

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Caracterização, Aproveitamento e
Geração de Novos Produtos
de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e
Urbanos

EDITORES

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori
Ladislau Martin Neto
Wilson Tadeu Lopes da Silva
José Manoel Marconcini
Victor Bertucci Neto

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Sandra Protter Gouvea
Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Camila Fernanda Borges
Capa: Camila Fernanda Borges
Editoração eletrônica: Camila Fernanda Borges

1ª edição

1ª impressão (2010): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação

C257 Caracterização, Aproveitamento e Geração de Novos Produtos de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e Urbanos. / Débora Marcondes B. P. Milori, Ladislau Martin-Neto,
Wilson Tadeu Lopes da Silva, José Manoel Marconcini, Victor Bertucci Neto editores. -- São
Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2010.
154 p.

ISBN:

1. Reciclagem. 2. Meio ambiente. 3. Agricultura. 4. Agroenergia. 5. Novos materiais.
6. Seqüestro de carbono. 7. Solos. 8. Lodo de esgoto. 9. Substância húmicas. 10. Águas
residuárias. I. Milori, Débora Marcondes B. P. II. Martin-Neto, Ladislau.
III. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. IV. Marconcini, José Manoel. V. Bertucci Neto, Victor.

CDD 21 ED 628.4458
631
363.7

© Embrapa 2010



AUTOMAÇÃO DE PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO SÓLIDA PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS COM USO DE RESÍDUOS

Victor Bertucci Neto¹, Rafael Frederico Fonseca^{1,2}, Cristiane Sanchez Farinas¹, Rodrigo Andrade Ramos²

¹Embrapa Instrumentação, victor@cnpdia.embrapa.br

² Depto. de Engenharia Elétrica, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo

Plano de Ação: PA-5 n^o: 02.07.06.003.00.05

Resumo -A produção de enzimas por meio de processos de fermentação sólida tem apresentado renovado interesse nos últimos anos, principalmente agora que se quer produzi-las de forma eficiente e viável economicamente para a produção de Etanol de Segunda Geração. Entretanto, a ausência de instrumentos que permitam uma padronização sobre o estudo de cada um desses processos dificulta uma generalização sobre muitos resultados publicados na área. Neste trabalho é apresentado um sistema automatizado que pode auxiliar na padronização de vários métodos e processos de produção de enzimas por meio de fermentação sólida.

Palavras-chave: instrumentação, automação, fermentação, sólida, enzima, processo

Introdução

Um Processo de Fermentação Sólida (PFS) refere-se ao crescimento de microrganismos sem a presença de líquido livre (CANNEL e MOO-YOUNG, 1980) envolvendo interações heterogêneas de biomassa microbiana com substrato sólido umedecido. A biomassa microbiana dentro da matriz do substrato, ou sobre a superfície, consome o substrato e secreta metabólitos e enzimas. Como não há transporte convectivo em sólidos são necessários gradientes de concentração para suprir os substratos e remover os produtos de interesse. Entretanto, gradientes de concentração causam diferenças locais na atividade metabólica podendo estimular ou reprimir a produção de enzimas (RAHARDJO et al., 2006). Embora os PFS tenham levado a poucas novas produções (por exemplo, pectinases) eles têm um futuro promissor na valoração de produtos agroindustriais, biodegradação de resíduos sólidos, biorremediação de poluentes orgânicos em solos, e redução da poluição atmosférica por biofiltração. Os principais parâmetros a serem medidos e controlados em PFS são temperatura, aeração homogênea, pH, e conteúdo de água no leito de fermentação, sendo demonstrado que em escalas de bancada na ordem de um litro os PFS são mais viáveis que àqueles produzidos por fermentação submersa (BELLON-MAUREL, 2003). Entretanto, é difícil fazer um escalonamento superior em PFS devido à existência de gradientes em temperatura, umidade, oxigênio, substrato, e inóculo.

PFS reproduzem processos naturais como compostagem e ensilagem e com o uso de resíduos agrícolas de baixo custo como substrato podem tornar-se bastante viáveis economicamente. Entretanto, ainda existe uma limitação no escalonamento superior de cada processo que exige a investigação contínua de diferentes modelos de reatores, processos, sensores, instrumentação e automação. No Laboratório de Agroenergia da Embrapa Instrumentação estão sendo investigados vários PFS onde são variadas as condições de cultivo de diversos microrganismos, inclusive na presença de diferentes substratos (FARINAS et al., [201-]). Esse trabalho é contínuo e conta com a ajuda de um sistema automatizado para medir e controlar diversos parâmetros dos processos, auxiliando na compreensão de cada um. Neste artigo apresenta-se um sistema automatizado para controlar e medir alguns dos parâmetros existentes em PFS com intuito de verificar a produção de celulasas.

Materiais e métodos

Um reator para PFS é constituído de um compartimento com dimensões físicas variadas em cada processo, mas que mantém as seguintes características: deve ser garantido o fornecimento de ar ao meio, de forma a manter a umidade necessária sem que ocorra o aparecimento de água livre no meio. Deve ser garantido que a temperatura no meio não ultrapasse certos patamares, pois isto poderá inibir o crescimento microbiano, ou até cessá-lo. Dessa forma, existe uma grande liberdade na proposição de formatos de reatores, podendo ser encontrados os do tipo bandeja, coluna de aeração, tambores rotativos, etc.

Quanto ao sistema de automação desenvolvido na Embrapa Instrumentação, segue o princípio de funcionamento de manter uma razão entre fluxo de ar seco com outro de ar saturado com água de forma a obter um fluxo de ar constante com umidade também constante, de acordo com a necessidade do operador. Conforme mostra o diagrama na Figura 1, o sistema é composto de uma entrada de ar saturado de água e outra de ar seco. Cada uma dessas linhas de entrada possui um controlador de fluxo de massa (CF1 e CF2) que são comandados por sinais elétricos entre 0 e 5 VDC, através dos sinais de comando C1 e C2. Os controladores possuem saída de medida de fluxo indicadas por M1, e M2. As duas tubulações de ar seco e úmido são ligadas entre si para fazer a mistura ajustada pelos comandos. Um conjunto sensor mede a umidade relativa e a temperatura do ar resultantes dessa mistura, indicados por URT1. Um segundo conjunto sensor mede a umidade e a temperatura resultantes do ar de saída do reator. As medidas de temperatura e umidade de cada conjunto sensor são dadas por M3, M4, M5, e M6. Os experimentos foram feitos em bancada, sendo utilizados sensores de fluxo, de umidade, de pressão relativa (para a linha de alimentação de ar), e de temperatura. Para o controle de fluxo de massa em linha foram usados dois controladores, sendo um deles para a linha de ar saturado, e outro para a linha de ar seco. Foram usados três sensores de fluxo entre 0 a 1000 mililitros/minuto. Os controladores de fluxo de massa controlam o fluxo de ar entre 0 e 1 litro/minuto, conforme o comando via sinal elétrico.

As medidas são armazenadas através de uma placa de aquisição de dados, com 16 canais de entradas analógicas, e dois canais de saídas analógicas para acionamento externo. Cada canal de entrada, ou de saída, usado no sistema para medida de um sensor, ou de acionamento de um controlador, é configurado individualmente de acordo com as características específicas. A seqüência de medidas, armazenamento de dados, desenhos de gráficos em tempo real, e acionamento dos controladores de fluxo de massa, é feita com auxílio de um pacote de programação por interface gráfica, chamado *LabView*, da *National Instruments*. Este pacote permite o desenvolvimento de instrumentos virtuais que fazem interface com placas de aquisição de dados, a exemplo do que foi usado no sistema. Além dessas medidas e acionamentos, o sistema também permite a medida de concentração de CO₂ na saída, de forma que se possa averiguar a atividade biológica. O programa desenvolvido possibilita o uso de até 32 sensores, com conversão de dados de voltagem para as unidades desejadas. As medidas e acionamentos são feitas em intervalos de tempo escolhidos pelo operador. O controle de temperatura do ar é feito por meio de um banho com aquecimento que permite acionamento externo. Desta forma, todo o sistema pode ser acionado pelo operador segundo a decisão prévia. Uma das possibilidades é que após o profundo conhecimento de um processo se possa prever variações de fluxo, umidade, e temperatura do ar de alimentação do reator de fermentação sólida conforme a demanda exigida pelo comportamento dos microrganismos.

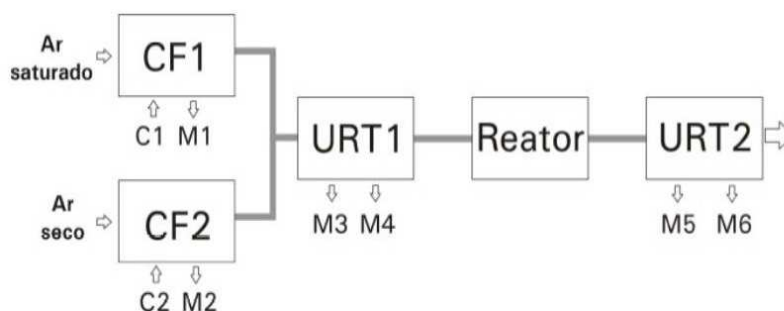


Figura 1 - Diagrama em blocos do sistema de controle de fluxo de ar.

Resultados e discussão

A Figura 2 mostra o resultado de controle da umidade relativa do ar de entrada no reator de fermentação sólida para diferentes patamares escolhidos pelo operador, mostrado em linha tracejada, em 90%, 70%, e 40%. Os valores de umidade inicial para cada patamar foram escolhidos de forma aleatória. A resposta devido ao esforço em controlar a umidade relativa é representada em linha sólida como a medida 3, ou M3, conforme indicado na Figura 1. Observa-se que a umidade relativa do ar pode ser controlada dentro do erro esperado dos sensores de medida de umidade ($\pm 3\%$). Por sua vez, a curva denominada por Ten, representa a temperatura do ar fornecido pelo compressor, que é variável ao longo do processo. Com a aplicação do controle de temperatura pode ser visto na Figura 2 que a curva representada por M4 se mantém razoavelmente constante na faixa escolhida pelo operador (34°C), com erro inferior a $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

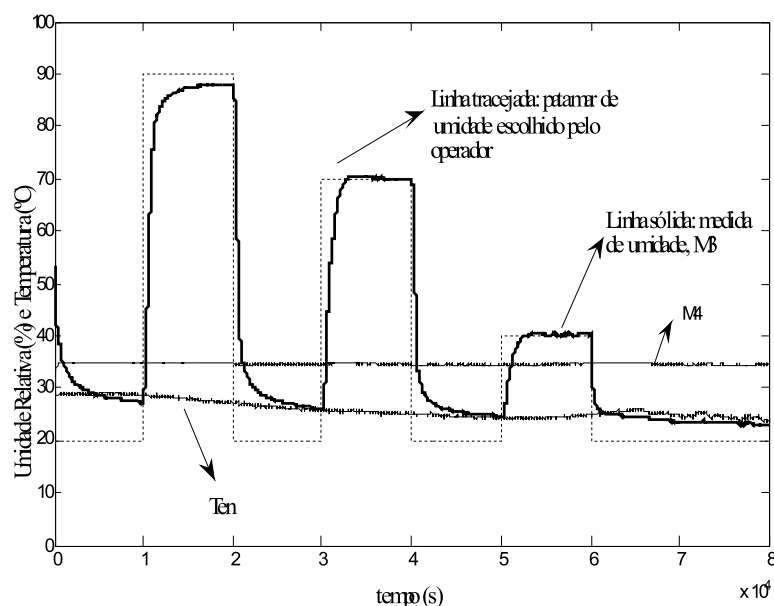


Figura 2 – Controle do valor da umidade relativa devido a 3 patamares escolhidos (90%, 70%, e 40%); variação da temperatura do ar de entrada Ten, e resultado do controle de temperatura em 34°C (M4).

A capacidade de controlar os parâmetros do fluxo de ar que alimenta o reator permite a variação de condições de fermentação sólida. Foram montadas duas colunas de fermentação com o mesmo substrato (farelo de milho) e umidade relativa inicial do meio sólido igual a 80%. O fluxo de ar foi mantido em $12 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ em uma coluna e $36 \text{ ml}/\text{minuto}$ na outra. Ambas as colunas foram inoculadas com o microrganismo *A. niger* da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ. Na Figura 3 observa-se o comportamento da produção de

CO₂ devido à respiração dos microrganismos, sendo a curva 1 a resposta na saída da coluna que foi alimentada com fluxo de 12 ml.min⁻¹, e a curva 2, a resposta na saída da coluna que recebeu um fluxo constante igual e 36 ml/minuto na outra. Ambas as colunas foram inoculadas com o microrganismo *A. niger* da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ. Na Figura 3 observa-se o comportamento da produção de CO₂ devido à respiração dos microrganismos, sendo a curva 1 a resposta na saída da coluna que foi alimentada com fluxo de 12 ml.min⁻¹, e a curva 2, a resposta na saída da coluna que recebeu um fluxo constante igual a 36 ml.min⁻¹. Vê-se que devido ao aumento da atividade biológica no meio de fermentação, a concentração de CO₂ expelida com o ar na saída de cada coluna varia de um valor muito baixo, próximo de zero por cento, vai crescendo ao longo do tempo, e depois de uma inflexão começa a decrescer até que a atividade biológica cesse devido à falta de condições de crescimento, por exemplo, por falta de nutrientes. Esta condição, próxima do zero por cento de concentração não está sendo mostrada nas curvas. Entretanto, ainda deve ser extraído o conteúdo de enzimas excretadas no meio e verificar se as enzimas de interesse, no caso, as que promovem a hidrólise da Celulose, são mais produzidas em qual situação. Assim, mediu-se a atividade da Endoglucanase, chegando-se aos valores de 66,48 U/g, no caso da curva 1, e 54,20 U/g, no caso da curva 2.

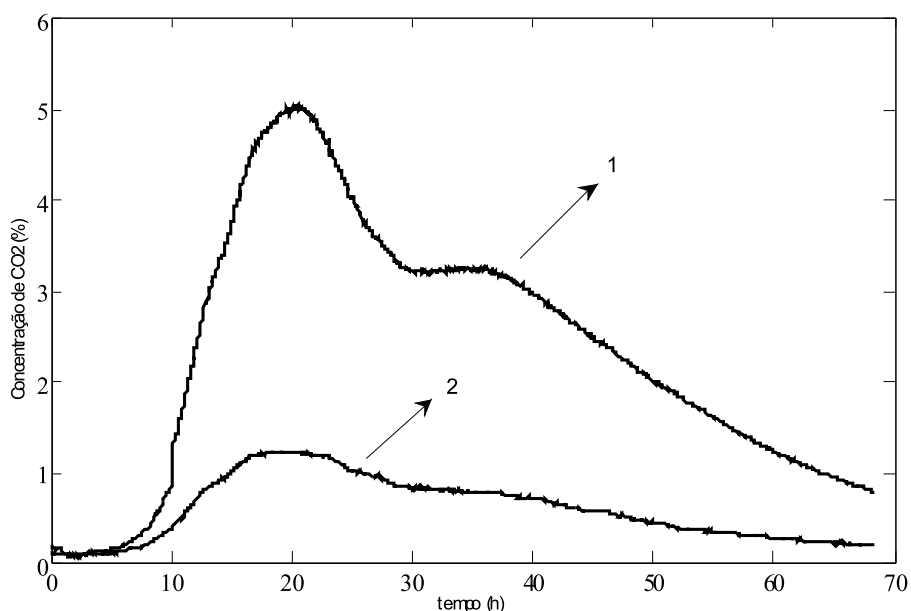


Figura 3 – Respostas de concentração de CO₂. Curva 1: taxa de fluxo de ar de 12 ml.min⁻¹. Curva 2: taxa de fluxo de ar de 36 ml.min⁻¹. Ambos experimentos foram iniciados com umidade relativa inicial do substrato igual a 80% e mantidos alimentados com umidade relativa do ar igual a 60% durante a fermentação.

Conclusões

Neste trabalho, foi mostrado que o desenvolvimento de um sistema automático de controle de variáveis e parâmetros que permitem a um operador escolher patamares de atuação para o fluxo de ar que alimenta um reator de fermentação sólida pode auxiliar na compreensão de um PFS. A instrumentação usada no sistema pode ser expandida em mais canais de medida e atuação, ou controle, de forma a realizar vários processos simultâneos, inclusive a determinação do crescimento cinético em diferentes condições.

Agradecimentos

CNPq, FINEP, e EMBRAPA

Referências

- BELLON-MAUREL, V.; ORLIAC, O.; CHRISTEN, P. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. **Process Biochemistry**, London, v. 38, p. 881-896, 2003.
- CANNEL, E.; MOO-YOUNG, M. Solid-State systems. **Process Biochemistry**, London, v. 15, p. 2-7, 1980.
- FARINAS, C. S.; SCARPELINI, L. M.; MIRANDA, E. A.; BERTUCCI NETO, V.; COURI, S. Evaluation of operational parameters on the precipitation of endoglucanase and xylanase produced by solid state fermentation of *Aspergillus niger*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, [201-]. In press.
- RAHARDJO, Y. S. P.; TRAMPER, J.; RINZEMA, A. Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives. **Biotechnology Advances**, New York, v. 24, p. 161-179, 2006.