e 2,014, respectivamente.

Figura 8 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Moser.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 9 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Moser.



Fonte: Própria autora, (2023).

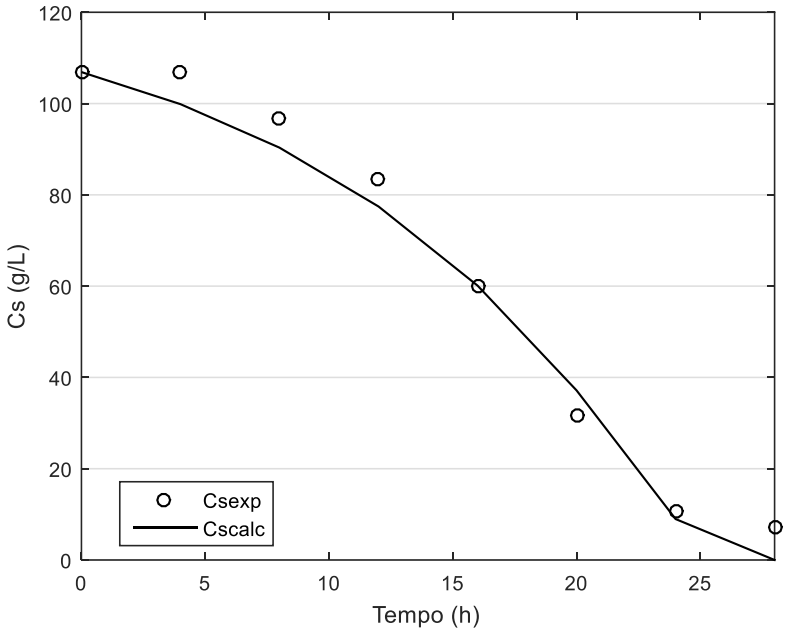
4.3. Ajuste Obtido com o Modelo de Contois

Diferentemente do modelo de Moser, o modelo de Contois, assim como o modelo de Monod, apresenta apenas dois parâmetros para serem estimados. Portanto, em relação ao número de parâmetros este modelo oferece maior simplicidade.

Segundo Petruccelli, Meleiro e Mancini (2019), o modelo de Contois e Fujimoto leva em consideração apenas um substrato limitante. Para Poll (2018), o modelo de Contois é mais acurado para substratos compostos por lipídeos e outras substâncias orgânicas complexas, pois considera a concentração da população de microrganismos.

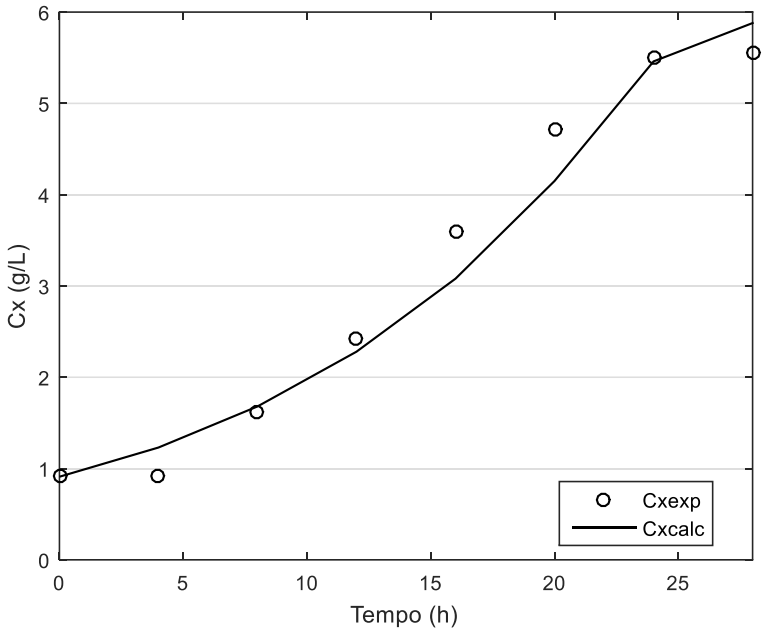
As Figuras 10 e 11 mostram o perfil de consumo de substrato ($\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ igual a 0,9894) e de crescimento celular ($\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ igual a 0,9740) obtidos pelo modelo de Contois e Fujimoto, respectivamente. O valor estimado para μ_m foi de 0,0783 h^{-1} e para a constante de saturação foi de 0,9345 $g \cdot L^{-1}$.

Figura 10 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Contois.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 11 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Contois.



Fonte: Própria autora, (2023).

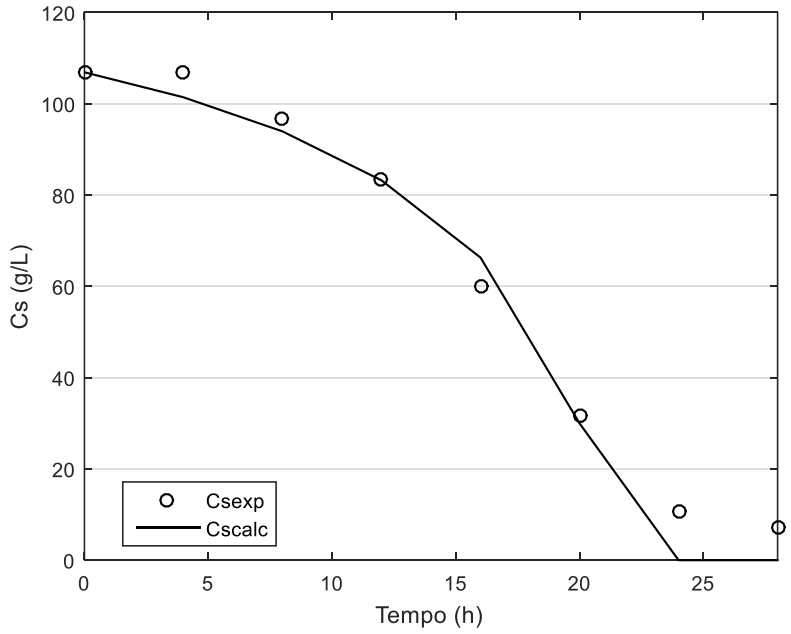
4.4. Ajuste Obtido com o Modelo de Andrews

As Figuras 12 e 13 mostram o ajuste obtido com o modelo de Andrews para o consumo de substrato e crescimento celular, respectivamente. Este modelo, diferentemente dos casos anteriores, previu um término de substrato em torno de 24 horas e um crescimento celular acima do obtido experimentalmente. Portanto, visualmente ele apresentou resultados menos satisfatórios.

Para Thatipamala, Rohani e Hill (1992) o efeito inibidor provocado pelo substrato em uma fermentação alcoólica com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* ocorre quando a concentração supera 150 g·L^1. Para os dados experimentais utilizados neste trabalho, a concentração de substrato é inferior a este valor, o que pode justificar a qualidade inferior deste modelo, quando comparado com os demais.

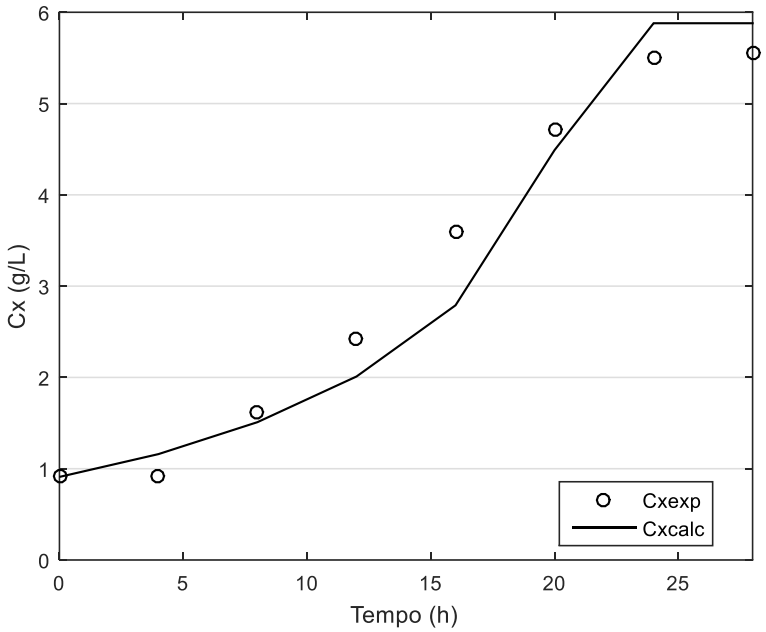
Ainda assim, o quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ para o consumo de substrato foi de 0,9819 e para o crescimento celular foi de 0,9548. Os valores estimados para μ_m, K_s e K_i foi de 0,8197 h^{-1}, 5,7806 g·L^{-1} e 8,4834 g·L^{-1}, respectivamente.

Figura 12 – Previsão do consumo de substrato usando o modelo de Andrews.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 13 – Previsão do crescimento celular usando o modelo de Andrews.



Fonte: Própria autora, (2023).

4.5. Comparação entre os Modelos

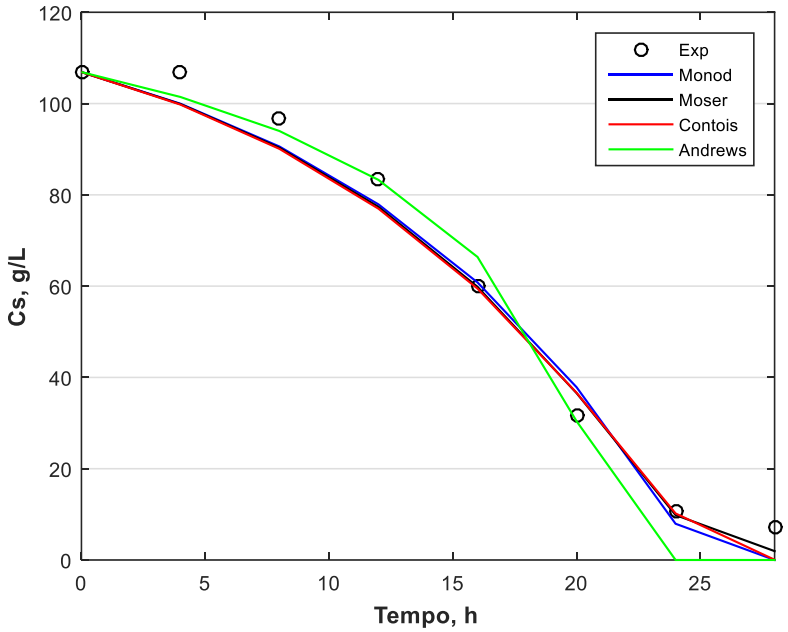
A Tabela 3 apresenta os valores dos parâmetros estimados em cada modelo. As Figuras 14 e 15 mostram o perfil de C_s e C_x de todos os casos. As curvas obtidas com Monod, Moser e Contois diferenciam-se minimamente nos instantes finais da fermentação. O modelo de Andrews, como já destacado anteriormente, apresenta uma cinética um pouco mais lenta.

Tabela 3 – Parâmetros estimados no EMSO.

Modelos	μ_m (h^{-1})	K_s ($g \cdot L^{-1}$)	K_i ($g \cdot L^{-1}$)	n
Monod	0,0763	1,0153	-	-
Moser	0,0771	8,4311	-	2,014
Contois	0,0783	0,9345	-	-
Andrews	0,8197	5,7806	8,4834	-

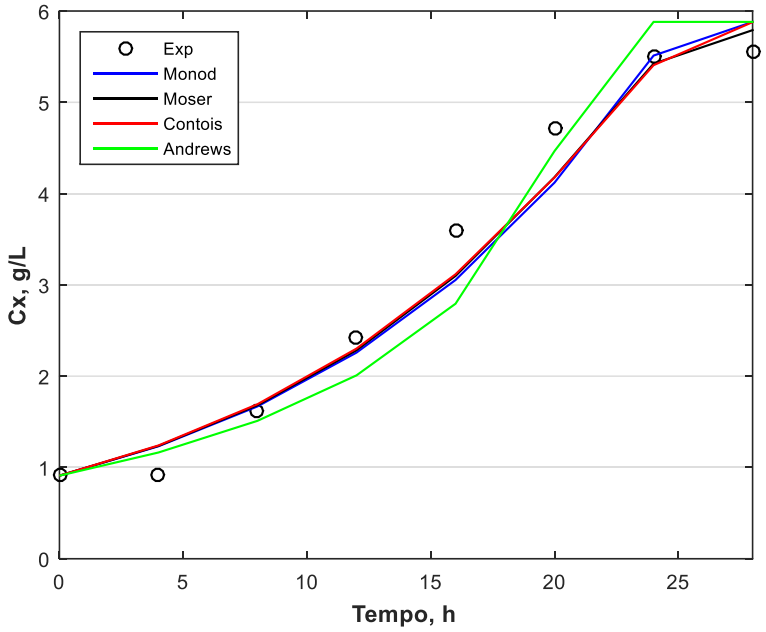
Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 14 – Comparação entre os modelos para o consumo de substrato.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 15 – Comparação entre os modelos para o crescimento celular.



Fonte: Própria autora, (2023).

As Figuras 16, 17, 18 e 19 mostram os resultados obtidos com o programa EMSO para os modelos de Monod, Moser, Contois e Andrews, respectivamente. No campo *Estimated Parameter* é apresentado os nomes dos parâmetros que foram estimados em cada modelo. Em *Parameter Estimatives* são apresentados os valores obtidos dos parâmetros após a estimação pelo método NPL.

Em *Parameter confidences* são apresentadas as regiões de confiança de cada parâmetro estimado. Portanto, estes valores devem ser sempre menores do que aqueles apresentados em *Parameter Estimatives.* Essa característica se faz presente nos seguintes parâmetros: Monod (μ_m e K_s), Moser (μ_m e n), Contois (μ_m e K_s) e Andrews (μ_m e K_i).

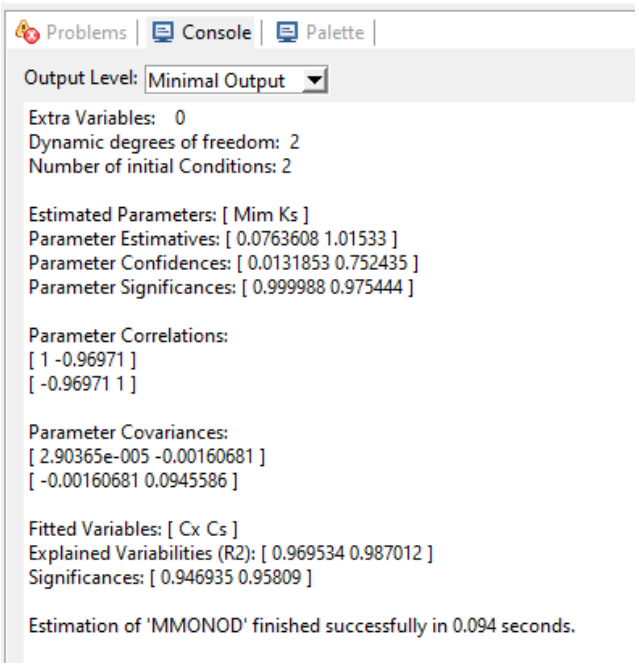
No campo *Parameter significances* é possível verificar o nível de significância dos parâmetros estimados. Os parâmetros estimados para os modelos de Monod (μ_m e K_s), Moser (μ_m e n), Contois (μ_m e K_s) e Andrews (μ_m e K_i) apresentaram valores superiores a 97%, o que mostra uma boa qualidade. Entretanto, o parâmetro K_s para o modelo de Moser, assim como para o modelo de Andrews apresentou um valor pouco significativo, sendo de 88% e 87%, respectivamente. Observa-se que em ambos os casos o intervalo de confiança é maior que o valor do próprio parâmetro, o que indica que o valor zero faz parte do intervalo no qual este possa estar. Desse modo, constata-se que estes modelos não são adequados para descrever os dados experimentais, devendo, portanto, serem descartados para as análises seguintes.

A correlação entre os parâmetros pode ser vista em *Parameter correlations*. Valores próximos de 1 indicam correlação linear direta entre os parâmetros. Valores próximos de -1 indica correlação linear na forma inversa. Para os casos investigados, os modelos de Monod e Contois apresentaram parâmetros com elevado nível de correlação linear. De acordo com Schwaab e Pinto (2001), correlações significativas dificultam os procedimentos de estimação de parâmetros, pois o ajuste em um parâmetro afetará o outro.

Em *Explained variables* pode-se verificar a qualidade do modelo testado para fins de previsão do consumo de substrato (C_s) e do crescimento celular (C_x). Apesar do parâmetro K_s ser pouco significativo para os modelos de Moser e Andrews, em todos os casos analisados, os resultados obtidos para a qualidade dos modelos foram

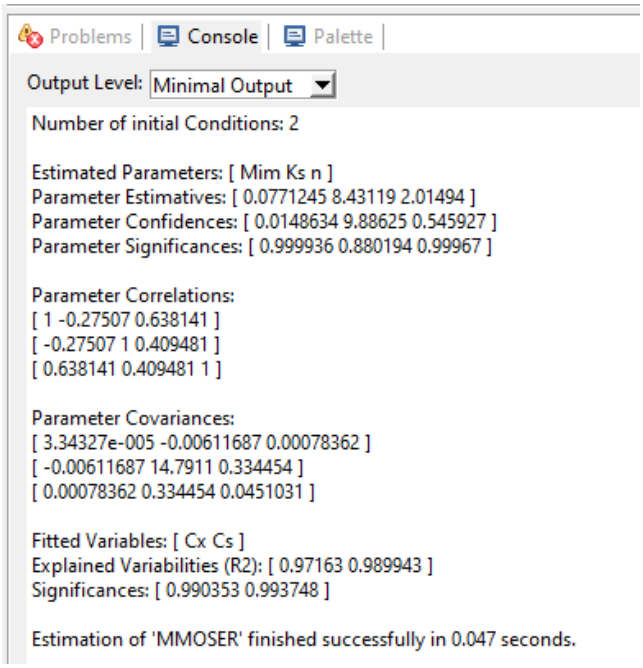
superiores a 94%, indicando um bom ajuste aos dados experimentais. De toda forma, para as demais análises serão considerados apenas os modelos de Monod e Contois.

Figura 16 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Monod.



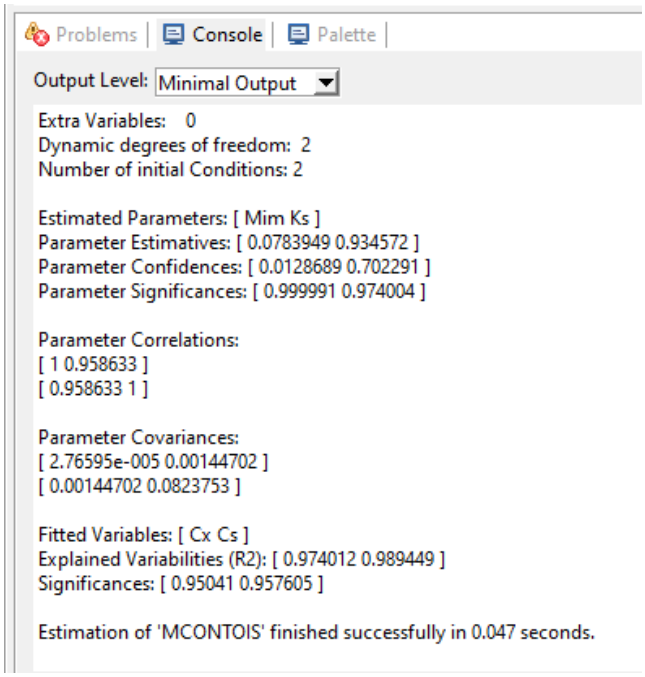
Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 17 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Moser.



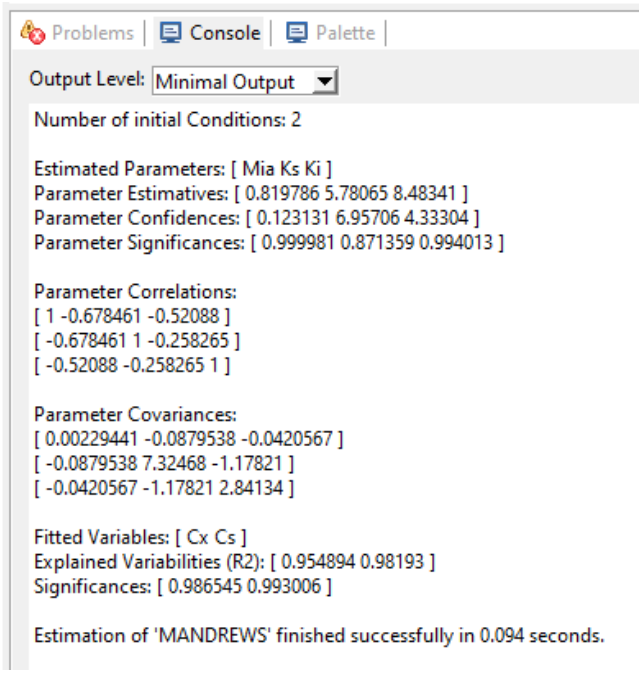
Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 18 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Contois.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 19 – Resultados obtidos com o programa EMSO para o modelo de Andrews.



Fonte: Própria autora, (2023).

As Figuras 20 e 21 mostram os desvios absolutos para o consumo de substrato e para o crescimento celular, respectivamente. Os resíduos absolutos foram calculados fazendo-se a diferença entre o valor real (experimental) e o valor calculado pelo modelo.

De acordo com Montgomery (2009), um bom modelo não deve apresentar elevados valores de resíduos e/ou resíduos com distribuições tendenciosas. Graficamente, os resíduos devem estar próximos de zero e distribuídos aleatoriamente. As Figuras 20 e 21 mostram resíduos com comportamento aleatório, sendo que os dados calculados pelo modelo se distanciam mais dos dados reais no consumo de substrato do que no crescimento celular. Ainda assim, trata-se de apenas uma análise visual.

A Tabela 4 mostra o resultado do Desvio Absoluto Médio (*Mean Absolute Deviation*) calculado com a equação (17). O MAD é uma estatística de erro que faz a média da distância entre cada par de pontos de dados experimentais e calculados pelo modelo. Vale destacar que o MAD é uma medida de erro relativo que usa valores absolutos para evitar que os erros positivos e negativos se cancelem. Os resultados mostram que o modelo de Moser apresenta o menor valor de MAD tanto para o crescimento celular, quanto para o consumo de substrato.

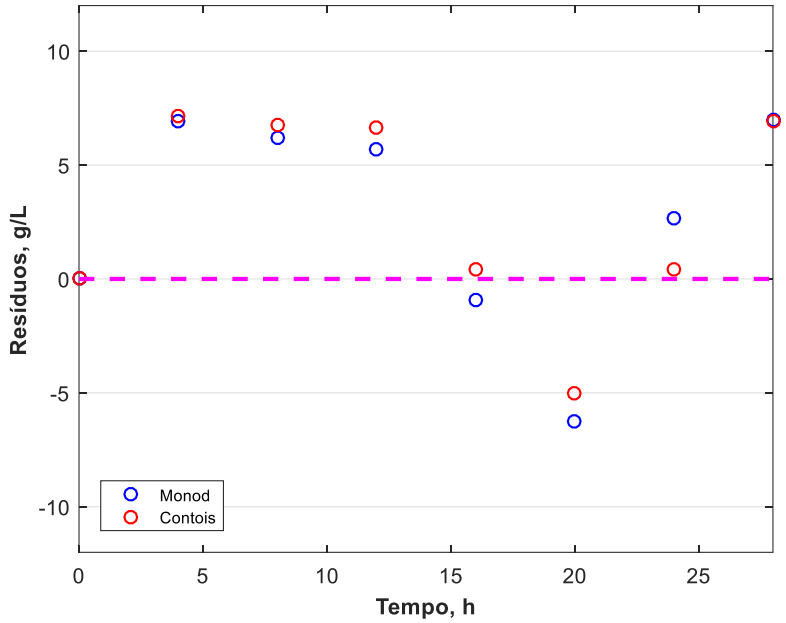
Tabela 4 – Resultados obtidos com a estatística MAD.

MAD	Monod	Contois
C_x (g/L)	0,2490	0,2451
C_s (g/L)	4,4586	4,1683

Fonte: Própria Autora, (2023).

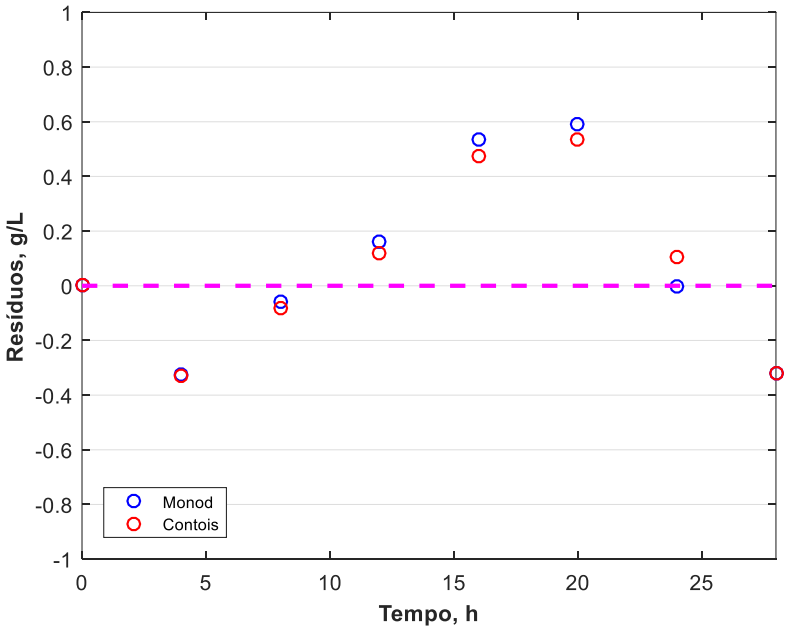
Embora as unidades envolvidas seja g/L tanto para o consumo de substrato como para o crescimento celular, observa-se que a variação de ambas não ocorre na mesma ordem de grandeza. É possível ponderar os resultados usando o Erro Percentual Absoluto Médio (MAPE), na forma da equação (18). A Tabela 5 mostra os valores calculados.

Figura 20 – Desvios absolutos para o consumo de substrato.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 21 – Desvios absolutos para o crescimento celular.



Fonte: Própria autora, (2023).

Tabela 5 – Resultados obtidos com a estatística MAPE.

$MAPE$	Monod	Contois
C_x (%)	9,88	9,82
C_s (%)	20,77	17,67

Fonte: Própria autora, (2023).

O MAPE é uma medida de erro relativo que usa valores absolutos para evitar que os erros positivos e negativos se cancelem e usem erros relativos para permitir comparar a precisão da previsão em termos percentuais. Pela Tabela 5, verifica-se que o modelo de Contois apresentou os menores valores para a estatística MAPE, com 9,82% para C_x e 17,67% para C_s.

As Figuras 22 e 23 mostram a relação entre os valores preditos pelos modelos *versus* os valores observados experimentalmente. A linha tracejada representa a situação ideal, ou seja, a condição perfeita, em que os dados previstos são exatamente iguais aos dados observados.

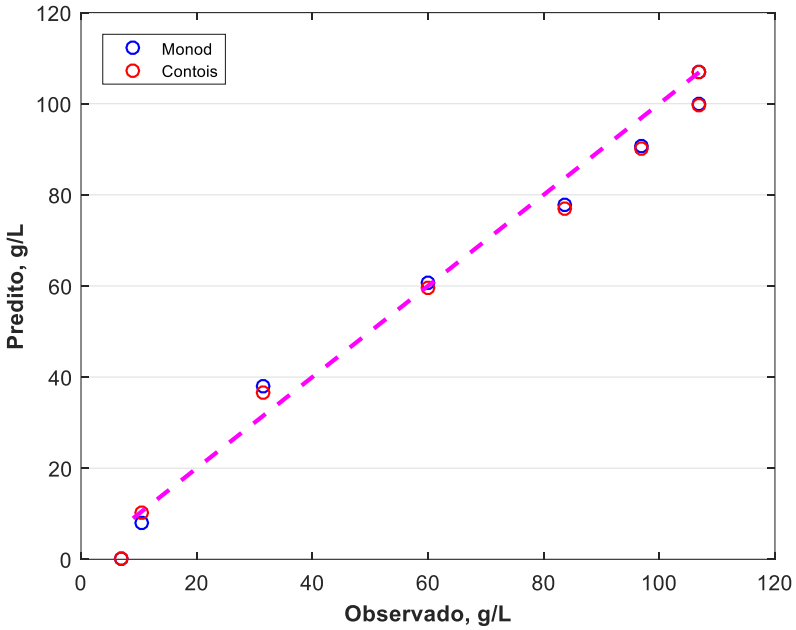
Entretanto, esta é apenas uma análise visual, não sendo suficiente para fazer a discriminação dos modelos. O quadrado do coeficiente de correlação entre valores preditos e observados $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ calculado com a equação (19) é apresentado na Tabela 6. Nota-se que o modelo de Contois é o que apresenta melhores resultados, com $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$ mais próximos de 1,0.

Tabela 6 – Quadrado do coeficiente de correlação para os gráficos predito *versus* observado.

Modelos	$\left(R_{y_c y_e}\right)^2 (C_x)$	$\left(R_{y_c y_e}\right)^2 (C_s)$
Monod	0,9693	0,9873
Contois	0,9737	0,9886

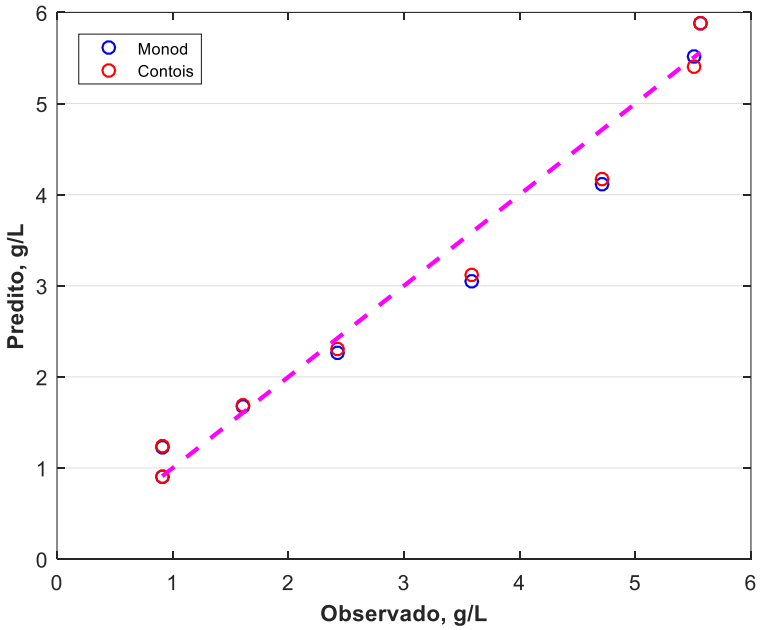
Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 22 – Predito *versus* observado para o consumo de substrato.



Fonte: Própria autora, (2023).

Figura 23 – Predito *versus* observado para crescimento celular.



Fonte: Própria autora, (2023).

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1. Conclusões

A plataforma EMSO tem se mostrado de grande utilidade para pesquisas na área da engenharia, uma vez que está disponível gratuitamente, é um código de fonte-aberta e apresenta ferramentas relevantes para a modelagem, simulação, controle e otimizações de processos, seja em condições transiente ou estacionária. Neste trabalho foram implementados os modelos de Monod, Moser, Contois e Andrews no EMSO para estudar a melhor cinética capaz de predizer o crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e o consumo de substrato (caldo de cana-de-açúcar) na produção de álcool em biorreator batelada. Após análise, os modelos de Moser e Andrews foram descartados devido à baixa significância apresentada pelo parâmetro K_s. Observou-se ainda uma diferença pouco significativa entre os modelos de Monod e Contois quanto às análises estatísticas realizadas (MAD, MAPE, $\left(R_{y_c y_e}\right)^2$), todavia os melhores resultados foram obtidos com o uso do modelo de Contois e os parâmetros estimados estão de acordo com aqueles encontrados na literatura. Além disso, foi possível observar que o *software* EMSO facilitou o desenvolvimento do trabalho e a análise dos resultados, portanto, pode ser considerado uma plataforma útil para este tipo de estudo.

5.2. Sugestões para Trabalhos Futuros

Para continuidade deste trabalho, sugere-se avaliar novos modelos com estruturas diferentes daquelas apresentadas aqui, tanto em termos de variáveis de interesse (e suas relações), quanto em termos de parâmetros (e suas relações). Recomenda-se também a incorporação das informações da concentração de produto nesses modelos, já que esta é uma importante variável para processos biotecnológicos. Por fim, mas não menos importante, indica-se avaliar outras concentrações, bem como outros substratos empregados na produção de etanol.

6. REFERÊNCIAS

ALI, R. B. *et al*. **Bisphenol A removal by the Chlorophyta Picocystis sp.: optimization and kinetic study.** International Journal of Phytoremediation, vol. 23, n° 8, p. 818-828. 2021.

ALSAMMAR, H.; DELNERI, D. **An update on the diversity, ecology and biogeography of the Saccharomyces genus.** FEMS Yeast Research, v. 20, n. 3, 20 mar. 2020.

ANDRADE, R. R. **Modelagem Cinética do Processo de Produção de Etanol a Partir de Hidrolisado Enzimático de Bagaço de Cana-de-Açúcar Concentrado com Melaço Considerando Reciclo de Células.** Tese de Doutorado, 284p. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2012.

ARRUDA, A. G. **PRODUÇÃO DE CELULASES EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS.** Dissertação de Mestrado, 75p. Universidade Federal de Uberlândia. 2019.

BATISTOTE, M. *et al.* **Desempenho de leveduras obtidas em indústrias de Mato Grosso do Sul na produção de etanol em mosto a base de cana de açúcar.** Ciência e Natura, UFSM, 32 (2): 83 - 95, 2010.

BERTUCI, M. L. **Produção de etanol 2G a partir de hidrolisados de cascas de arroz por co-cultura de *Saccharomyces cerevisiae* e *Pachysolen tannophilus* imobilizadas em alginato de sódio.** Dissertação de Mestrado, 87p. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. 2021.

BEN. Balanço Energético Nacional 2023. Empresa de Pesquisa Energética. Disponível em: https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2023. Acesso em: 20 de outubro de 2023.

BIROL, G. *et al.* **Mathematical description of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae.*** Process Biochemistry, vol. 33, No. 7, pp. 763-771. 1998.

BRANDÃO, H. L. **TRANSFERÊNCIA DE MASSA NO PROCESSO DE BIODEGRADAÇÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS EM REATORES COM BIOFILME**. Tese de Doutorado, 210p. Universidade Federal de Santa Catarina. 2002.

BUSTAMANTE, M. C. C. **Transferência de Oxigênio e Condições de Cisalhamento em Biorreator Convencional com Impelidores Orelha de Elefante.** Tese de Doutorado. Universidade de São Carlos. São Carlos, 2013.

CAMARGOS, C. V. **Produção de Etanol Utilizando Melaço de Cana-de-Açúcar por *Saccharomyces cerevisiae* de Características Floculantes.** Dissertação de Mestrado, 99p. Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas – MG. 2019.

CASTANHEIRA, D. D. **Estudos sobre a produção de etanol em células de *Saccharomyces cerevisiae* com maior atividade da enzima H^+-ATPase de**

membrana citoplasmática. Dissertação de Mestrado, 83p. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto – MG. 2013.

CATELAN, T. C.; PINOTTI, L. M.; SOARES, V. B. **Use of Non-linear Empirical Models to Predict the Substrate Degradation, Enzymatic Activity and Cell Growth in a Bioreactor with *Aspergillus niger* and Sugarcane Bagass.** Waste and Biomass Valorization, Volume 12, pages 4433–4440, 2021.

ESFAHANIAN, M.; *et al.* **Mathematical modeling of continuous ethanol fermentation in a membrane bioreactor by pervaporation compared to conventional system: Genetic algorithm.** Bioresource Technology, vol. 212, p. 62-71. 2016.

GÓES-FAVONI, S. P.; *et al*. **Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento.** Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, v.9, n.4, p.285-296, 2018. DOI: http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.004.0023

GRETSCHMANN, A. S. **Ajuste de Curvas na Produção de Etanol num Processo em Batelada. X Encontro Gaúcho de Educação Matemática.** Ijuí – RS. Junho, 2009.

HALDER, G. *et al.* **Computational simulation and statistical analysis of bioethanol production from *Madhuca indica* by batch fermentation process using *Saccharomyces cerevisiae*.** Sustainable Energy Technologies and Assessments, vol. 18, pág. 16-33. 2016.

HENRICHSEN, L. **Modelagem Matemática para Simulação da Produtividade da Aveia pelo Nitrogênio Líquido Via Absorção Foliar e Sólido de Absorção Radicular com Caracterização das Condições Ambientais**. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí. Ijuí - RS, 2019.

LOPES, M. L. *et al*. **Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 47, n. 1, p. 64–76, 2016.

MARTIN, C.; *et al.* **Adaptation of a recombinant xylose utilizing S*accharomyces cerevisiae* strain to a sugarcane bagasse hydrolysate with high content of fermentation inhibitors.** Bioresource Technology, v. 98, p. 1767- 1773, 2006.

MELO, V. M. ***Saccharomyces*, principais parâmetros e sua importância no ambiente cervejeiro.** Monografia, 53p. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. 2023.

MENDOZA-TURIZO, M. G.; *et al.* **Modeling of bioethanol production in unconventional bioreactor assisted by electromagnetic field.** International Journal of Energy Research, vol. 41, p. 103–112. 2016.

MONTGOMERY, D. C. **Introduction to Statistical Quality Control.** 6° ed. Danvers: John Wiley & Sons, 2009.

MORAIS, M. R. **Estudo sobre interações entre leveduras *Saccharomyces cerevisiae* nas fermentações em batelada alimentada em altas temperaturas.** Tese de Doutorado. 134p. UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. 2013.

NASCIMENTO, A. I. L. F. *et al.* **Avaliação do Modelo de Monod para fermentação em caldo residual da casca de jabuticaba.** Scientia Plena, vol. 14, n° 06. 2018.

PETRUCCELLI, G. M.; MELEIRO, L. A. C.; MANCINI, M. C. **Discriminação de Modelos Cinéticos Aplicados à Produção de Biomassa de *Herbaspirillum Seropedicae* em Biorreator em Batelada Utilizando o Software EMSO.** Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Uberlândia – MG. Julho, 2019.

PINOTTI, L. M. *et al.* **Biodiesel Production from Oily Residues Containing High Free Fatty Acids.** Waste and Biomass Valorization. Vol. 9, nº 2. Pág. 293-299. Novembro, 2016.

POLL, E. R. **Estimação de parâmetros dos Modelos Cinéticos de Monod e Contois na produção de biogás de resíduos de curtume.** Trabalho de Diplomação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2018.

REGINATTO, V.; *et al.* **Avaliação de um reator de lodo ativo aplicado à nitrificação utilizando ensaios cinéticos**. Acta. Science Thecnology. Maringá. v. 30. n.1. p. 49-55. 2008.

RFA. Renewable Fuels Association. **Annual Fuel Ethanol Production: U.S. and World Ethanol Production**. Disponível em: https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production. Acesso em: 10 de outubro de 2023.

ROEPCKE, C. B. S. **DESENVOLVIMENTO DE BIOPROCESSO PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA RICA EM ZINCO ORGÂNICO.** Dissertação de Mestrado. 148p. Universidade Federal do Paraná. 2007.

SANTANA, F. B. *et al.* **UTILIZAÇÃO DE ENSAIOS DE ATIVIDADE ESPECÍFICA PARA A AVALIAÇÃO DE UM REATOR DESNITRIFICANTE DE MISTURA COMPLETA.** 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Joinville - Santa Catarina. 2003.

SANTOS, J. R. A.; GUSMÃO, N. B.; GOUVEIA, E. R. **SELEÇÃO DE LINHAGEM INDUSTRIAL DE *Saccharomyces cerevisiae* COM POTENCIAL DESEMPENHO PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL EM CONDIÇÕES ADVERSAS DE TEMPERATURA E DE AGITAÇÃO.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.12, n.1, p.75-80, 2010.

SCHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia Industrial.** Volume 2. Editora Edgard Blucher LTDA. P. 560. 2001.

SCHWAAB, M.; PINTO, J. C. **Análise de Dados Experimentais I: Fundamentos de Estatística e Estimação de Parâmetros.** E-paper, Rio de Janeiro, 2001.

SILVA, C. L. *et al*. **Modelagem e estimação de parâmetros do processo de produção de etanol em reator batelada por *Saccharomyces cerevisiae*.** Scientia Plena, vol. 12, nº 05. 2016.

SILVA, F. H. **CULTIVO DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE EM PROCESSOS DESCONTÍNUO E DESCONTÍNUO ALIMENTADO UTILIZANDO MEL INVERTIDO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL.** Dissertação de Mestrado. 117p. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ. 2016.

SILVA, M. D. **Produção de etanol de segunda geração por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602 a partir da hidrólise ácida de sabugo de milho (*Zea mays* L.).** Dissertação de Mestrado, 101p. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. 2018.

SONEGO, J. L. S.; *et al.* **PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Saccharomyces cerevisiae* EM BATELADA UTILIZANDO PROCESSO EXTRATIVO COM DIÓXIDO DE CARBONO.** COBEQ: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis - SC, 2014.

SUAREZ, P. A. Z. *et al.* **Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na oleoquímica.** Química Nova. 30 (3). Junho, 2007.

TEIXEIRA, J. F. **A LEVEDURA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE:* CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO, DOMESTICAÇÃO E IMPORTÂNCIA NA COMPOSIÇÃO DE VINHOS.** Monografia, 55p. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG. 2015.

OSPINO-PINEDO, J.; SÁNCHEZ, M. E.; MATALLANA-PÉREZ, L, G. **Modeling and control of process using the EMSO simulator and SIMATIC PLC as OPC Interface**. Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia, n. 87, p. 58-69. 2018.

SOARES, R. P. **Manual do *Software* EMSO**, 135 p.; 2007.

TIRPAN, D. R. C. *et al.* **Bioethanol Production From Dry Ulva Lactuca Algae By Alcoholic Fermentation.** CELLULOSE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY, v. 53 (3-4), p. 341-346. 2019.

THATIPAMALA, R.; ROHANI, S.; HILL, G. A. **Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentation.** Biotechnology and Bioengineering, v. 40, n. 2, p. 289-297, 1992.

VARGAS, J. F. C. **AJUSTE DE UN MODELO CINÉTICO PARA EL CRECIMIENTO DE *Lactobacillus acidophilus* EN LA FERMENTACIÓN DE UN SUSTRATO COMPLEJO.** Projeto de Graduação, 78p. Fundación Universidad de América. Bogotá, 2017.

ZANARDI, M. S.; CARVALHO, R. V.; COSTA JÚNIOR, E. F. **DESCRIÇÃO MATEMÁTICA E SIMULAÇÃO DE MODELOS CINÉTICOS NA PRODUÇÃO DE ETANOL.** e-xacta, v. 9, n. 2, p. 21-31. (2016). doi: 10.18674/exacta.v9i2.1762

ZAVARISE, J. P. **Produção e parcial purificação de celulases produzidas por *Trichoderma koningii*.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo. 2018.