

## DESEMPENHO DO REATOR CONTÍNUO NA FERMENTAÇÃO ACÉTICA

**Siumara Rodrigues Alcântara<sup>1</sup> e Ramdayal Swarnakar<sup>2</sup>**

1 - Bolsista PIBIC/CNPq/UFCG, Rua José do Precipício, 428, Bodocongó, CEP 58109-543, Campina Grande - PB, e-mail: syu\_ra@ig.com.br

2 - Professor Orientador, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Departamento de Engenharia Química/CCT, Av. Aprígio Veloso, 882, CEP 58109-970, Campina Grande - PB, e-mail: swarna@deq.ufpb.br

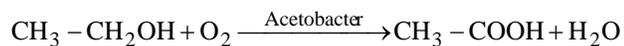
**Palavras-chave:** *Fermentação Acética, Reator contínuo, Metodologia de Superfície de Resposta, Análise de Variância.*

**Área do Conhecimento:** *III Engenharias*

Resumo: A fermentação acética consiste na oxidação do álcool etílico em ácido acético, pela atuação de bactérias acéticas do gênero *Acetobacter*. O ácido acético produzido por tais bactérias é o composto principal do vinagre. O processo contínuo constitui um dos campos da Biotecnologia pouco explorado. Este trabalho estuda a influência das variáveis do processo, taxa de diluição e concentração alcoólica, sobre a eficiência do reator contínuo na produção de vinagre, em escala bancada. Utilizou-se o Planejamento Experimental Fatorial de dois níveis com duas repetições no ponto central. Os níveis utilizados foram 2, 4 e 6% em volume para a concentração alcoólica e 0,42, 0,60 e 0,78 h<sup>-1</sup> para a taxa de diluição. A Análise de Variância (ANOVA) do modelo linear da Superfície de Resposta mostrou a existência da influência das variáveis de entrada sobre o rendimento (resposta), além de mostrar uma boa concordância entre o modelo proposto e os dados experimentais. Foi observado que este modelo é significativo e preditivo para 75% de confiança.

### INTRODUÇÃO

O termo "fermentação", no sentido mais amplo possível, pode ser definido como todo processo no qual microorganismos catalisam a conversão de uma dada substância em determinado produto (BORZANI et al., 1986). Logo, a fermentação acética é o processo no qual as bactérias do gênero *Acetobacter* catalisam a conversão de álcool etílico e oxigênio do ar em ácido acético diluído em água (vinagre).



A metodologia de superfície de resposta (ou RSM, "Response Surface Methodology") é uma técnica de otimização baseada no emprego de Planejamentos Fatoriais, introduzida por G. E. P. Box, na década de 50, e que desde então tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos industriais (BARROS NETO et al, 1995; DEY, G. et al, 2001 e FRANCIS, F. et al, 2003.)

Para determinar se há influência de determinadas variáveis de entrada sobre outras variáveis (respostas) de um sistema é utilizado o Planejamento Experimental Fatorial. Logo, quando se deseja verificar se 2 fatores têm influência sobre

determinadas respostas do sistema, utiliza-se o Planejamento Experimental de dois níveis.

A partir daí, deve-se especificar os níveis em que estes fatores serão estudados. Costuma-se identificar os níveis como superior (+), inferior (-) e ponto central (0), que nada mais é que a média aritmética dos níveis inferior e superior. Na execução de tais experimentos é feita a combinação de todos os níveis de fatores. A listagem dessas combinações de níveis é chamada de matriz de planejamento.

Para a realização da análise estatística do Planejamento Experimental Fatorial de dois níveis, o primeiro passo é propor um modelo que seja indicado para representar os dados experimentais.

O procedimento usual de avaliação do desempenho de um modelo começa pela análise dos desvios das observações em relação à média global (BARROS NETO et al., 1995). A análise desses desvios é chamada de Análise de Variância.

Através da Análise da Variância podemos testar se a equação de regressão é estatisticamente significativa utilizando cálculos feitos com as médias quadráticas. A razão entre as médias quadráticas devido à regressão e a residual segue uma distribuição F. Se verificarmos que o valor calculado de F é maior que o valor de F tabelado tem-se evidências estatísticas suficiente para

acreditar na existência de uma relação entre as respostas do problema e as variáveis de entrada. Pode acontecer, porém, que uma regressão embora significativa do ponto de vista do teste F, não seja útil para realizar previsões, por cobrir uma pequena faixa de variação dos fatores em estudo. Box e Wetz et al. (1973) sugerem que para que uma regressão seja não apenas significativa, mas também útil para fins preditivos, o valor do F calculado deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes o valor do F tabelado.

JUN-ICHI HORIUCHI et al., (2000) confeccionaram um bioreator usando pedaços de carvão vegetal produzido de sobras de cogumelo por carbonização térmica para a produção contínua de ácido acético. Foi observado que, no estado estacionário, para os valores de taxa de diluição baixa quase todo o etanol foi transformado em ácido acético. Com o aumento da taxa de diluição a concentração do etanol residual aumentou. Foi observado, também, que alta concentração de O<sub>2</sub> inibiu o crescimento das bactérias resultando em operação não estável do bioreator.

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de um reator contínuo na fermentação acética tendo como substrato o álcool etílico. A fermentação foi realizada à temperatura ambiente e na escala bancada. Foi usado o Planejamento Experimental Fatorial de dois níveis, tendo como variáveis de entrada a taxa de diluição da solução reacional e a concentração inicial de substrato (álcool) alimentada, e assim, analisou-se seus efeitos sobre a variável dependente rendimento.

## METODOLOGIA

Utilizou-se como matéria-prima para a fermentação do álcool etílico, o bagaço de cana-de-açúcar. Para a condução e processamento da oxidação acética foram utilizadas bactérias acéticas presentes no próprio bagaço, que foram selecionadas de forma espontânea em função das condições de acidez do meio em que são mantidas.

A Figura 01 mostra a foto do sistema do processo contínuo para a fermentação acética.



Figura 01 – Foto do Sistema do Processo Contínuo para a Fermentação Acética. Da Esquerda para a Direita, temos: Solução alcoólica, Bomba Peristáltica, Reator Contínuo Solução de Vinagre e Bomba de Ar.

O reator contínuo utilizado foi confeccionado a partir de uma piceta de plástico com capacidade para 150 ml de solução e volume de bagaço de cana-de-açúcar igual à 150g. A esse sistema foi acoplado uma bomba peristáltica com vazão da alimentação controlada e uma bomba de ar para circulação interna do mesmo.

Foi utilizado o método volumétrico por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) na presença do indicador fenolftaleína para a determinação da concentração de ácido acético formado (acidez). Para calcular a acidez foi utilizada a equação abaixo:

$$\text{Acidez}(\%) = \frac{N_B \cdot V_B \cdot M_{eq} \cdot 100}{V_A} \text{ (g/100ml)}$$

onde:

$N_B$  é a normalidade da base;

$V_B$  é o volume gasto da base na titulação;

$M_{eq}$  é o miliequivalente-grama da base (0,06 para o NaOH);

$V_A$  é o volume da amostra de vinagre.

O rendimento (R) do processo foi calculado a partir da equação abaixo:

$$R(\%) = \frac{\text{AcidezExperimental}}{\text{AcidezMáximaTeórica}} \times 100$$

Para determinar a influência das variáveis no processo contínuo da fermentação acética, foi realizado o Planejamento Experimental Fatorial de dois níveis, tendo como variáveis de entrada (independentes) a concentração alcoólica inicial ( $C_{al}$ ) e a taxa de diluição (D) e como resposta (variável dependente) o rendimento (R) do processo. Foram escolhidos os níveis inferior (-1), superior (+1) e ponto central (0), para a realização dos ensaios, como descrito na Tabela 01. A

combinação dos níveis foi feita seguindo a matriz de planejamento da Tabela 02. Foram realizados 6 ensaios, sendo 2 repetições no ponto central.

Tabela 01 – Níveis das Variáveis do Planejamento Fatorial 2<sup>2</sup>

Variáveis	Nível (-1)	Ponto Central (0)	Nível (+1)
Concentração Inicial de álcool (% em volume)	2	4	6
Taxa de Diluição (h <sup>-1</sup> )	0,42	0,60	0,78

Tabela 02 – Matriz do Planejamento Fatorial 2<sup>2</sup> + 3 Experimentos no Ponto Central

Ensaio	C <sub>al</sub> codificada	D codificada
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0

A partir dos dados coletados, foi construída a Superfície de Resposta utilizando o programa Statistica versão 5.0. Utilizou-se, também, este programa para compor a tabela da análise de variância, assim como a obtenção do modelo proposto.

## RESULTADOS

Com a execução do planejamento experimental obteve-se os resultados como mostra a Tabela 03. Os números entre parênteses, na coluna de ensaios, representam a ordem de realização dos mesmos. Com os valores finais da acidez, foram calculados os rendimentos (R) do processo.

Tabela 03 - Resultados Obtidos do Planejamento Experimental 2<sup>2</sup>

Ensaio	C <sub>al</sub> codificada	D codificada	R (%)
1 (1°)	-1	-1	4,9
2 (3°)	+1	-1	1,7
3 (4°)	-1	+1	1,5
4 (6°)	+1	+1	0,5
5 (2°)	0	0	2,4
6 (5°)	0	0	2,4

Ao analisar a superfície de resposta (Figura 02), observa-se que o rendimento é influenciado pela taxa de diluição e pela concentração alcoólica do processo. O rendimento máximo, de aproximadamente 5%, foi alcançado quando a concentração alcoólica foi igual à 2% (nível inferior) e a taxa de diluição foi igual à 0,42 h<sup>-1</sup> (nível inferior).

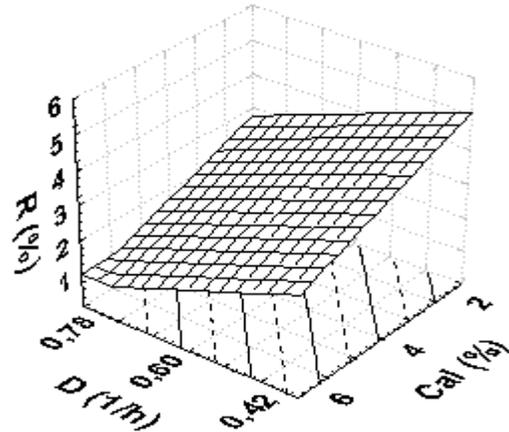


Figura 02 - Superfície de Resposta do Rendimento versus Concentração Alcoólica e Taxa de Diluição

Para valores próximos à 0,78 h<sup>-1</sup> (nível superior) e 6% (nível superior), o rendimento torna-se constante e assume o valor mínimo de 0,5%. O modelo linear proposto para o rendimento está descrito abaixo:

$$R = 2,233 - 1,150D - 1,05C_{al} \quad [1.0]$$

A partir deste modelo foi construída a tabela de Análise de Variância (ANOVA).

Tabela 04 - Análise de Variância para o Ajuste do Modelo Linear.

% variância explicada	88,26%
Coefficiente de correlação	0,94
Teste F (calculado)	11,25
F tabelado p/ 75% de confiança	2,28
F calculado/ F tabelado	4,93

A Tabela 04 mostra, através do coeficiente de correlação para o rendimento, que a curva da superfície de resposta da Figura 02 se ajusta de forma que quase não há resíduos, logo, toda a variação em torno da média é explicada pela regressão. Ao se observar a razão entre o F calculado e o F tabelado, para o rendimento, têm-se que, para 75% de confiança, o modelo (equação

[1.0]) é significativo e preditivo em relação aos dados experimentais. Com tudo, o fato do valor de F calculado, para o rendimento, ser muito maior que o valor de F tabelado confirma que existe relação entre o rendimento (R), a taxa de diluição (D) e a concentração alcóolica ( $C_{al}$ ).

A Figura 03 compara os valores previstos pelo modelo e os valores observados. Assim, confirma-se que o rendimento do processo esta bem representado pelo modelo da equação [1.0].

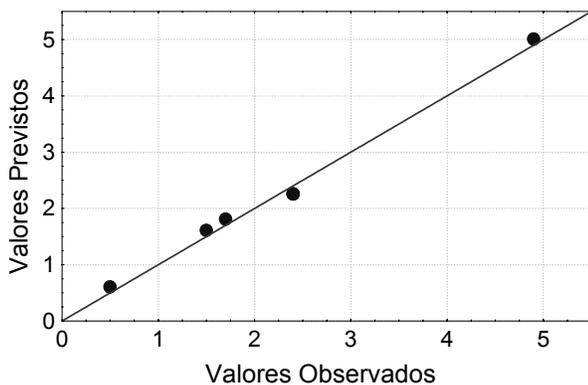


Figura 03 - Valores Observado em Função dos Valores Previstos do Modelo Linear para o Rendimento

## CONCLUSÃO

A taxa de diluição e a concentração alcóolica influenciam o rendimento no processo contínuo da fermentação acética. O rendimento do processo foi maximizado nos níveis inferiores para a concentração alcóolica (2%) e para a taxa de diluição ( $0,42 \text{ h}^{-1}$ ). Foi verificado que com a diminuição da concentração alcóolica e da taxa de diluição o rendimento do processo aumentou de 0,5% para 4,9%. A equação de regressão se ajusta aos dados experimentais de forma que toda a variação em torno da média é explicada pela regressão, ou seja, quase não há variação entre os valores experimentais e os valores previstos pelo modelo. O teste F, com 75% de confiança, para o modelo mostrou que este é significativo e preditivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS NETO, B; SCARMINIO, J. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e Otimização de Experimentos. Editora da UNICAMP, Campinas, 1995.  
BORZANI, W.; AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U. Engenharia Bioquímica. São Paulo, vol. 3, 1986.

BOX, G. E. P.; WILSON, K. B.; On the experimental attainment of optimum condition. J. Royal Stat, vol. 13, 1951.

BOX, G. E. P. E WELTZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by na approximate response function. University of Wisconsin Technical Report. 9, 1973.

DEY, G.; MITRA, A.; BANERJEE, R.; MAITI, B. R. Enhanced production of amylase by optimization of nutritional constituents using response surface methodology. Biochemical Engineering Journal, v.7, p.227 - 231, 2001.

FRANCIS, F.; SABU, A.; NAMPOOTHIRI, K. M.; RAMCHANDRAN, S.; GHOSH, S.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Use of response surface methodology for optimizing parameters of  $\alpha$ - amylase by *Aspergillus oryzae*. Biochemical Engineering Journal, v. 15, p.107 - 115, 2003.

JUN-ICHI HOUICHI, KOUJI TABATA, TOHRU KANNO AND MASAYOSHI KOBAYASHI, Continuous Acetic Acid Production by a Packed Bed Bioreactor Employing Charcoal Pellets from Waste Mushroom Medium, Journal of Bioscience and Bioengineering, V. 89(2), 2000, pág. 126-130.