

# ESTUDO DA MODELAGEM DA PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 EM BIORREATOR

M. U. JANECZKO<sup>1</sup>, J. KILIAN<sup>1</sup>, A. B. J. SOARES<sup>2</sup> e M. B. A. SOARES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Departamento de Ciências Agrárias

<sup>2</sup> Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Departamento de Engenharias e Ciências da Computação

E-mail para contato: alvarado@uricer.edu.br

**RESUMO** – Alguns micro-organismos estão sendo estudados como potenciais de bioprodução de carotenoides e podem ser utilizados na indústria de alimentos. O desenvolvimento do modelo matemático permitirá descrever o processo e a sua otimização proporcionará melhorias na produtividade do metabolismo microbiano, através da manipulação dos parâmetros físico-químicos e nutricionais podendo alterar significativamente o rendimento do produto de interesse. O presente trabalho visa o estudo da modelagem matemática e simulação para a produção de carotenoides em biorreator de batelada. Foram propostos os modelos de inibição pelo substrato, inibição pelo produto e inibição pelo substrato e produto para a bioprodução de carotenóides por *Sporidiobolus salminicolor* CBS 2636 em meio sintético nas condições otimizadas do processo a 25°C, pH 4,0, 180 rpm e 80 g/L de substrato. Os modelos descreveram o processo, podendo ser considerados satisfatórios. O modelo com inibição pelo produto obteve menores desvios ao redor de 16% e um R maior a 0,92. O modelo poder ser considerado como uma ferramenta válida para a predição e concepção de um processo de produção de carotenóides.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido à conscientização de consumidores, a busca por alimentos saudáveis tem-se incrementado, e nessa classe de alimentos podemos citar os prebióticos, como alimentos funcionais, destacando-se a demanda por carotenóides na indústria alimentar. Os carotenóides formam um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais amplamente utilizados na indústria de alimentos. Por isso a modelagem de bioprocessos vem sido utilizada amplamente para a otimização das condições operacionais visando aumentar a sua produção.

Comercialmente, os carotenóides são usados como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais. No Brasil, a indústria de alimentos representa cerca de 4 % do PIB e 30 % do total das exportações. Hoje, os carotenóides utilizados industrialmente são obtidos por via química ou extração de plantas e/ou algas, mas devido à preocupação com o uso de aditivos químicos em alimentos, há interesse nos carotenóides obtidos naturalmente por processos

biotecnológicos. Embora os corantes sejam considerados essenciais à indústria de alimentos, podendo ser obtidos através de fontes naturais, este campo ainda não é bem explorado, em particular os produzidos por micro-organismos.

Muitos micro-organismos já estão sendo estudados como potenciais de bioprodução. Além disso, a produção de carotenóides também tem sido feita por processos biotecnológicos, utilizando produtos agrícolas de baixo custo e resíduos como soro de queijo (Aksu e Eren, 2005, Valduga *et al.*, 2009), mosto de uva (Buzzini e Martini, 1999), derivados do processamento da cana-de-açúcar (Fontana *et al.*, 1996; Valduga *et al.*, 2008), do processamento de milho (Valduga *et al.*, 2008); e da produção de biodiesel (Saenge *et al.*, 2011) como forma de reduzir os custos de produção e a emissão destes subprodutos industriais e agroindustriais no meio ambiente, pois são ricos em açúcares e matéria orgânica.

O estudo da modelagem matemática permite prever o comportamento dinâmico e estacionário do processo, inclusive em condições não testadas empiricamente, possibilitando a determinação de condições operacionais economicamente ótimas do sistema, avaliando o projeto e o ajuste de algoritmos de controle, no qual o modelo matemático formulado passa a ser parte integrante do mesmo (Bonomi e Schmidell, 2001; Ingham *et al.*, 2007). Uma etapa essencial no desenvolvimento de qualquer modelo é a formulação das equações de balanço de massa e energia, podendo-se incluir relações adicionais que representem: as taxas de reação química, as taxas de transferência de calor e massa e alterações de propriedades do sistema. A combinação destas relações constitui a base para a descrição quantitativa do processo e compreende o modelo matemático básico. O modelo resultante pode variar de um simples caso de equações até modelos de grande complexidade. Uma das habilidades da modelagem é, portanto, obter o modelo mais simples possível que seja capaz de uma representação realista do processo (Ingham *et al.*, 2007).

A otimização dos processos biotecnológicos de produção é um tema de grande importância. Na bioprodução, qualquer melhoria alcançada na produtividade do metabolismo microbiano, em geral, através da manipulação dos parâmetros físico-químicos e nutricionais pode alterar significativamente o rendimento do produto de interesse. Neste sentido o presente trabalho tem como objetivo o estudo da modelagem matemática do processo de produção de carotenóides, e a partir deste modelo simular o processo em biorreator.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o modelo matemático foram utilizados os balanços de massa para descrever a cinética de crescimento, o consumo de substrato e a produção de carotenóides para um reator de batelada segundo as equações 1 a 3. Para a determinação da velocidade de crescimento foram utilizados três modelos diferentes segundo as equações 4 a 6. Os parâmetros cinéticos utilizados foram os determinados previamente por Schwartz (2010).

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{\mu}{Y_{X/S}} + m_s\right)X \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2)$$

$$\frac{dP}{dt} = (\alpha\mu + \beta)X \quad (3)$$

Inibição pelo substrato

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (4)$$

Inibição pelo produto

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S} \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)^\lambda \quad (5)$$

Inibição pelo substrato e produto

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \left(1 - \frac{P}{K_p}\right)^\lambda \quad (6)$$

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as simulações foi utilizado o programa do MATLAB. Os valores das constantes cinéticas foram os obtidos previamente por Schwartz (2010) e o modelo matemático a partir das equações 1 a 3, onde foram utilizados diferentes modelos de velocidade de crescimento.

Os parâmetros cinéticos foram re-estimados obtendo-se valores para os modelos com inibição pelo substrato, inibição pelo produto e inibição pelo substrato e produto como é mostrado na Tabela 1. Os resultados mostram que dependendo do modelo matemático, os parâmetros cinéticos obtiveram-se maiores reajustes.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos para os diferentes modelos matemáticos para a produção de carotenóides.

Parâmetros	Inibição pelo substrato	Inibição pelo produto	Inibição pelo substrato e produto
$\mu_{\max, h}^{-1}$	0,685	1,56	1,396
$K_s, g/L$	1691,18	1681,28	2081,18
$K_i, g/L$	10,12	-	134,12
$Y_{xs}, g/g$	0,45	0,28	0,31
$m_s, \mu g/g.h$	0,02	0,008	0,007
$\alpha, \mu g/g$	500	500	500
$\beta, \mu g/g.h$	40	40	40
$\lambda$	-	3,1	3,0
$K_p, \mu g/L$	-	0,04	0,06

As predições para concentrações de substrato, biomassa e produção de carotenóides foram comparadas com os dados experimentais (Schwartz, 2010). Na tabela 2, os dados mostrados indicam o melhor ajuste para o modelo aos dados experimentais com desvios ao redor de 16%, em relação ao total de carotenóides produzidos após 100 h de fermentação. Pelos dados da tabela verifica-se que para o modelo com inibição de produto e inibição de produto e substrato apresenta uma maior produção de carotenoides, indicando que possivelmente possa existir alguma reação que não está prevista no modelo.

Tabela 2 – Produção de carotenóides utilizando diferentes modelos matemáticos após 100 h de fermentação.

	Experimental	Model predictions	RED
Inibição pelo substrato			
S (g/L)	38,10	38,27	0,44
X (g/L)	13,35	14,69	9,12
Caro ( $\mu g/L$ )	3426	3340	2,57
Inibição pelo produto			
S (g/L)	38,10	38,91	2,08
X (g/L)	13,35	11,48	16,29
Caro ( $\mu g/L$ )	3426	4070	15,82
Inibição pelo substrato e produto			
S (g/L)	38,10	38,48	0,98
X (g/L)	13,35	12,95	3,09
Caro ( $\mu g/L$ )	3426	4070	15,82

S, Substrato; X, Biomassa; Caro, Carotenóides.

RED, Relative error deviation between experimental data and model predictions, (%).

As previsões feitas pelo modelo e os dados experimentais para concentrações de substrato, biomassa e carotenóides são mostradas na Figura 1, 2 e 3. Como são mostrados na Figura 1. Observa-se que os dados preditos foram similares aos dados obtidos experimentalmente, com valores de R maiores que 0,85, 0,92 e 0,91 para os modelos de inibição pelo substrato, inibição pelo produto e inibição pelo substrato e produto, respectivamente.

O modelo que apresentaram melhores resultados e representa melhor a cinética de produção de carotenóides foram o modelo de inibição pelo produto e inibição pelo substrato e produto (Figura 2 e 3). Mas se compararmos com os valores de R o modelo mais adequado seria o modelo matemático com inibição pelo produto.

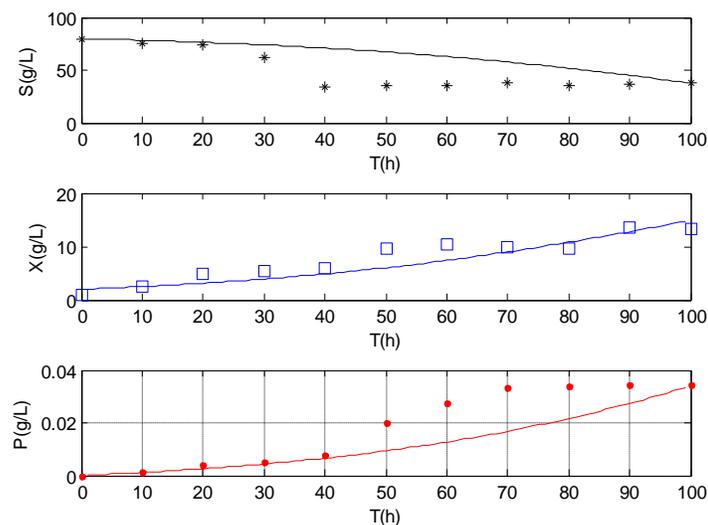


Figura 1 – Comparação da previsão do modelo matemático com inibição pelo substrato para a produção de carotenóides, (–) com dados experimentais para cada componente: substrato (\*), biomassa (□), carotenóides (●), nas condições de fermentação a 25°C, pH 4,0 e 180 rpm, para concentração de substrato de 80 g/L.

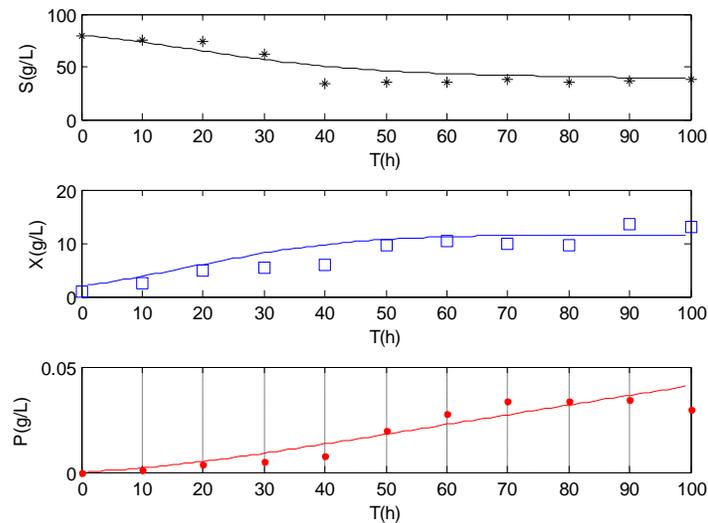


Figura 2 – Comparação da predição do modelo matemático com inibição pelo produto para a produção de carotenóides, (–) com dados experimentais para cada componente: substrato (\*), biomassa (□), carotenóides (●), nas condições de fermentação a 25°C, pH 4,0 e 180 rpm, para concentração de substrato de 80 g/L.

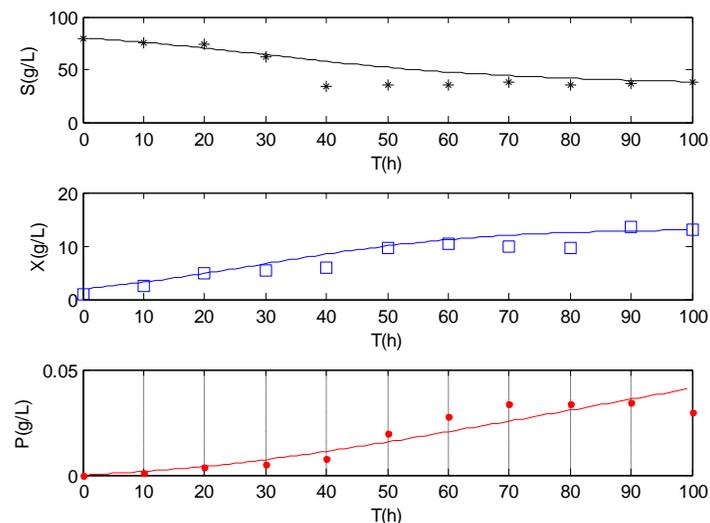


Figura 3 – Comparação da predição do modelo matemático com inibição pelo substrato e produto para a produção de carotenóides, (–) com dados experimentais para cada componente: substrato (\*), biomassa (□), carotenóides (●), nas condições de fermentação a 25°C, pH 4,0 e 180 rpm, para concentração de substrato de 80 g/L.

## 4. CONCLUSÃO

De acordo com as previsões dos diferentes modelos matemáticos formulados para descrever o processo fermentativo na produção de carotenóides pela *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 a 25°C, pH de 4,5, 180 rpm e 80g/L de substrato os resultados podem ser considerados satisfatórios, indicando que o modelo matemático com inibição pelo produto pode ser considerado como uma ferramenta válida para a predição e concepção de um processo de produção de carotenóides.

## 5. NOMENCLATURA

$K_i$	constante de inibição pelo substrato (g/L)
$K_p$	constante de inibição pelo produto ( $\mu\text{g/L}$ )
$K_s$	constante de saturação do substrato (g/L)
$m_s$	coeficiente de manutenção celular ( $\mu\text{g/g.h}$ )
$P$	concentração de produto (g/L)
$t$	tempo (h)
$X$	concentração de biomassa (g/L)
$Y_{xs}$	fator de conversão do substrato em células (g/g)
$\alpha$	coeficiente de formação do produto associado ao crescimento ( $\mu\text{g/g}$ )
$\beta$	formação de produto não associado ao crescimento ( $\mu\text{g/g.h}$ )
$\gamma$	termo exponencial para o modelo de inibição pelo produto
$\mu$	velocidade específica de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ )
$\mu_{\text{max}}$	velocidade máxima específica de crescimento celular ( $\text{h}^{-1}$ )

## 6. REFERENCIAS

AKSU, Z.; EREN, A. T. Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source. *Process Biochem.*, v. 40, p. 2985–2991, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. *Official methods of analysis of the association of the analytical chemists*, Washington, 16 ed., 1995.

BONOMI, A.; SCHMIDEELL, W. *Processos Fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2001.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. *Carotenoids today and challenges for the future*. In: Carotenoids. Berlin: Birkhäuser Verlag, p. 13-26, 1995.

BUZZINI, P; MARTINI, A. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin. *Bioresource Technol.*, v. 71, p. 41-44, 1999.

COLET, R. Produção de carotenoides por *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 em biorreator batelada alimentada. Dissertação de Mestrado. Engenharia de Alimentos, URI-Campus Erechim, 2012.

FONTANA, J. D.; CZECZUGA, B.; BONFIM, T. M. B.; CHOCIAI, M. B.; OLIVEIRA, B. H.; GUIMARÃES, M. F.; BARON, M. Bioproduction of carotenoids: the comparative use of raw sugarcane juice and depolymerized bagasse by *Phaffia Rhodozyma*. *Bioresource Technol.*, v. 58, p. 121-125, 1996.

INGHAM, J., DUNN. I. J., HEINZLE, E., PRENOSIL, J. E., SNAPE, J. B., *Chemical Engineering Dynamics*, New York: VHC Publishers INC, 2007.

SAENGE, C.; CHEIRSILP, B.; SUKSAROGUE, T.T.; BOURTOOM, T. Potential use of oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids. *Process Biochem.*, v. 46, p. 210–218, 2011.

TAO, Z.; WANG, G.; XU, X.; YUAN, Y.; WANG, X.; LI, Y. Monitoring and rapid quantification of total carotenoids in *Rhodotorula glutinis* cells using laser tweezers Raman spectroscopy. *FEMS microbial. Lett.*, v. 314, p. 42-48, 2011.

VALDUGA, E., VALERIO, A., TREICHEL, H., FURIGO JÚNIOR, A., LUCCIO, M. D. Kinetic and Stoichiometric Parameters in the Production of Carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) in Synthetic and Agroindustrial Media. *Appl. Biochem. Biotech.*, v.157, p. 61- 69, 2009.