

CARACTERIZAÇÃO HIDRODINÂMICA DE UM REATOR DE LEITO FLUIDIZADO E DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE MÍNIMA DE FLUIDIZAÇÃO EM FUNÇÃO DA MASSA DE BIOCATALISADOR.

N. SANTAELLA¹, M. O. CERRI² e A. V. DE PAULA²

¹ Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas

² Universidade Estadual Paulista, Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia

E-mail para contato: nubiasantaella@gmail.com

RESUMO – Visando-se a aplicação de biorreatores em ensaios biotecnológicos, a fim de que se obtenha um sistema operacional adequado e satisfatório para o bioprocessamento em questão, deve-se efetuar uma adequada caracterização hidrodinâmica do biorreator. Neste contexto, o presente trabalho objetivou o estudo da fluidização da lipase comercial Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*), em meio reacional óleo de algodão e ácido cáprico (razão molar 1:2) determinando-se a velocidade mínima de fluidização e a distribuição do tempo de residência médio, através do teste de traçador. Ao final dos experimentos, verificou-se que a velocidade mínima de fluidização foi de 200mL/h e a diferença relativa entre o tempo espacial e o tempo de residência médio foi relativamente baixa, 11,018%. Assim, o sistema reacional apresentou comportamento próximo ao ideal com grande potencial para realização da acidólise enzimática para obtenção de triglicerídeos dietéticos do tipo MLM.

1. INTRODUÇÃO

Os biorreatores são equipamentos utilizados para a conversão de compostos bioquímicos pela ação de células ou enzimas como agentes catalisadores, sendo operados sob condições de temperatura, fluxo, agitação e pH controlados. Em processos puramente enzimáticos, o meio reacional é adicionado de unidades de atividade enzimática, de forma que a catálise seja realizada para atingir o máximo de conversão e produtividade (Silva, 2013). Para a seleção do reator, deve-se primeiro analisar as características reacionais, do biocatalisador, da bioconversão e das características cinéticas do sistema. Com base nestas características, determina-se o modo de operação do reator, (descontínuo, contínuo ou semi-contínuo) e, por fim, seleciona-se um reator que se adeque aos parâmetros determinados. (Fernandes *et al.*, 2003).

Reatores de leito fluidizado constituem uma modificação do leito fixo, na qual o derivado imobilizado é mantido suspenso por um fluxo ascendente de substrato, sob alta vazão (Willis e Marangoni, 2008). Ao contrário dos tanques agitados, esta configuração pode ser facilmente enquadrada em processos de escala industrial, uma vez que com a elevação da velocidade ascendente do fluido reacional obtém-se uma melhor mistura reacional, uma taxa de cisalhamento reduzida, além de evitar danos aos suportes de imobilização e stress

enzimático (Silva, 2013; Hidayat *et al.*, 2016). Dentre as outras características dos reatores de leito fluidizado, podem-se destacar como vantagens desta configuração: a eliminação da formação de caminhos preferenciais, menor alteração da pressão do sistema quando altas vazões de alimentação são empregadas, e não formação de gradientes de concentração (Willis e Marangoni, 2008).

Para que um reator seja classificado como “ideal” deve-se definir com precisão as condições de mistura e de escoamento do fluido no seu interior para verificar se este segue algum dos modelos encontrados na literatura, como mistura perfeita (CSTR) ou empistonado (PFR) (Santana, 2014). O escoamento de um fluido está sujeito a sofrer modificações que estão relacionadas às características do biorreator, dessa maneira, para melhor caracterizar seu desempenho, analisam-se os efeitos de dispersão das partículas presentes no fluido, pois estas apresentam velocidades de escoamento distintas que causam o desvio do comportamento ideal por conta da ocorrência de fenômenos como formação de caminhos preferências, zonas mortas e zonas estagnadas (Coelho *et al.*, 2008). A distribuição do tempo de residência (DTR) dessas partículas pode ser configurada segundo modelos matemáticos, definindo a característica do escoamento do fluido no interior do reator sob certa condição do processo (Silva *et al.*, 2015; Kechichian *et al.*, 2010). A DTR do fluido em escoamento no biorreator pode ser obtida através do uso de uma técnica experimental denominada técnica de estímulo-resposta com injeção de traçadores, ou também chamada de teste de traçador.

Neste contexto, o presente projeto teve como objetivo determinar a DTR do reator de coluna empregando-se o sistema contendo a enzima lipase comercial Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*) e óleo de algodão e ácido cáprico (fluido), na proporção 1:2. Objetivou-se ainda a determinação da velocidade mínima de fluidização do leito de biocatalisador, a fim de que, após a caracterização hidrodinâmica do reator, o sistema possa ser empregado na síntese de triglicerídeos dietéticos do tipo MLM.

2. METODOLOGIA

2.1. Velocidade mínima de Fluidização em Função da Biomassa

Foi utilizada a metodologia explicada por Kunii e Levenspiel (1991). Os ensaios foram conduzidos preenchendo-se o reator de coluna, com as dimensões: altura de 18,70cm e diâmetro de 2,00cm, com o meio reacional óleo de algodão: ácido cáprico (razão molar 1:2), à temperatura de 45°C. Nesta etapa, foi avaliada a expansão no leito biocatalisador, cuja massa utilizada foi aproximadamente 1,5g, visando-se definir qual a vazão mínima necessária para fluidização adequada. A vazão da bomba de recirculação foi alterada gradativamente de 100mL/h para 300mL/h, com variação de 10mL/h, sendo anotados os valores de altura de leito correspondentes a cada vazão. A velocidade mínima de fluidização foi obtida através da análise do gráfico relacionando a vazão com a altura do leito. Assumiu-se que a expansão observada era linear em função da massa de biocatalisador para se determinar a quantidade de enzimas necessárias para preencher completamente o reator.

2.2. Caracterização hidrodinâmica da mistura no reator

Primeiramente foi construída a curva de calibração do traçador utilizado, o corante Mix Verde ® (comercial, adquirido em mercado local), uma solução lipossolúvel e inerte. Foram

preparadas soluções com concentrações distintas e estas foram lidas duas vezes em espectrofotômetro no comprimento de onda 415nm. As concentrações foram (g/L): 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 e 1,0. Com os resultados da média das absorvâncias, construiu-se um gráfico relacionando a absorvância com a concentração do traçador, obtendo dessa forma a curva de calibração para o traçador através da linearização dos dados.

A caracterização da mistura no reator foi realizada a partir da determinação da dispersão axial, conforme Zanin (1989). Injetou-se uma solução inerte de Corante Mix Verde® na concentração de 1g/mL na entrada do reator no tempo $t=0$, por perturbação em pulso, e, durante 90 minutos, mediu-se a cada 3 minutos a sua concentração na saída por meio da curva de calibração. As curvas experimentais de variação da concentração do traçador ao longo do tempo, $C(t)$, foram obtidas de acordo com Levenspiel (2000). Para verificar a formação de caminhos preferenciais, foi comparado o resultado do tempo espacial, que é um resultado teórico obtido através da Equação 1, com o resultado do tempo de residência médio, calculado pela Equação 2 através dos dados obtidos no experimento.

$$\tau = \frac{V_{\text{útil}}}{Q_{\text{vol}}} \quad (1)$$

$$t_m = \int_0^{\infty} t \cdot E(t) dt \quad (2)$$

$$V_{\text{útil}} = V_{\text{reator}} - V_{\text{enzima}} \quad (3)$$

A Equação 1, Q_{vol} representa a vazão volumétrica do traçador no sistema e $V_{\text{útil}}$ expressa o volume útil do sistema (Equação 3) ocupado pelo leito, menos o volume ocupado pelas enzimas. Na Equação 2, o t é dado pelo tempo experimental e $E(t)$ é a função de distribuição do tempo de residência (DTR), cuja fórmula para ser calculado é mostrada na Equação 4.

$$E(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (4)$$

A função $E(t)$ foi obtida através da razão entre as concentrações para cada tempo do experimento e a área sob a curva de concentração de traçador em função do tempo $C(t)$, dada pela integral dentro de $E(t)$. Esta área pode ser calculada pelo método da soma de Riemann, o qual é feito pela soma das áreas dos retângulos, que são calculados pela fórmula dada na Equação 5.

$$\text{Área retângulo} = \left(\frac{C(t)_{i+1} + C(t)_i}{2} \right) * (t_{i+1} - t_i) \quad (5)$$

Dessa maneira, calculou-se a área dos retângulos dos pontos experimentais, somou-se os seus resultados para se ter uma aproximação a área sob a curva $C(t)$, e em seguida calculou-se os valores da função DTR de cada ponto experimental. Em seguida, para se obter o tempo de residência média t_m , multiplicou-se as funções $E(t)$ obtidas para cada ponto do experimento por seus respectivos tempos de retirada da amostra; realizou-se novamente a

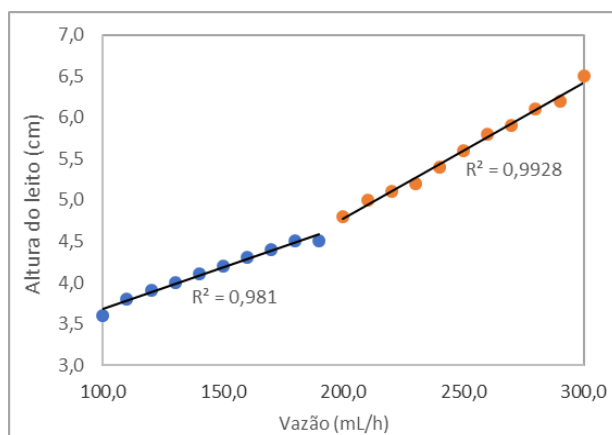
soma de Riemann utilizando a soma dos retângulos e, ao somar todas as áreas dos retângulos, foi obtida a área sob a curva “ $tE(t) \times t$ ” que expressa justamente t_m . Com o tempo de residência média calculado anteriormente e, com o tempo espacial calculado através da Eq. 1, fez-se a comparação entre estes para verificar a presença de caminhos preferenciais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Velocidade mínima de Fluidização em Função da Biomassa

A Figura 1 apresenta a variação da vazão de alimentação em função altura do leito do biocatalisador; sua análise revela que ocorre uma alteração na inclinação do gráfico, podendo este ser representado por duas retas distintas. De acordo com Kunii e Levenspiel (1991), o ponto no qual ocorre esta mudança de inclinação representa o valor da velocidade mínima de fluidização a ser empregada. No caso do experimento realizado, este valor foi de 200mL/h, o que coincide com a observação experimental, pois nesta vazão houve um comportamento de fluidização do leito, ou seja, as partículas se reordenavam dentro do leito, não ocorria apenas a sua expansão.

Figura 1 – Vazão de alimentação em função da altura do leito de biocatalisador.



3.2. Teste de traçador

Para a construção da curva de concentração de corante em função da absorbância foi utilizado comprimento de onda de 415nm. A Figura 2 mostra a curva de calibração obtida para a solução lipossolúvel do corante empregado. Para obter o preenchimento completo da coluna, empregou-se a massa de biocatalisador de 3,5g aproximadamente. Os dados referentes ao teste de traçador, para cálculo do tempo de residência, estão contidos na Figura 3.

Na Figura 3a é apresentada apenas a média das absorbâncias lidas no experimento multiplicadas ao fator de diluição realizados. A concentração do traçador foi calculada com a equação obtida na curva de calibração do traçador (Figura 2) e o gráfico resultante encontra-se exposto na Figura 3b. Observa-se que houve um pico de concentração no tempo de 12 minutos e com o decorrer do teste, a concentração do corante foi diminuindo até não haver mais traços deste no óleo. A representação $E(t)$ é a função tempo de residência, que foi calculado utilizando os dados de concentração do traçador, multiplicado pela área total de sua

concentração obtido através da Equação 5. A Figura 3c mostra o perfil da função $E(t)$ e a área sobre a curva foi calculada da mesma maneira que feita anteriormente Equação 5.

Figura 2 – Curva de calibração do Corante Mix Verde ®.

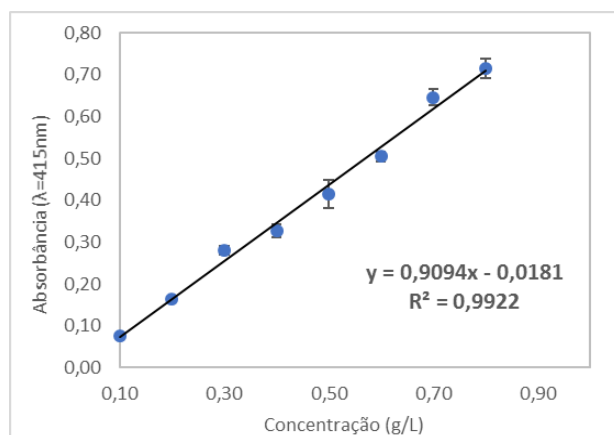
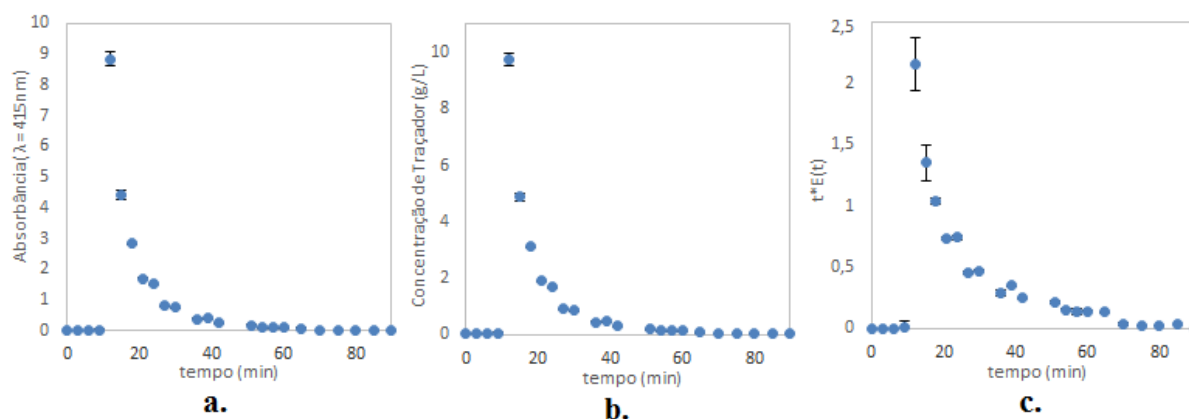


Figura 3 – Curvas para cálculo do tempo de residência: a. absorbância média (415nm) em função tempo de reação (min); b. concentração de traçador (g/L) em função tempo de reação (min); c. tempo de residência (E) multiplicado pelo tempo em função tempo de reação (min).



Considerando o volume do suporte de 2,043mL e o volume útil do reator de 57,647mL, e que a vazão empregada foi de 300mL/h, o tempo de reação esperado é de 11,53 minutos (Equação 1). O tempo de residência médio (Equação 2) foi de 12,80 minutos. De acordo com diferença entre os tempos de resistência e o tempo esperado, é possível afirmar que no experimento houve a formação de caminhos preferenciais, sendo a porcentagem de erros entre os tempos de 11,018 %.

4. CONCLUSÃO

O teste de traçador mostrou que o reator de coluna é uma ótima opção para se realizar reações enzimáticas empregando meios mais viscosos, como é o caso do óleo de algodão e ácido cáprico, uma vez que a diferença relativa entre o tempo espacial e o tempo de residência médio foi relativamente baixa, assumindo-se que o sistema se encontra muito próximo ao comportamento ideal. Com a caracterização hidrodinâmica bem-sucedida, será possível

avaliar a reação de acidólise enzimática neste sistema a fim de se obter os triglicerídeos dietéticos do tipo MLM.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos que ajudaram durante a concepção deste trabalho cedendo os materiais e espaço adequados para sua execução e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por apoiar a pesquisa (Processo 2016/11980-4) e torná-la uma realidade. À Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark), pela doação do biocatalisador.

6. REFERÊNCIAS

- COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. *Tecnologia Enzimática*. Rio de Janeiro: FAPERJ, 288 p., 2008.
- FERNANDES, P.; FERREIRA, B. S.; CABRAL, J. M. S. *Reatores Enzimáticos Multifásicos*. In: CABRAL, J. M. S.; AIRES-BARROS, M. R.; GAMA, M. *Engenharia Enzimática*. Lisboa: Editora Lidel, p. 189-208, 2003.
- HIDAYAT, C.; FITRIA, K.; HASTUTI, P. *Enzymatic Synthesis of Bio-Surfactant Fructose Oleic Ester Using Immobilized Lipase on Modified Hydrophobic Matrix in Fluidized Bed Reactor*. Agriculture and Agricultural Science Procedia, v. 9, p. 353-362, 2016.
- KECHICHIAN, V.; MURATA, L. K. Y.; GUT, J. A. W.; TADINI, C. C. *Determinação da Distribuição do Tempo de Residência em Pasteurizador Bitubular com Fluido Newtoniano*. COBEQ, 2010.
- KUNII, D.; LEVENSPIEL, O. *Fluidization Engineering*. Butterworth-Heinemann, 2 ed. 491f. 1991. ISBN: 0409902330, 9780409902334.
- LEVENSPIEL, O. *Engenharia das reações químicas*. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 563 p., 2000.
- SANTANA, V. S. *Análise e Cálculo de Reatores*. UNIOESTE, cap. 13, p. 1-8, 2014.
- SILVA, W. C. *Produção enzimática de biodiesel a partir de óleos láuricos em reatores de leito fixo duplo estágio incorporando coluna extratora de glicerol formado como subproduto*. 2013. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.
- SILVA, W. C.; RAMOS, L.; TEIXEIRA, L.; CASTRO, H. F. *Síntese Enzimática de Biodiesel a partir do Óleo de Coco em Reatores de Leito Fixo, Dois Estágios, Incorporando uma Coluna Extratora de Glicerol*. Blucher Chemical Engineering Proceedings, v. 1, n. 2, p. 1786-1792, 2015.
- WILLIS, W. M.; MARANGONI, A. G. *Enzymatic Interesterification*. In: AKOH, C. C. and MIN, D. B. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*. Florida: CRC Press, 2008. Cap. 30. p. 807. ISBN 978-1-4200-4663-2.
- ZANIN, G. M. *Sacarificação de amido em reator de leito fluidizado com enzima amiloglicosidase imobilizada*. 1989. 454f. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de alimentos; Universidade Estadual de Campinas, Campinas.