

Implantação de Metodologias e Operação de Planta Laboratorial para Bioprocessos

Resumo

Objetivo geral do projeto onde se insere este trabalho: (1) Proposta de melhorias no processo atual de produção de etanol utilizando ferramentas de modelagem, otimização e controle avançado de processos; (2) Investigação da aplicação de um sensor ótico para biomassa e/ou produto e/ou substrato, baseado na técnica fluorescência 2-D, bem como o desenvolvimento de analisador virtual para estimação de outras variáveis de interesse.

Objetivo específico: (1) desenvolvimento de competências para realização de cultivos com microorganismos no LACIP/GIMSCOP; (2) implantação das rotinas de análise laboratorial para o acompanhamento da produção de etanol via fermentação; (3) partida de planta laboratorial construída no LACIP; (4) realização de experimentos e geração de dados experimentais que permitam o monitoramento on-line, a modelagem, otimização e controle avançado da produção de etanol.

Dos cultivos feitos com misturas de caldo de cana e melão em placa agitadora, os rendimentos observados foram de 80 a 90%. Dos feitos em no biorreator construído no LACIP, operando em batelada, atingiram-se rendimentos médios em torno de 70% e grau alcoólico de 7% (v/v).

Metodologia

1. Análises Laboratoriais

Células: secagem em estufa, 105°C, por 24 horas.

Açúcar: HPLC (Perkin-Elmer, coluna RHM-Monossacarídeos, eluente água mili-Q (0,6 mL/min), detector IR, @ 80°C).

Etanol: HPLC e CG (Perkin-Elmer, gás de arraste: N₂, T_{injeção} e T_{forno}: 120 C, T_{detector}: 250 C, detector: FID).

Viabilidade Celular: coloração com azul de metileno + contagem em Câmara de Neubauer

2. Microorganismo

Levedura *Saccharomyces cerevisiae*, cepas PE-2 (liofilizada, doada pela FERMENTEC, Piracicaba) e CAT-1 (seca, doada pela LNF, Bento Gonçalves).

3. Experimentos com meio sintético

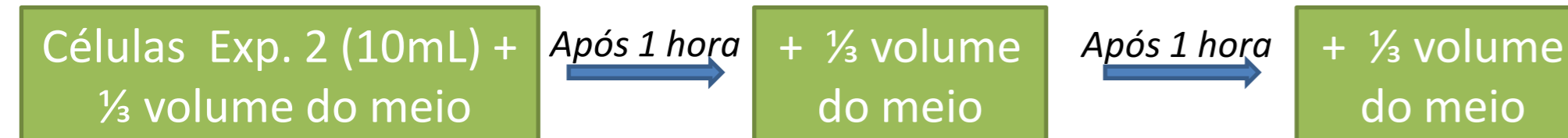
Realizados em placa agitadora, 32°C, 100 rpm (exp. 2, 3 e 4).

Componente – Meio sintético	Concentração [g/L]
Sacarose	* De acordo com o experimento
Extrato de levedura	6
Cloreto de amônio	5
Fosfato monobásico de potássio	5
Sulfato de magnésio heptahidratado	1
Cloreto de Potássio	1

Experimentos 1 e 2:

obtenção do inóculo a partir de solução estoque conservada em meio YEPD (5 g/L de extrato de levedura, 10 g/L de peptona e 20 g/L de glicose). Exp. 1 → sem agitação e Exp. 2 → com agitação. Ambos em temperatura ambiente.

Experimentos 3 e 4: para dar início às fermentações foi utilizada a massa de leveduras produzida no Experimento 2. Volume total de meio = 100 mL.



4. Experimentos com caldo de cana + melão

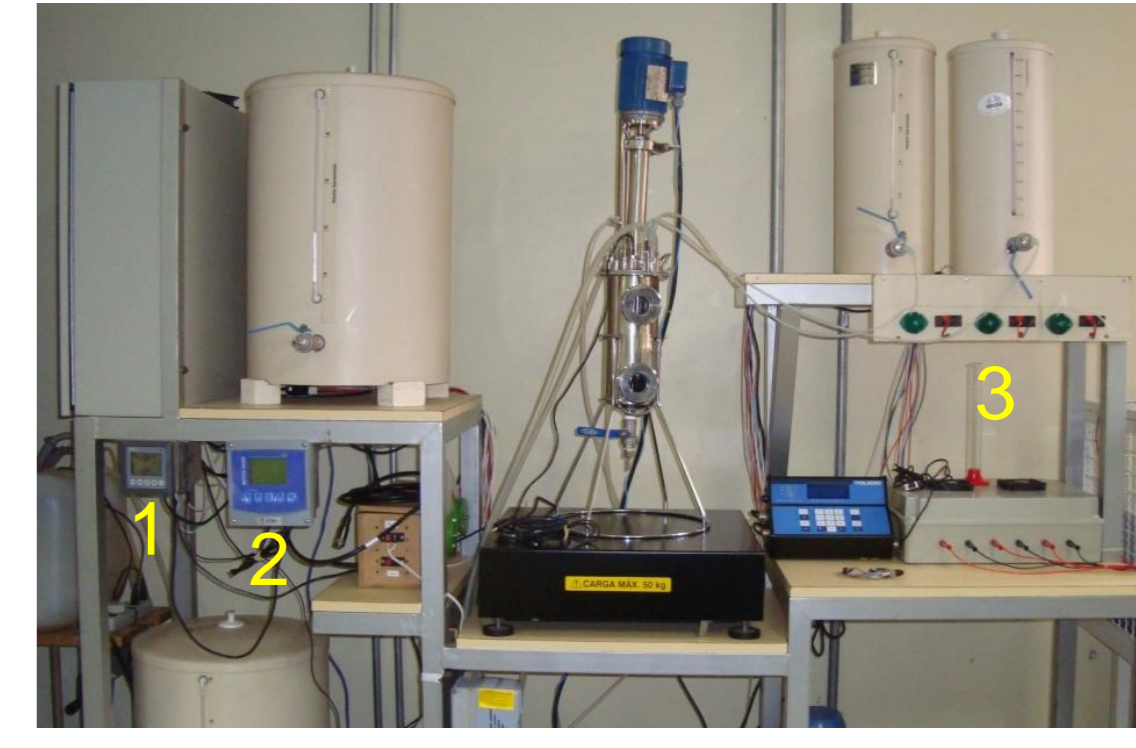
- Caná-de-açúcar: doada pela Harmonie Schnaps, Harmonia – RS. Caldo extraído em moenda manual.
- Melão: doado pela FERMENTEC (Piracicaba – SP).
- Tratamento do caldo de cana:
 - Adição de leite de cal (CaOH, 10%) até pH entre 7 e 7,4 (em placa agitadora);
 - Fervura do caldo por 5 minutos;
 - Centrifugação;
 - Adição de HCl 10 M até ajustar o pH entre 4,5 e 5;
 - Fervura do meio por 15 minutos(em autoclave).

Exp.	% vol. água	% vol. melão	% vol. caldo	Sacarose [g/L]
5	0	0	100	192,80 ± 4,33
6	5	12,86	82,14	199,24 ± 4,18
7	10	25,71	64,29	193,31 ± 6,51
8	15	38,57	46,43	179,14 ± 4,57

*Composição (tabela ao lado):

5. Experimentos em biorreator

- Caná-de-açúcar: doada pela Harmonie Schnaps, Harmonia – RS. Caldo extraído em moenda manual.
- Interface supervisória em Elipse E3.
- Sensores disponíveis: pH (1), oxigênio dissolvido (2), temperatura.
- Controles: temperatura, pH.
- Bombas peristálticas para operação batelada alimentada e contínuo (3).
- Espectroscopia de Fluorescência Bidimensional.



Resultados

Experimentos em placa agitadora

Meio Sintético:

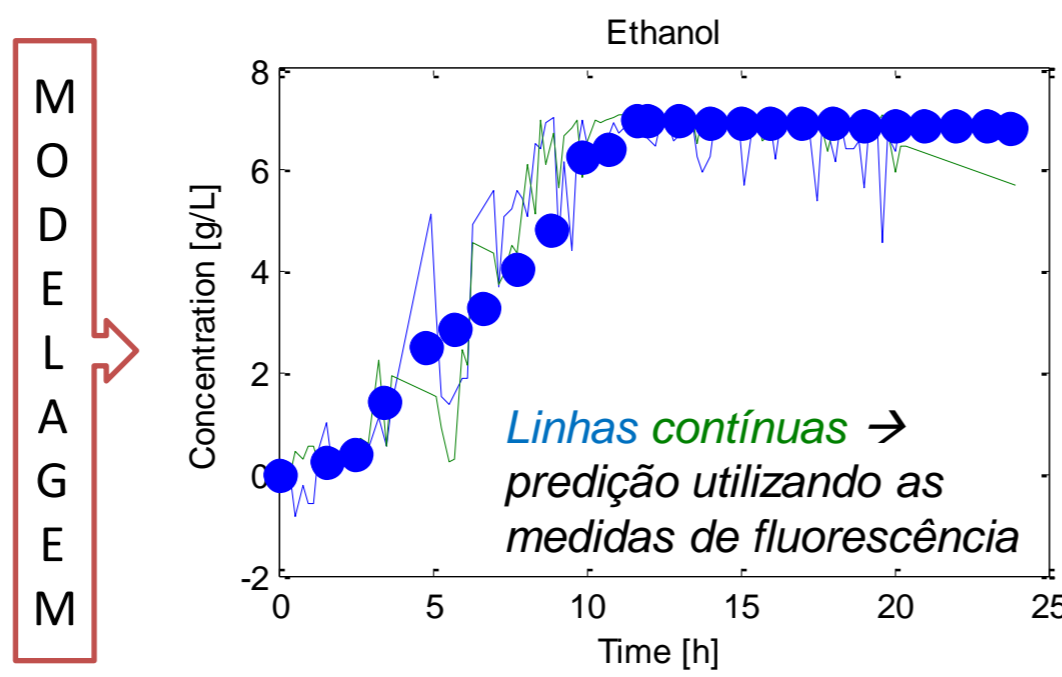
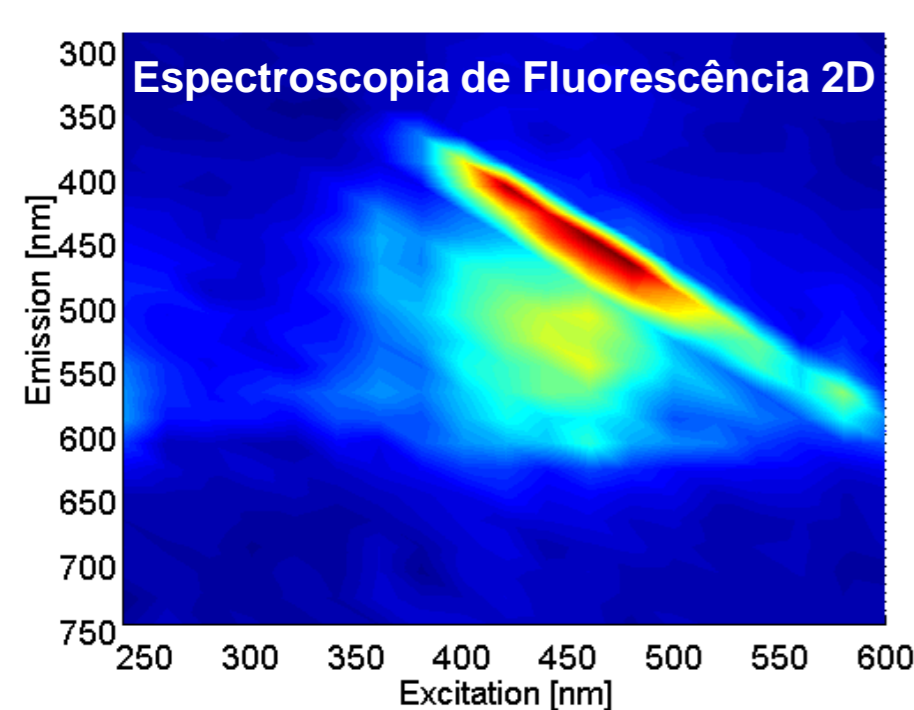
Exp.	S ₀ [g/L]	Glicose * [g/L]	Frutose * [g/L]	Etanol - CG *% [v/v]	Etanol - HPLC *% [v/v]	Rendimento [%]
1	130	2,36	9,36	6,95 ± 0,050	6,64 ± 0,309	86,66 ± 4,39
2	100	0,62	0,59	6,55 ± 0,024	5,84 ± 0,3	91,21 ± 4,74
3	100	0,40	0,28	6,85 ± 0,009	6,13 ± 0,182	95,26 ± 3,11
4	100	0,39	0,25	6,83 ± 0,012	6,59 ± 0,311	102,40 ± 5,34

*Medidos ao final do experimento

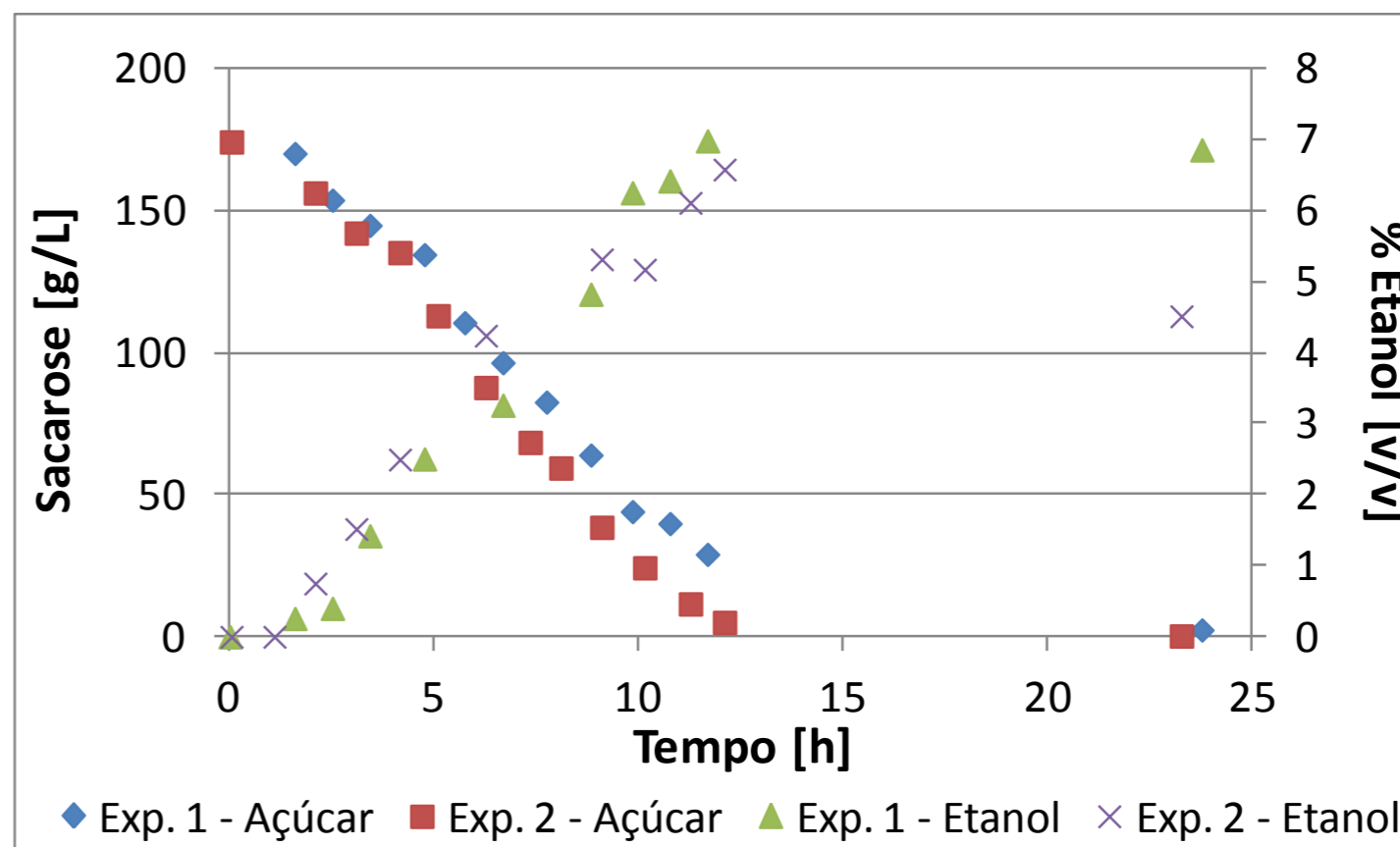
Caldo de Cana + Melão:

Exp.	S ₀ [g/L]	Glicose * [g/L]	Frutose * [g/L]	Etanol - CG *% [v/v]	Etanol - HPLC *% [v/v]	Rendimento [%]
5	192,80	5,03	23,9	7,66	8,34	78,64 ± 4,46
6	199,24	8,05	36,9	7,37	8,20	82,07 ± 0,348
7	193,31	9,37	42,8	7,54	8,12	88,88 ± 1,24
8	179,14	10,06	32,0	7,27	7,34	82,73 ± 2,59

*Medidos ao final do experimento

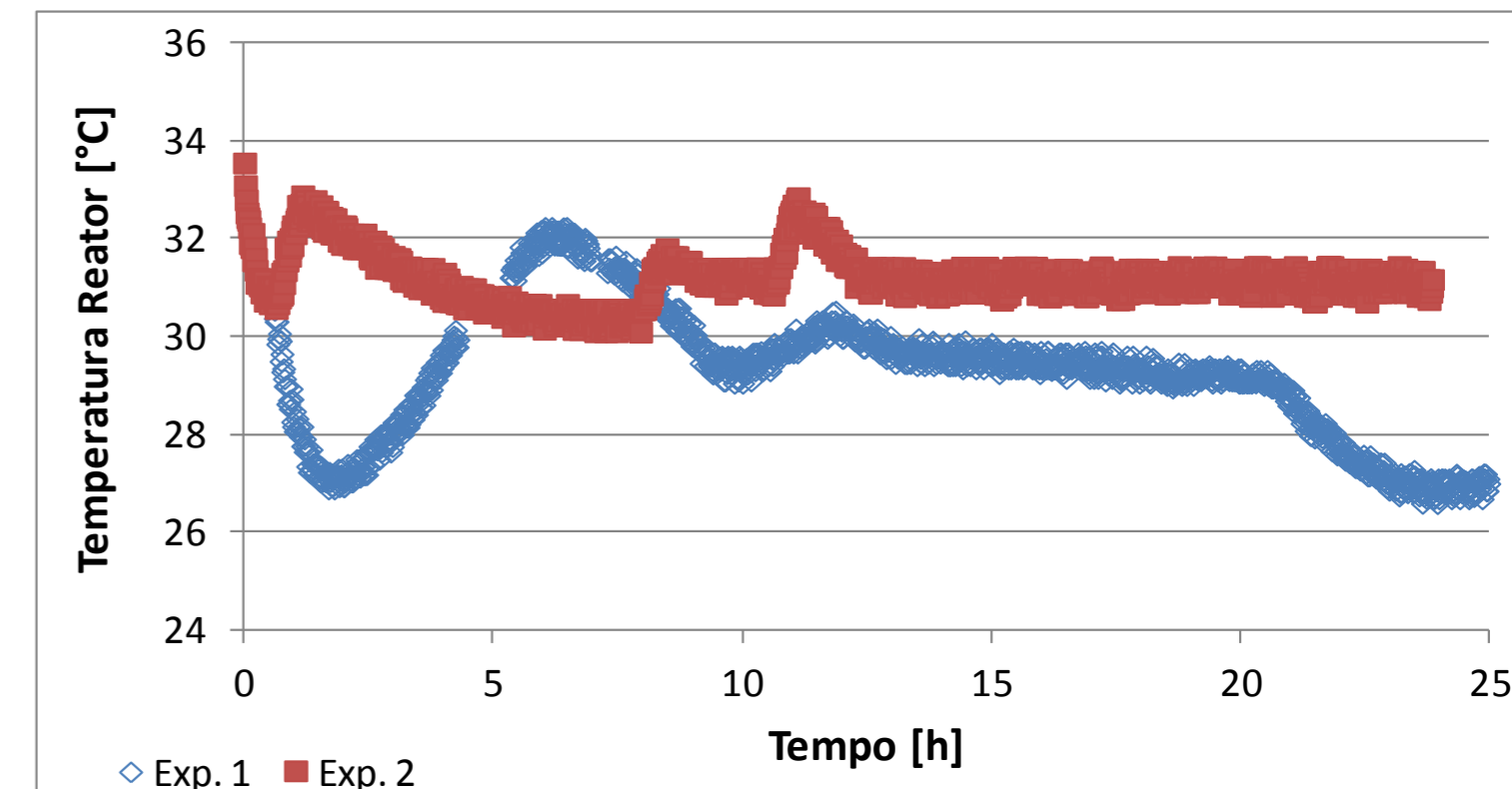


Experimentos no Biorreator



- Experimentos em duplicata feitos com caldo de cana.
- Rendimento de 70% → operação em batelada → nas usinas se opera em batelada alimentada.
- Exp. 2:
 - Consumo mais rápido da sacarose;
 - Mais etanol foi consumido na etapa diáuxica.

Principal diferença entre os experimentos: temperatura do meio reacional;
 ↓
 Necessário: ajuste correto da temperatura da água do trocador no início do experimento.



Conclusões

Os objetivos deste trabalho foram plenamente atingidos, resultando nas seguintes conclusões:

- desenvolvimento de competências para realização de cultivos com microorganismos no LACIP: o laboratório foi equipado para permitir o trabalho com as leveduras, envolvendo o treinamento da bolsista de IC, de uma mestranda e de um doutorando, sob a orientação da bolsista pós-doc responsável pelo projeto;
- implantação de rotinas de análise laboratorial para o acompanhamento das fermentações: foram testadas diversas metodologias para o acompanhamento das fermentações, sendo selecionadas cromatografia para a análise de substrato e produtos e, peso seco para quantificar o crescimento celular.
- partida de planta laboratorial do LACIP: experimentos já estão sendo realizados na planta laboratorial, contribuindo para a melhoria contínua da unidade.
- realização de experimentos e geração de dados experimentais que permitam o monitoramento on-line, a modelagem, otimização e controle avançado da produção de etanol: diversos experimentos já foram realizados, com coleta periódica (de 10 em 10 minutos) de espectros de fluorescência que, juntamente com os resultados das fermentações realizadas com a ajuda da bolsista, contribuirão para a construção de uma ferramenta para monitoramento on-line de bioprocessos.



Autor: Elis C. Domeneghini

Orientadores: Prof. Dr. Jorge Otávio Trierweiler
 Dra. Luciane F. Trierweiler

Departamento de Engenharia Química- UFRGS
 Rua Luis Englert, s/n. Porto Alegre, RS, Brazil.
 CEP: 90040 – 040
 e-mail: edomeneghini@gmail.com
 jorge@enq.ufrgs.br

