

# **ESTUDO DA MODELAGEM E SIMULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 EM REATOR CONTINUO**

D. BUCIOR<sup>1</sup>, M. U. JANEZCKO<sup>1</sup>, A. B. J. SOARES<sup>1</sup> e M. B. A. SOARES<sup>1</sup>

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

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

**RESUMO** – Os carotenóides formam um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais amplamente utilizados na indústria de alimentos. 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. A otimização dos processos biotecnológicos de produção é um tema de grande importância. Neste sentido o presente trabalho visa o estudo da modelagem matemática do processo de produção de carotenoides, e a partir deste modelo simular o processo em biorreator contínuo. Para a implementação do modelo matemático foi utilizado o modelo de inibição pelo produto para a bioprodução de carotenóides a partir do micro-organismo *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636 em meio sintético a partir das condições otimizadas do processo a 25°C, pH de 4,0 e 180 rpm, 80 g/L de substrato utilizando um reator contínuo. Os resultados mostraram que após 100 h de fermentação uma produção de 3620 µg/L de carotenoides, obtendo-se 8% a mais na produção de carotenoides em relação ao obtido no reator de batelada (3340 µg/L).

## **1. INTRODUÇÃO**

Devido à conscientização de consumidores, a busca por alimentos saudáveis tem sido crescente e nessa classe de alimentos podemos citar os prebióticos, como alimentos funcionais, pode ocasionar um provável aumento na 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.

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 & 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. Portanto, é de grande valia a modelagem cinética e simulação visando a otimização da bioprodução de carotenóides em biorreator, a fim de aproveitar melhor os componentes do meio de bioprodução, no sentido de maximizar o rendimento e que se tenha um incremento da produção. Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo o estudo da modelagem matemática do processo de produção de carotenóides em meio sintético do processo contínuo em biorreator.

## 2. MATERIAIS 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 contínuo segundo as equações 1 a 5. Para a determinação da velocidade de crescimento foi utilizado o modelo de inibição pelo produto. Os parâmetros cinéticos utilizados foram os determinados previamente.

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

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

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

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S} \left( 1 - \frac{P}{K_p} \right)^{\lambda} \quad (4)$$

$$\frac{dV}{dt} = F \quad (5)$$

Para as simulações foi utilizado o software do MATLAB. Os valores das constantes cinéticas foram os obtidos previamente para o modelo matemático de acordo com as equações 1 a 5. Os parâmetros cinéticos foram os obtidos para o modelo com inibição pelo produto para a bioprodução de carotenóides a partir do micro-organismo *Sporidiobolus salminocolor* CBS 2636 em meio sintético a partir das condições otimizadas do processo a 25°C, pH 4,0 180 rpm e 80 g/L de substrato como é mostrado na Tabela 1.

Table 1 - Parâmetros cinéticos para produção de carotenoides com inibição pelo produto.

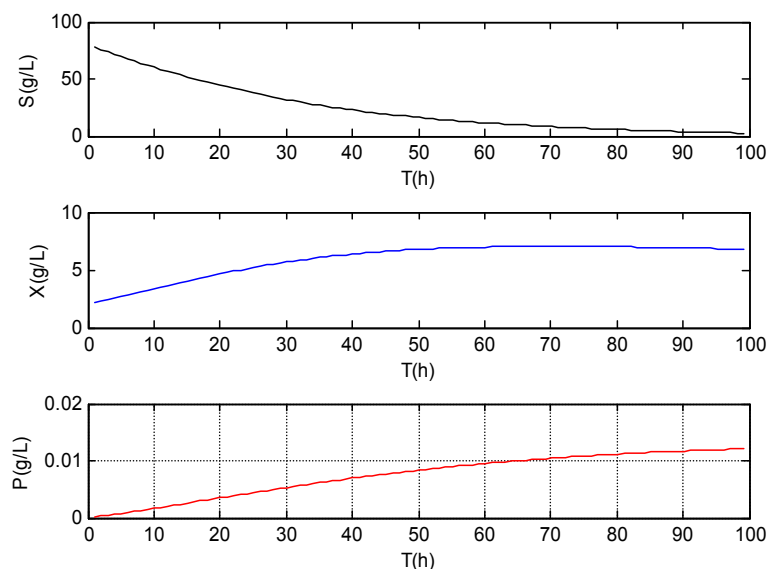
| Parâmetros           | Inibição pelo produto |
|----------------------|-----------------------|
| $\mu_{\max}, h^{-1}$ | 1,56                  |
| $K_s, g/L$           | 1681,28               |
| $K_i, g/L$           | -                     |
| $Y_{xs}, g/g$        | 0,28                  |
| $m_s, \mu g/g.h$     | 0,008                 |
| $\alpha, \mu g/g$    | 500                   |
| $\beta, \mu g/g.h$   | 40                    |
| $\lambda$            | 3,1                   |
| $K_p, \mu g/L$       | 0,04                  |
| $F, h^{-1}$          | 0,01                  |

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As predições para o processo de fermentação em biorreator contínuo para a produção de carotenóides após 100 h de fermentação foram de 30,22 g/L para o substrato, 11,18 g/L de biomassa e 3620  $\mu g/L$  de carotenoides (P). No processo contínuo foi obtido ao redor 8% a mais na produção de carotenoides em relação ao obtido no reator de batelada (3340  $\mu g/L$ ).

Na Figura 1 mostra-se o curso do processo de fermentação para o processo contínuo na produção de carotenoides. Observa-se que rapidamente inicia-se o consumo do substrato, o aumento da biomassa e a produção de carotenoides (P). Pode-se notar que a maior produção de carotenoides (P) é produzida no período de 100 h após este período a produção de carotenoides é constante entrando no estado estacionário.

Figura 1 – Tempo de fermentação utilizando o modelo matemático com inibição pelo produto para a produção de carotenoides em biorreator contínuo, nas condições de fermentação a 25°C, pH 4,0 e 180 rpm, para concentração de substrato de 80 g/L.



## 5. NOMENCLATURA

|             |  |
|-------------|--|
| $K_i$       | constante de inibição pelo substrato ( $m^3/Kg$ )                        |
| $K_p$       | coeficiente de morte pelo etanol ( $m^3/Kg$ )                            |
| $K_s$       | constante de saturação ( $kg/m^3$ )                                      |
| $P$         | concentração de produto ( $kg/m^3$ )                                     |
| $r_{fi}$    | taxa cinética do componente “i” ( $kg/[m^3h]$ )                          |
| $r_p$       | taxa cinética de formação de produto ( $kg/[m^3h]$ )                     |
| $r_s$       | taxa cinética de consumo de substrato ( $kg/[m^3h]$ )                    |
| $r_x$       | taxa cinética de crescimento microbiano ( $kg/[m^3h]$ )                  |
| $t$         | tempo (h)  |
| $X$         | concentração de biomassa ( $kg/m^3$ )                                    |
| $X_{max}$   | concentração de biomassa quando o crescimento celular cessa ( $kg/m^3$ ) |
| $Y_x$       | rendimento celular limite ( $kg/kg$ )                                    |
| $\mu$       | velocidade específica de crescimento celular ( $h^{-1}$ )                |
| $\mu_{max}$ | velocidade máxima específica de crescimento celular ( $h^{-1}$ )         |
| $\beta$     | formação de produto associada ao crescimento celular                     |
| $\rho$      | densidade ( $Kg/m^3$ )   |
| $v$         | velocidade específica de obtenção de produto ( $h^{-1}$ )                |
| $K_p$       | constante de inibição pelo produto ( $\mu g/L$ )                         |

## 4 CONCLUSÕES

De acordo com a previsão do modelo matemático formulado para descrever o processo fermentativo na produção contínua de carotenóides pela *Sporidiobolus salmonicolor* CBS

2636 a 25°C, pH de 4,0, 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 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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, 16 ed. Washington, 1995.
- BONOMI, A., SCHMIDT, W., *Processos Fermentativos e enzimáticos*. In: BORZANI, W., SCHMIDT, W., LIMA, U.A., AQUARONE, E., *Biotechnologia industrial*, V.3. Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 616pp, 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 carotenóides 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*, VHC Publishers INC, New York, 645pp, 2007.
- SAENGE, C.; CHEIRSILP, B.; SUKSAROG, 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 Microbiol. lett.*, v. 314, no. 1, 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. Biotechnol.*, v.157, p. 61- 69, 2009.