



ANÁLISE SISTEMÁTICA DE MODELOS CONTÍNUOS PARA FERMENTAÇÃO CONTÍNUA DE GLICOSE COM *ZYMONONAS MOBILIS*

Cassiano Ranzan¹, Jorge O. Trierweiler¹, Eloane Malvessi², Mauricio M. Silveira²

¹ Laboratório de Controle e Intensificação de Processos

² Universidade de Caxias do Sul – Departamento de Engenharia Química

Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,

E-MAIL: {cassiano, jorge}@enq.ufrgs.br

Resumo: Este trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão sobre os modelos matemáticos propostos para fermentações contínuas de glicose, utilizando *Zymomonas mobilis* como agente fermentativo. Os modelos propostos por Jöbbses et al. (1986), Jarzebski (1987) e Daugulis et al. (1997) são os objetos de estudo deste trabalho, sendo estes propostos para descrever o comportamento de sistemas de fermentação contínua. As implementações dos modelos são feitas em Matlab®, versão 5.3 e Python 2.5. Diagramas de bifurcação são utilizados como ferramentas para análise quantitativa dos modelos, perante determinados conjuntos de parâmetros publicados na literatura. Fermentações reais, nas quais a ocorrência de distúrbios, como aumentos na concentração de etanol, serão realizadas com o objetivo de promover a migração dos estados para regiões de estabilidade distintas, comprovando a existência de multiplicidade de estados estacionários em sistemas fermentativos de *Zymomonas mobilis*, além de possibilitar a validação de estratégias de controle não utilizadas até então.

Palavras-chave: *Zymomonas mobilis*, fermentação, análise de bifurcação, multiplicidade de estados estacionários.

1 INTRODUÇÃO

O consumo de combustíveis fósseis provoca a emissão de dióxido de carbono, gás este que consiste em um dos principais responsáveis pelas perturbações climáticas ocasionadas pelo aquecimento global. Fato este agravado devido à matriz energética mundial ser baseada atualmente em recursos fósseis finitos.

Fontes de combustíveis renováveis é a mais provável solução para os problemas de aquecimento global que o planeta está passando atualmente, isto porque para este tipo de combustível, a geração/consumo de CO₂ ocorre de forma cíclica. O gás carbônico oriundo da queima de combustíveis renováveis é consumido pela flora no processo de fotossíntese, possibilitando a geração de mais combustíveis renováveis e completando, desta forma o ciclo de CO₂. Atualmente, o etanol e o biodiesel são os combustíveis de caráter renovável mais promissores, quando são analisados aspectos tecnológicos e logísticos da migração da matriz energética mundial (Diehl e Trierweiler, 2008). O etanol, frente ao biodiesel e demais combustíveis de origem renovável, apresenta duas grandes vantagens. A primeira é com respeito ao balanço energético produtivo. Macedo (1998) afirma que, em média para cada unidade de energia aplicada na produção do etanol (produzido através da rota onde cana-de-açúcar é usada como fonte de sacarose e conseqüentemente fonte de

hidrocarbonetos oxidáveis), é convertida em aproximadamente nove unidades de energia com o álcool produzido. Neste balanço é incluída a utilização do bagaço de cana, resultante da extração do caldo de sacarose da cana, como combustível para geração de energia elétrica na usina. Em contrapartida, o balanço de energia para o biodiesel e para o álcool etílico produzido através da rota fermentativa de amido de milho, aproxima-se de um, indicando que, apenas uma unidade de energia pode ser produzida através do consumo destes combustíveis, em função de cada unidade de energia necessária para gerá-los (França, 2008).

A segunda vantagem do álcool etílico em relação aos demais combustíveis renováveis diz respeito ao mercado já consolidado deste insumo. A fermentação alcoólica é uma tecnologia bem desenvolvida e o exemplo brasileiro comprova o sucesso de sua utilização como combustível substituinte de combustíveis de base fóssil.

A produção de etanol pode ser feita através de três diferentes rotas: por via destilatória, sintética ou fermentativa (Lima et al. 2001). Em escalas industriais, a rota mais usual envolve a síntese fermentativa ou biossíntese. As enzimas, produzidas pelos microorganismos responsáveis pela fermentação, são compostas por grupos de substâncias orgânicas de natureza usualmente proteica que tem a função de catalisador para as reações de fermentação (Reguly,

1996). Esta autocatálise é característica de processos bioquímicos, e no caso específico do etanol, os microorganismos mais usuais são as leveduras e as bactérias. Dentre as leveduras destacam-se a *Saccharomyces cerevisiae*, *Sacharomyces uvarum* (*carlsbergensis*), *Schizosaccharomyces pombe* e *Kluyveromyces* e as bactérias *Zymomonas mobilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium thermohydrosulfuricum* e *Thermoanaerobacter ethanolicus* (Kosaric & Vardar-Sukan, 2001). Dentre todos os microorganismos citados, a *Saccharomyces cerevisiae* é o microorganismo tradicionalmente mais utilizado na produção industrial de etanol. A produção de etanol utilizando como agente fermentativo a bactéria *Zymomonas mobilis* apresenta alta capacidade de fermentação (Medigan *et. al.*, 2000), podendo fermentar açúcares com o dobro da velocidade do que as leveduras (Najafpour, 2007; Leão, 2005; Black, 1999; Atlas, 1997). Nas últimas três décadas, pesquisadores tentam reivindicar a substituição da clássica *Saccharomyces cerevisiae* pela *Zymomonas mobilis*, alegando que a bactéria possui características fermentativas superiores às leveduras, dentre as quais produz etanol com eficiência de 98% e velocidade específica duas vezes maior que as leveduras, resultando em elevados rendimentos e produtividades (Kesava e Panda, 1996 & Kesava *et. al.*, 1996).

Zymomonas mobilis é uma bactéria Gram-negativa, obrigatoriamente fermentativa, que se destaca por usar a via de Entner-Doudoroff, característica de bactérias aeróbias, como único meio de obter energia. Por esta rota, um mol de ATP é produzido por mol de molécula de glicose metabolizada, esta ineficiência é compensada pela bactéria através de sua elevada capacidade de metabolizar a glicose (Parker *et. al.*, 1997). As pesquisas para o uso da *Zymomonas mobilis* na produção industrial de etanol estão focadas no uso de engenharia metabólica para o desenvolvimento de uma variedade capaz de fermentar diferentes açúcares, advindos de fontes ricas em lignocelulose, bem como de tolerar condições adversas de estresse (Deanda *et. al.*, 1996; Joachimsthal *et. al.*, 1998). Certas diferenças na composição de sua membrana conferem à *Zymomonas mobilis* alta tolerância às concentrações de etanol (superiores a 120 g/l) (Lin e Tanaka, 2005; Bringer *et. al.*, 1985) e concentrações de substrato (Najafpour, 2007).

Um fato muito interessante referente a fermentações com esta bactéria é o surgimento de comportamentos oscilatórios sob certas condições de operação, fato este referenciado por inúmeros autores (Elnashaine *et. al.*, 2006; Maheca-Botero *et. al.*, 2006; Garhyan e Elnashaine, 2004; Garhyan *et. al.*, 2003; Bruce *et. al.*, 1991) e seu perfil é devido às interações entre a taxa de crescimento celular e a produção de etanol.

Segundo Maheca-Botero *et. al.* (2006) a operação em estados periódicos pode resultar em maiores conversões globais, quando comparadas com a operação correspondente em estado estacionário. Os autores ainda afirmam que através da utilização de membranas para fazer a remoção de etanol do reator é possível eliminar o comportamento oscilatório, ou seja, a membrana atua como um estabilizador para o bioreator. Garhyan e Elnashaine (2004) mostraram a existência de comportamentos caóticos em processos fermentativos de *Zymomonas mobilis*,

através da utilização de diagramas de bifurcação, e afirmam que em alguns casos, a produtividade média sob determinadas condições é maior que a operação em seu estado estacionário. Além de características caóticas e oscilatórias, constata-se ainda a existência de múltiplos estados estacionários e regiões de estados operacionais instáveis revelando o comportamento complexo de um sistema de fermentação que empregue a bactéria *Zymomonas mobilis*.

Apesar da fermentação alcoólica através de *Saccharomyces cerevisiae* ser a mais utilizada industrialmente, a escolha da tecnologia mais apropriada ainda necessita de análises mais profundas, já que há divergências por parte de pesquisadores especialistas no assunto. A elevada produtividade da *Zymomonas mobilis* fermentando glicose, associada à possibilidade de modificações genéticas que propiciem a obtenção de células hábeis a fermentar diferentes fontes de carbono e ainda os avanços tecnológicos da hidrólise como pré-processo álcool-fermentativo peculiar comportamento não linear proporcionado pelas bactérias, tornam relevante o seu estudo como uma alternativa propícia frente à permuta tecnológica na cadeia produtiva do etanol.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 MODELAGEM MATEMÁTICA

A utilização de ferramentas matemáticas, para o entendimento qualitativo de processos, vem sendo de grande auxílio no desenvolvimento de processos e tecnologias. Dentre estas ferramentas, descrições de fenômenos e processos reais, chamados de modelos matemáticos, permitem a caracterização dos mesmos quando suas entradas são conhecidas (Melo e Pinto, 2008). A concepção de um modelo surge da demanda investigativa em criar uma estrutura física ou abstrata, simples ou complexa, capaz de descrever um fenômeno real. O resultado da simulação de um modelo deve ser confrontado com o fato experimental, que se trata de uma referência básica da investigação. Caso a comparação seja positiva, significa que o modelo representa, dentro de um determinado grau de confiança, o fenômeno modelado. Caso contrário, novas propostas de modelo devem ser formuladas e testadas (Aris, 1989).

Os modelos são basicamente divididos em três grupos: os teóricos, fenomenológicos ou constitutivos, formam modelos baseados puramente em princípios físicos e químicos; os empíricos, obtidos através de relações de dados do processo; e os modelos semi-empíricos, que combinam fundamentos teóricos e aproximações empíricas (Mikles e Fikar, 2007 apud Diehl, 2009).

Segundo Bequette (1998), o resultado mais importante no desenvolvimento de modelos matemáticos em engenharia química, está no entendimento do comportamento do processo proporcionado pelos mesmos. As relações de causa-efeito entre as variáveis podem ser vistas de forma mais clara. Os modelos matemáticos podem ser ferramentas úteis na pesquisa e desenvolvimento de plantas, auxiliando de formas

diversas em diferentes áreas. O autor também afirma que nas últimas três décadas, matemáticos e demais cientistas constataram que modelos simples, que até então eram tidos como comuns e previsíveis, poderiam apresentar comportamentos complexos, com incapacidade de predição em longos períodos de tempo, característica esta devida a alta sensibilidade dos modelos às condições iniciais.

O termo Bifurcação, que define uma mudança qualitativa no retrato de fase de um sistema quando existe uma variação em algum parâmetro de bifurcação, foi introduzido por Poincaré em meados do século XIX. Em sistemas compostos por equações diferenciais, bifurcações ocorrem quando existe a variação no número de soluções de equilíbrio ou quando ocorre a mudança de estabilidade do sistema.

Sistemas não lineares, como aqueles usados para representar reatores CSTR e biorreatores apresentam alta complexidade de caracterização. Nestes casos, simulações dinâmicas podem ser ineficientes em identificar comportamentos característicos relevantes, ou até mesmo apresentar resultados inconclusivos (Williams, 1997). Devido ao elevado número de simulações dinâmicas necessárias para determinar o comportamento global de um processo, torna-se necessária análise da dinâmica não linear para sistemas complexos. Desta forma, a associação entre simulações dinâmicas e análises de bifurcação torna-se o mais indicado (Zhang e Henson, 2001).

2.2 MODELOS PARA FERMENTAÇÃO COM *ZYMONONAS MOBILIS*

Diversos modelos para a fermentação contínua de glicose com a bactéria *Zymomonas mobilis*, são propostos na literatura. O modelo não-segregado e estruturado de Jöbbses *et. al.* (1986), divide a biomassa em dois compartimentos, introduzindo um componente chave, que leva em consideração a influência da concentração de produto do meio reativo.

Ghommidh *et. al.* (1989) modelaram o comportamento oscilatório de *Zymomonas mobilis* em cultura contínua, considerando o efeito inibitório do etanol como causador das oscilações e segregando a população microbiana em três grupos distintos: células viáveis, células não viáveis (capazes de produzir etanol, mas incapazes de se reproduzirem) e células mortas.

Jarzebski (1992) propôs algumas modificações no modelo apresentado por Ghommidh *et. al.* (1989), incorporando ao mesmo a hipótese de as oscilações terem parcelas dependentes tanto da inibição por etanol como pela inibição por substrato.

Aliado à inibição causada por substrato e produto, deve-se considerar que as células não apresentam resposta instantânea às mudanças no meio. De acordo com Daugulis *et. al.* (1997), este atraso na resposta metabólica dos microorganismos frente a distúrbios no meio, juntamente com a inibição por substrato e produtos, torna o mecanismo de fermentação alcoólica complexo. Com base nestas afirmações, Daugulis *et. al.* (1997) propuseram um modelo não-segregado e não-estruturado, validado por McLellan *et. al.* (1999), que propõe uma aproximação macroscópica incorporando o conceito de taxa de crescimento específica dinâmica, capaz de considerar o

histórico recente de inibições do processo.

Neste trabalho, serão objetos de estudo, os modelos propostos por Jöbbses, Jarzebski e Daugulis. Na tabela 1 são apresentadas as equações diferenciais que compõe cada um dos modelos citados. Descrições a respeito de cada modelo podem ser encontradas nos artigos referenciados, de forma que neste trabalho não nos deteremos nestas descrições.

Tabela 1. Modelos propostos na literatura para fermentação de glicose, utilizando a bactéria *Zymomonas mobilis*.

Modelo	Equações Diferenciais
Jöbbses	$\frac{dC_s}{dt} = \left(-\frac{1}{Y_{sx}} \right) \left(\frac{C_s C_e}{K_s + C_s} \right) - m_s C_x + D(C_{s0} - C_s)$ $\frac{dC_x}{dt} = \left(\frac{C_s C_e}{K_s + C_s} \right) + D(C_{x0} - C_x)$ $\frac{dC_e}{dt} = \mu_1 - k_2 C_p + k_3 C_p^2 \left(\frac{C_s C_e}{K_s + C_s} \right) + D(C_{e0} - C_e)$ $\frac{dC_p}{dt} = \left(\frac{1}{Y_{px}} \right) \left(\frac{C_s C_e}{K_s + C_s} \right) + m_p C_x + D(C_{p0} - C_p)$
Jarzebski	$\frac{dC_{xv}}{dt} = \mu_v - \mu_d - \mu_d - D C_{xv}$ $\frac{dC_{xd}}{dt} = \mu_d C_{xv} + C_{xnv} - D C_{xd}$ $\frac{dC_{xnv}}{dt} = \mu_{nv} C_{xv} - \mu_d + D C_{xnv}$ $\frac{dC_p}{dt} = \frac{\mu_v C_{xv}}{Y_{px}} + m_p C_{xnv} - D C_p$ $\frac{dC_s}{dt} = D(C_{s0} - C_s) - \frac{\mu_v C_{xv}}{Y_{sx}} - m_s C_{xnv}$
Daugulis	$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_s C_x C_z - D - \sigma(t) D_e C_x$ $\frac{dC_s}{dt} = -\frac{1}{Y_{ps}} Q_p C_x + D C_{sF} - \mu(t) D_e + D C_s$ $\frac{dC_p}{dt} = Q_p C_x + \sigma(t) D_e C_{pe} - \mu(t) D_e + D C_p$ $\frac{dC_z}{dt} = \beta C_w - C_z$ $\frac{dC_w}{dt} = \beta Q_p C_x + \sigma(t) D_e C_{pe} - \mu(t) D_e + D C_p - C_w$

A tabela 2 apresenta os valores das constantes presentes em cada um dos modelos. Estas constantes são necessárias para promover a implementação dos modelos, a fim de gerar simulações dinâmicas e/ou construção de diagramas de bifurcação. Para o modelo de Daugulis, existem quatro conjuntos de parâmetros publicados na literatura, de forma que cada conjunto gera respostas distintas e mapa de fase diferentes. O significado físico de cada uma destas constantes pode ser encontrado nos artigos referenciados.

Para o modelo proposto por Daugulis, quatro conjuntos de parâmetros são apresentados, sendo o conjunto 3-OS escolhido para simulação devido a grande diversidade de resultados apresentado pelo mesmo.

Tabela 2. Parâmetros dos modelos.

Modelo	Parâmetro	Valor				Unit
Jöbsses	C_{Po}	0				kg/m^3
	C_{xo}	0				kg/m^3
	C_{eo}	0				kg/m^3
	K_s	0,5				kg/m^3
	k_1	16				h^{-1}
	k_2	0,497				$m^3/kg\ h$
	k_3	0,00383				$m^6/kg^2\ h$
	m_S	2,16				$kg/kg\ h$
	m_P	1,10				$kg/kg\ h$
	Y_{Sx}	0,0244498				kg/kg
	Y_{Px}	0,0526315				kg/kg
Jarzebski	μ_{max}	0,25				h^{-1}
	μ'_{max}	0,21				h^{-1}
	C_{PC}	70				kg/m^3
	\bar{C}_{PC}	130				kg/m^3
	k_1	3,0				kg/m^3
	k_2	3,0				kg/m^3
	m_S	4,42				$kg/kg\ h$
	m_P	2,6				$kg/kg\ h$
	Y_{Sx}	0,095				kg/kg
	Y_{Px}	0,235				kg/kg
Daugulis		1-EE	2-OA	3-OS	4-EOE	
	μ_{max}	0,41	0,41	0,41	0,41	h^{-1}
	P_{ob}	59	59	59	59	kg/m^3
	P_{ma}	217	217	217	217	kg/m^3
	P_{mb}	108	108	108	108	kg/m^3
	P_{me}	120	120	120	120	kg/m^3
	S_i	80	80	80	80	kg/m^3
	K_i	200	200	200	200	kg/m^3
	K_s	0,5	0,5	0,5	0,5	kg/m^3
	K_{mp}	0,2	0,2	0,2	0,2	kg/m^3
	Y_{ps}	0,495	0,495	0,495	0,495	kg/kg
	A	0,6216	0,6216	0,3142	0,3168	-
	B	0,5516	0,5516	1,415	2,127	-
	α	2,6	8,26	8,77	4,186	-
	β	0,0767	0,0767	0,0366	0,0625	h^{-1}
	γ	3,8	3,8	21,05	3,988	-
δ	7,8	7,8	0,8241	0,2251	-	
Q_{pmax}	4,2	3,150	2,613	2,95	h^{-1}	

Observa-se que a grande maioria dos parâmetros não

difere de forma significativa entre os quatro conjuntos, obtidos para o modelo de Daugulis, de forma que o autor do modelo estimou apenas A, B, α , β , γ , δ e Q_{pmax} diferentes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A caracterização estático/dinâmica dos modelos será feita através de diagramas de bifurcação, utilizando-se futuramente o software AUTO 07p, sendo os diagramas apresentados neste trabalho gerados no software Matlab 5.3. O software AUTO 07p trata-se de um conjunto de algoritmos integrados e executados em linguagem Fortran. Estes algoritmos são usados para análise numérica de sistemas de equações não lineares algébricas e de equações diferenciais ordinárias. O principal objetivo deste pacote é o cálculo de ramos de soluções periódicas estáveis ou instáveis de um sistema de equações diferenciais no tempo, sendo estas funções de estados e de parâmetros de continuação, as quais os estados e suas derivadas no tempo pertencentes a R^n (Doedel, 1997).

Soluções periódicas frequentemente surgem através de bifurcação a partir de uma solução estacionária (bifurcação Hopf), desta forma, o pacote contém algoritmos capazes de identificar ramos de estados estacionários e determinação de pontos de bifurcação de Hopf.

Para promover simulações dinâmicas, ambos os modelos foram implementados na forma de *scripts* de Matlab® 5.3, e ou Simulink, nesta mesma versão. O método numérico selecionado para simulação dos sistemas foi o ode45, caracterizado por ser um método não rígido, baseado na formulação de Runge-Kutta explícito com coeficientes de Dormand-Princes.

Análise de representatividade de modelos será feita através da comparação entre diagramas de bifurcação gerados para cada modelo, utilizando cada um dos conjuntos de parâmetros publicados, dados reais obtidos em fermentações em escala laboratorial, publicados em artigos e dados de fermentação contínua de *Zymomonas mobilis* gerados no Laboratório de Bioprocessos da Universidade de Caxias do Sul. Além destes, está sendo concluída a construção de uma unidade de fermentação de *Zymomonas mobilis* no laboratório LACIP II, do departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A figura 1 apresenta uma foto da unidade em construção, que possibilitará a realização de fermentações batelada ou em regime contínuo, de forma automatizada, de forma a testar implementação e sintonia de controladores para o processo fermentativo e também possibilitará a realização de experimentos visando à aplicação de estratégias de controle diversas, como a proposta por Diehl (2009) e apresentada na figura 2.

O gráfico presente na figura 2 mostra uma simulação, em malha aberta, onde é possível observar a transição dinâmica das soluções estacionárias do modelo de Jöbsses, sendo que A1*, C1* e C2* representam equilíbrios do sistema. No tempo igual a 5 h um aumento em D (taxa de diluição) faz com que haja uma passagem do sistema de uma região de alta conversão para uma região estável de conversão inferior. Em 15 h a taxa de

diluição volta ao seu valor inicial. Contudo essa ação não é eficiente quando a finalidade é conduzir o processo à zona de alta conversão. Em 20 h foi adicionado etanol ao reator resultando na transição de ramos operacionais, do inferior para o superior, com êxito.



Figura 1. Planta laboratorial para fermentações em modo batelada ou contínuo de *Zymomonas mobilis*.

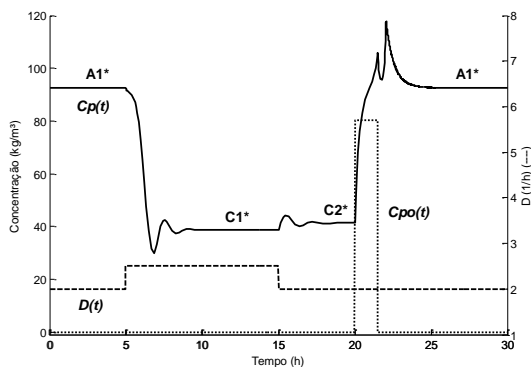


Figura 2. Estratégia de controle para reator de *Zymomonas mobilis*. Fonte: Diehl 2009.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A figura 3 apresenta os resultados de uma única simulação dinâmica, com os três modelos estudados, com o objetivo de analisar de forma qualitativa o comportamento dinâmico de cada um dos modelos, em um único ponto operacional. Através deste gráfico pode ser observado que os modelos apresentam diferenças significativamente acentuadas na região dinâmica, tendendo posteriormente para resultados em estado estacionário similares, nos casos dos modelos de Jöbjes e Daugulis, e diferentes para o modelo de Jarzebski.

A figura 4 apresenta os diagramas de bifurcação para os modelos de Jöbjes e Daugulis. Nestes diagramas a taxa de diluição foi escolhida como parâmetro a ser variado, e a concentração de glicose na corrente de alimentação (C_{s0}) foi mantida constante e igual a 200 kg/m^3 . O modelo de Daugulis foi implementado utilizando o conjunto de parâmetros referente à oscilação sustentada. A taxa de diluição foi variada de 0 a $0,16 \text{ h}^{-1}$, intervalo onde ambos os modelos apresentam respostas diferentes da trivial, onde todos os estados tendem a assumir concentrações iguais a zero, excetuando a de substrato que tende ao valor da

concentração da corrente de alimentação do reator. Nesta figura são apresentados os diagramas para os estados similares dos dois modelos analisados, sendo eles concentração de biomassa, produto (etanol) e substrato.

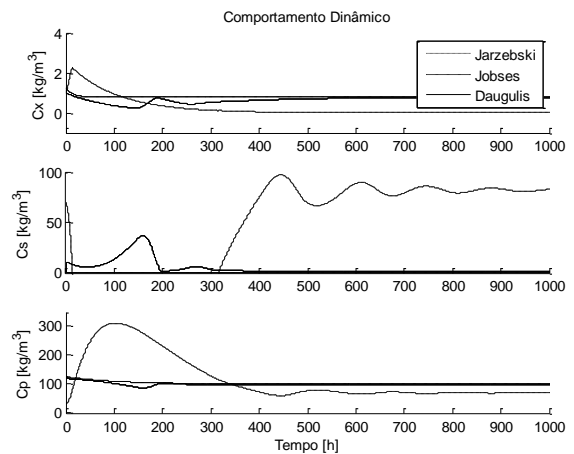


Figura 3. Simulação dinâmica com taxa de diluição de $0,01 \text{ h}^{-1}$ e concentração de glicose na alimentação de 200 kg/m^3 .

Para o modelo de Jöbjes, o intervalo de fator de diluição analisado recai em uma região onde existe multiestabilidade de estados. Surgem um ramo de soluções de equilíbrio estáveis, de alta conversão e outro de baixa conversão. Entre as regiões estáveis (linhas contínuas), existe uma seqüência de equilíbrios que forma um ramo instável (linha tracejada). Neste ramo encontra-se a bifurcação 3 ($D = 0,06 \text{ h}^{-1}$) que é um Hopf virtual. Classificado como um caso *neutral saddle* ou bifurcação Hopf imaginária, essa singularidade surge quando a soma da parte real de dois autovalores é igual a zero (Pellegrini e Possio, 1996). Além deste, o ponto 4 é um ponto Hopf “real”, que ocorre quando o fator de diluição é de $0,054 \text{ h}^{-1}$ (D_{Hopf}). Para valores de $D > D_{\text{Hopf}}$ a resposta dinâmica do sistema é subamortecida, enquanto que para $D < D_{\text{Hopf}}$ a resposta oscilatória diverge.

O modelo de Daugulis, simulado com os parâmetros de Oscilação Sustentada, não atinge estados estacionários estáveis, apenas estados estacionários oscilatórios foram encontrados. O diagrama de bifurcação deste modelo apresenta os limites inferiores e superiores da oscilação presente no estado estacionário. O ponto de bifurcação 1 ($D = 0,033 \text{ h}^{-1}$) é denominado Hopf subcrítico, onde grandes amplitudes de oscilação são identificados devido à instabilidade do modelo. O ponto de bifurcação 2 ($D = 0,111 \text{ h}^{-1}$), também presente neste diagrama, é denominado Hopf supercrítico, onde a perda de estabilidade das soluções no estado estacionário é acompanhada da aparição de oscilações com baixas amplitudes.

A avaliação simultânea dos diagramas de bifurcação explicita a grande diferença entre estes modelos. Para a concentração de substrato na corrente de alimentação proposta, estados estacionários similares aparecem apenas para baixos fatores de diluição, da ordem de $0,02 \text{ h}^{-1}$, visto que para fatores de diluição desta ordem, o ramo de soluções estáveis superior do modelo de Jöbjes praticamente se equipara com as soluções estáveis do

modelo de Daugulis.

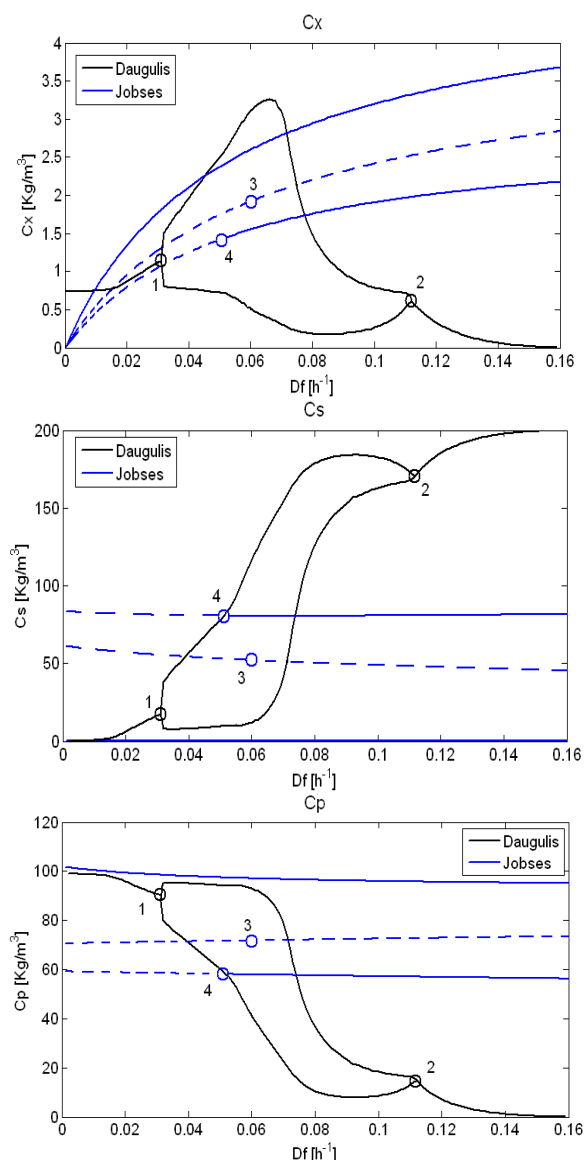


Figura 3. Diagramas de bifurcação de codimensão-1 para os modelos de Jöbbses e Daugulis. Os pontos 1, 2, 3 e 4 representam, respectivamente, Hopf subcrítico e supercrítico para o modelo de Daugulis e Hopf virtual e real para o modelo de Jöbbses.

Com relação à região de representatividade dos modelos, o modelo de Daugulis claramente apresenta restrições quanto aos valores máximos de fator de diluição. Para fatores acima de $0,16 \text{ h}^{-1}$ ocorre o carregamento de toda biomassa para fora do reator (*wash-out*), este fenômeno ocorre basicamente quando a taxa de crescimento dos microorganismos é inferior a taxa de retirada os mesmos pela corrente de produtos, na prática ocorre quando a taxa de diluição utilizada no reator é maior que a taxa de crescimento do microorganismo. Este fenômeno não é aparente no modelo de Jöbbses. Neste modelo, conforme ocorre o aumento do fator de diluição, o modelo continua apresentando aumento nas concentrações dos componentes. Este fato faz com que comparações entre os modelos sejam restritas a faixa de validade do modelo de Daugulis. Cabe salientar que este comportamento de *wash-out* é verificado na prática, evidenciando que o modelo de Jöbbses deve ser usado somente para descrever o comportamento do sistema em baixas taxas de diluição,

para as quais o modelo foi desenvolvido.

5 CONCLUSÃO

Diagramas de bifurcação associados com simulações dinâmicas mostram ser ferramentas muito eficazes para a caracterização de sistemas estático/dinâmicos, proporcionando a análise qualitativa e quantitativa de processos industriais.

O processo de fermentação utilizando a bactéria *Zymomonas mobilis*, tem sido amplamente discutido e pesquisado no meio acadêmico atualmente, devido à capacidade desta bactéria de fermentar diferentes fontes de carbono, com restrições, não apenas glicose.

Através das análises de bifurcação e simulações dinâmicas constatou-se que existem grandes diferenças entre os modelos. Entre estas podem ser citadas o fato do modelo de Daugulis entrar em regime estável para períodos muito maiores que o modelo de Jöbbses. O modelo de Daugulis também apresenta regimes estacionários oscilatórios e é válido para uma pequena faixa de fator de diluição, enquanto o modelo de Jöbbses estabiliza em regimes estacionários estáveis, atingindo o estado estacionário para pequenos períodos de tempo.

A análise de bifurcação dos modelos de Jarzebski, juntamente com a do modelo de Daugulis implantado com os demais conjuntos de parâmetros fornecerá informações relevantes ao comportamento da bactéria *Zymomonas mobilis*. Entretanto, apenas associando as análises de bifurcações destes modelos a resultados de fermentações contínuas poderá fornecer a informação de qual é o melhor modelo para predição de fermentações utilizando a bactéria em questão, além de indicar qual dos modelos devemos utilizar para poder propor e planejar novas estratégias de controle para sistemas fermentativos.

Os resultados obtidos até aqui não são suficientes para inferirmos qual o melhor modelo e conjunto de parâmetros a ser adotado, para fins de controle de uma usina de produção de etanol que utilize como agente fermentativo a bactéria *Zymomonas mobilis*, para tanto, Fermentações contínuas estão sendo conduzidas com o objetivo de comprovar a multiplicidade de estados estacionários previstas pelo modelo de Jöbbses, bem como a possibilidade de controle do sistema reativo através da manipulação da concentração de etanol no reator. Caso o resultado mostre a viabilidade da estratégia de controle, novos métodos de controle poderão ser propostos e a operação do sistema em regiões de máximo produção poderão ser otimizados, de forma a elevar a viabilidade do processo e aperfeiçoar a produção.

6 REFERÊNCIAS

ARIS, R. Ut Simulacrum. *Poesis*. New Literary History. Vol 20, p 323-340, 1989.

ATLAS, R. M. *Principles of microbiology*. 2ª ed, Wm C. Brown Publishers, Dubuque, 1997.

BEQUETTE, B. W. *Process dynamics: modeling*,

analysis and simulation. Prentice Hall, Inc. New Jersey, 1998.

BLACK, J. G. *Microbiology – Principles and Explorations*. 4^a ed, John Wiley and Sons, Inc, New York, 1999.

BRINGER, S.; HARTNER, T.; PORALLA, K. e HERMANN, S. Influence of ethanol on the hopanoid content and the fatty acid pattern in batch and continuous cultures of *Zymomonas mobilis*. *Archives of Microbiology*, Vol 140, p. 312–316, 1985.

BRUCE, L. J.; AXFORD, D. B.; CISZEK, B. e DAUGULIS, A. J. Extractive fermentation by *Zymomonas mobilis* and the control of oscillatory behavior. *Biotechnology Letters*. Vol 13, 291- 296, 1991.

DAUGULIS, A. J.; MCLELLAN, P. J.; Li, J., Experimental Investigation and Modeling of Oscillatory Behavior in the Continuous Culture of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnol. Bioeng*. Vol 1, p 99-105, 1997.

DEANDA, K.; ZHANG, M.; EDDY, C. e PICATAGGIO, S. Development of an arabinose-fermenting *Zymomonas mobilis* strain by metabolic pathway engineering, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 56, n 1, p 99 – 105, 1996.

DIEHL, F. *Análise, Controle e Otimização Operacional de um reator de Zymomonas mobilis com multiplicidade de equilíbrios*. Dissertação de Mestrado. UFRGS, Porto Alegre, 2009.

DIEHL, F. C.; TRIERWEILER, J. O. Análise, controle e otimização operacional de um reator de *Zymomonas mobilis* com multiplicidade de equilíbrios. In: *VII-Oktober Fórum-PPGEQ*, 2008, Porto Alegre, Anais.

DOEDEL, E.; CHAMPNEYS, A. R.; FAIRGRIEVE, T. F.; KUZNETSOV, Y. A.; SANDSTEDÉ, B. e WANG, X. AUTO97: Continuation and Bifurcation Software for Ordinary Differential Equations. User's Guide. Montreal, Concordia University, 1997.

ELNASHAINE, S. S. E. H.; CHEN, Z.; GARHYAN, P.; PRASAD, P. e MAHECA-BOTERO, A. Practical implications of bifurcation chaos in chemical and biological reaction engineering. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, Vol 4, 2006.

FRANÇA, R. 70 questões para entender o etanol. *Veja 2050*, 19 de março. Disponível em: http://veja.abril.com.br/190308/p_104.shtml, 2008.

GARHYAN, P. e ELNASHAINE, S. S. E. H., Utilization of mathematical models to investigate the bifurcation and chaotic behavior of ethanol fermentors. *Mathematical and Computer Modelling*. Vol 39, p 381-427, 2004.

GARHYAN, P.; ELNASHAINE, S. S. E. H.; AL-HADDAD, S. M.; IBRAHIM, G. e ELSHISHINI, S.S. Exploration and exploitation of bifurcation/chaotic behavior of a continuous fermentor for the production of ethanol. *Chemical Engineering Science*. Vol 58, p 1479-1496, 2003.

GHOMMIDH, C.; VAIJA, J.; BOLARINWA, S.;

NAVARRO, J. M. Oscillatory behaviour of *Zymomonas* in continuous cultures: A simple stochastic model. *Biotechnol. Lett*. Vol 9, p 659-664, 1989.

JARZEBSKI, A. B. Modelling of oscillatory behaviour in continuous ethanol fermentation. *Biotechnol. Lett*. Vol 14, p 137-142, 1992.

JOACHIMSTHAL, E.; HAGGETT, K. D.; JANG, J. e ROGERS, P. L. A mutant of *Zymomonas mobilis* ZYMOMONAS MOBILIS4 capable of ethanol production from glucose in the presence of high acetate concentrations. *Biotechnology Letters*, Vol 20, n 2, p 137 – 142, 1998.

JöBSES, I. M. L.; EGBERTS, G. T. C.; LUYBEN, K. C. A. M.; ROELS, J. A. Fermentation kinetics of *Zymomonas mobilis* at high ethanol concentrations: Oscillations in continuous cultures. *Biotechnol. Bioeng*. Vol 28, p 868-877, 1986.

KESAVA, S. S. e PANDA, T. Ethanol production by immobilized whole cells of *Zymomonas mobilis* in a continuous flow expanded bed bioreactor and a continuous flow stirred tank bioreactor. *Journal of Industrial Microbiology*. Vol 17, p. 11–14, 1996.

KESAVA, S.S.; PANDA, T. e RAKSHIT, S. K. Production of ethanol by immobilised whole cells of *Zymomonas mobilis* in an expanded bed bioreactor. *Process Biochemistry*. Vol 31, p. 449–456, 1996.

LEÃO, R. M. *Fermentação alcoólica – Ciência e tecnologia*. Fermentec, Piracicaba, 2005.

LI, J. *Experimental investigation and mathematical modelling of oscillatory behaviour in the ethanol fermentation by Zymomonas mobilis*. Ph.D. Thesis, Queen's University, Kingston, Ontario, 1996.

LIN, Y. e TANAKA, S., “Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects.” *Applied Microbiology Biotechnology*, 2005. Disponível em: 12/1215170776.pdf. Acesso em março de 2008.

LIMA, R. M.; BASSO, L. C. e AMORIM, H. V. *Produção de Etanol. Biotecnologia Industrial – Processos Fermentativos e enzimáticos*. Vol. 3, Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2001.

MACEDO, I. C. Greenhouse gas emissions and energy balances in bio-ethanol production and utilization in Brazil. *Biomass and Bioenergy*, v. 14, p. 77-81, 1998.

MAHECA-BOTERO, A.; GARHYAN, P. e ELNASHAINE, S. S. E. H. Nonlinear characteristics of a fermentor for ethanol production and their implications. *Nonlinear Analysis: Real World Applications*. Vol 7, p 432-457, 2006.

MCLELLAN, P. J.; DAUGULIS, A. J. e LI, J. The incidence of oscillatory behavior in the continuous fermentation of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnology Progress*. Vol 15, p 667-680, 1999.

MELLO, P. A. e PINTO, J. C. C. S. Introdução à Modelagem Matemática e Dinâmica Não-Linear de Processos Químicos. *Escola Piloto Virtual Giuliano Massarani*, Rio de Janeiro, 2008.

NAJAFPOUR, G. D. *Biochemical engineering and biotechnology*. 1^a ed, Elsevier B. V., Amsterdam, 2007.

PARKER, C.; PEEKHAUS, N.; ZHANG, X. e CONWAY, T. Kinetics of sugar transport and phosphorylation influence glucose and fructose metabolism by *Zymomonas mobilis*. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 63, n 9, p 3519 – 3525, 1997.

PELLEGRINI, L. e POSSIO, C. T. A non-ideal CSTR: a high codimension bifurcation analysis. *Chemical Engineering Science*. Vol 11, p. 3151-3156, 1996.

KOSARIC, N. & VARDAN-SUKAN, F. *Potencial source of energy and chemical products. The biotechnology of ethanol: classical and future applications*. Wiley-VHC Verlag GmbH, Weinheim, 2001.

REGULY, J. C. *Biotechnologia dos processos fermentativos – Fundamentos, matérias-primas, produtos e processos*. Vol 1, Editora Universitária – UFPel, Pelotas, 1996.

WILLIAMS, G. P. *Chaos theory tamed*. Joseph Henry Press. Washington, 1997.

ZHANG, Y. e HENSON, M. Bifurcation analysis of continuous biochemical reactor models. *Biotechnology Progress*. Vol 17, p 647-660, 2001.