

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

IZABELLE MATTOS DE ALMEIDA

**PROJETO DE DIMENSIONAMENTO DE BIORREATOR EM ESCALA PILOTO
PARA PRODUÇÃO DE *Bradyrhizobium sp.***

PONTA GROSSA

2022

IZABELLE MATTOS DE ALMEIDA

**PROJETO DE DIMENSIONAMENTO DE BIORREATOR EM ESCALA PILOTO
PARA PRODUÇÃO DE *Bradyrhizobium sp.***

**Project for dimensioning a bioreactor on a pilot scale for the production of
*Bradyrhizobium sp.***

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Profa. Dra. Sabrina Avila Rodrigues.

Coorientador(a): Dr. Eduardo Bittencourt Sydney.

PONTA GROSSA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

IZABELLE MATTOS DE ALMEIDA

**PROJETO DE DIMENSIONAMENTO DE BIORREATOR EM ESCALA PILOTO
PARA PRODUÇÃO DE *Bradyrhizobium sp.***

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 18/ Novembro/2022

Prof. Safi Amaro Monteiro
Doutora
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

Prof. Aline de Cassia Campos Pena
Mestre das ciências
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

Prof. Sabrina Ávila Rodrigues
Doutora
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná

PONTA GROSSA

2022

Dedico este trabalho ao meu noivo Stefano Bianchi e a minha mãe Gislaine de Mattos, os quais estiveram ao meu lado durante toda minha trajetória acadêmica, auxiliando-me física e emocionalmente. Dedico também a todos colegas e professores que fizeram parte dessa fase tão importante e especial da minha vida.

RESUMO

Os inoculantes, produtos biotecnológicos formados por um *pool* de bactérias benéficas, vem impactando positivamente a produtividade e a sustentabilidade nas lavouras. Dentre os inoculantes, destacam-se os que contém bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo as mais conhecidas e aplicadas as do gênero *Bradyrhizobium sp.* Essas bactérias estabelecem uma relação simbiótica com as raízes de leguminosas, melhorando a absorção de água e nutrientes e aumentando a capacidade da planta de suportar estresses ambientais. Os inoculantes são produzidos em biorreatores aerados e agitados mecanicamente. Os biorreatores são sistemas desenvolvidos para favorecer o crescimento celular através da homogeneização do meio de cultura com as células, mantendo a integridade física e metabólica do microrganismo. O grande crescimento do mercado de inoculantes e a complexidade do seu processo produtivo, trazem à tona a necessidade do aprofundamento em pesquisa e desenvolvimento na área, a fim de gerar mais conhecimento sobre as etapas de ampliação de escala produtiva deste bioproduto. Sendo assim, o presente trabalho objetiva demonstrar os cálculos teóricos do *scale-up* da produção de *Bradyrhizobium sp.*, a fim alcançar condições ótimas de cultivo no biorreator piloto. A partir dos cálculos teóricos dos critérios de escalamento (Número de Reynolds – N_{re} ; Potência por unidade de volume – P/V ; Velocidade na extremidade do impelidor – V_{tip} ; Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio - KLa), concluí-se que o KLa é o critério mais adequado para realizar o aumento de escala. Ao manter o KLa constante ($KLa = 7,07E-03$) no biorreator piloto, os parâmetros de processo se mantiveram ótimos, corroborando com o fato de que o oxigênio dissolvido é um fator essencial para o crescimento do *Bradyrhizobium sp.* Além do mais, não haverá a necessidade da troca de motor, tornando o custo das modificações estruturais do tanque menor e facilitando a realização de teste práticos futuros.

Palavras-chave: Inoculantes; Biorreator; Scale-up; Critérios de escalonamento.

ABSTRACT

Inoculants, biotechnological products formed by a pool of beneficial bacteria, have been positively impacting productivity and sustainability in crops. Among the inoculants, those containing nitrogen-fixing bacteria stand out, being the best known and applied according to the genus *Bradyrhizobium* sp. These plants establish a symbiotic relationship with leguminous roots, improving water and nutrient absorption and increasing the plant's ability to withstand environmental stresses. The inoculants are produced in aerated and mechanically agitated bioreactors. Bioreactors are simultaneous systems to favor cell growth by homogenizing the culture medium with the cells, maintaining the physical and metabolic integrity of the microorganism. The great growth of the inoculant market and the complexity of its production process, bring to light the need to deepen research and development in the area, in order to generate more knowledge about the stages of preparation of a productive scale of this bioproduct. Therefore, the present objective work demonstrates the theoretical calculations of the scale-up of the production of *Bradyrhizobium* sp., in order to reach optimal conditions of cultivation in the pilot bioreactor. From the theoretical calculations of the scaling criteria (Reynolds Number – N_{re} ; Power per unit volume – P/V ; Velocity at the impeller end – V_{tip} ; Volumetric oxygen transfer coefficient - KLa), it was concluded that the KLa is the most suitable for scaling up. By keeping the KLa constant ($KLa = 7.07E-03$) in the pilot bioreactor, the process parameters remained optimal, corroborating the fact that preserved oxygen is an essential factor for the growth of *Bradyrhizobium* sp. Furthermore, there will be no need to change the engine, making the cost of tank modifications lower and facilitating future practical tests.

Keywords: Inoculants; Bioreactor; Scale-up; Escalation criteria.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação simplificada de um biorreator tipo STR	19
Figura 2 - Esquema de um biorreator padrão.	20
Figura 3 - Escalas de trabalho em biorreatores.	24
Figura 4 - Número de Reynolds x Número de potência.....	32
Figura 5 - Estrutura e malha de controle do tanque de mistura após alterações sugeridas	45
Fotografia 1 - Vista lateral do tanque; Vista lateral e superior da tampa.	26
Fotografia 2 - Tanque de mistura e motor.	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Meio de cultura em biorreator para <i>Bradyrhizobium sp.</i>	17
Tabela 2 - Condições gerais de cultivo de <i>Bradyrhizobium sp</i> em biorreator...	17
Tabela 3 - Relações geométricas utilizadas em biorreatores tipo STR.....	21
Tabela 4 - Dimensões e parâmetros fermentativos do biorreator de bancada. .	27
Tabela 5 - Relações geométricas do biorreator de bancada.....	27
Tabela 6 - Densidade e viscosidade dinâmica da água a 30 °C.....	30
Tabela 7 - Dimensões e parâmetros de processo do tanque em escala piloto .	35
Tabela 8 - Critérios e parâmetros de processo calculados para o biorreator de bancada.	36
Tabela 9 - Constância da Aeração (Q) e agitação (RPM).....	38
Tabela 10 - Constância do Número de Reynolds.....	39
Tabela 11 - Constância da potência por unidade de volume útil.....	40
Tabela 12 - Constância da velocidade na ponta do impelidor	42
Tabela 13 - Constância do KLa x Potência máxima do motor	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

STR	<i>Stirred-tank reactor</i> (Reator agitado mecanicamente)
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
KLa	Coefficiente volumétrico de transferência de oxigênio
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
Nre	Número de Reynolds
OTR	<i>Oxygen transfer rate</i> (Taxa de transferência de oxigênio)
OUR	<i>Oxygen uptake rate</i> (Taxa de consumo de oxigênio)
RPM	Rotações por minuto
RPS	Rotações por segundo
Tm	Tempo de mistura
UTFPR PG	Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Ponta Grossa
Vtip	Velocidade na ponta do impelidor
VVM	Volume de ar por volume de líquido

LISTA DE SIMBOLOS

N	Frequência de rotações
N_p	Número de potência
P	Potência
Q	Vazão volumétrica de ar
V	Volume
ρ	Densidade do líquido
μ	Viscosidade dinâmica do líquido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Inoculantes agrícolas.....	16
3.1.1	Produção de <i>Bradyrhizobium sp.</i>	16
3.2	Biorreatores aerados e mecanicamente agitados	18
3.2.1	Estrutura padrão.....	20
3.3	Ampliação de escala	23
4	METODOLOGIA	26
4.1	Dimensões e características dos biorreatores.....	26
4.1.1	Biorreator de bancada.....	26
4.1.2	Tanque de mistura	28
4.2	Cálculo dos critérios de escalonamento	29
4.2.1	Número de Reynolds (Nre).....	29
4.2.2	Potência por unidade de volume (P/V)	31
4.2.3	Velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip}).....	32
4.2.4	Tempo de mistura (T_m).....	32
4.2.5	Coefficiente volumétrico de transferência de oxigênio (KLa)	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	Dimensões e parâmetros de processos do tanque piloto.....	35
5.2	Análise dos critérios de escalonamento	36
5.2.1	Número de Reynolds (Nre).....	38
5.2.2	Potência por unidade de volume (P/V)	39
5.2.3	Velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip}).....	41
5.2.4	Tempo de Mistura (T_m).....	42
5.2.5	Coefficiente de transferência de oxigênio (KLa)	43
5.3	Sugestões de alterações estruturais no tanque	44
6	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

A aplicação da biotecnologia na agricultura, vem impactando positivamente a produtividade e a sustentabilidade nas lavouras. Os inoculantes agrícolas, produtos biotecnológicos formados por um *pool* de bactérias benéficas, ganharam destaque no setor agrícola brasileiro por auxiliarem no aumento na produtividade da lavoura, sem prejudicar a saúde humana e ambiental. Dentre os inoculantes agrícolas, destacam-se os que auxiliam na Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), processo simbiótico entre espécies de bactérias capazes de fixar o nitrogênio (N_2) e raízes de leguminosas, que gera um aumento na disponibilidade de nutrientes essenciais para a planta, auxiliando no crescimento e desenvolvimento vegetal.

A produção industrial de inoculantes com bactérias fixadoras de nitrogênio é geralmente realizada em biorreatores agitados e aerados com um volume útil entre 100 e 2000 litros. As formulações são comercializadas nas formas líquida e sólida, porém a mais utilizada é a líquida. O microrganismo comumente empregado na fermentação é o *Bradyrhizobium sp*, sendo este o mais aplicado em sementes de soja e feijão (SOUZA, 2011).

Biorreatores, ou reatores para processos biológicos, podem ser definidos como equipamentos complexos, que permitem a homogeneização do meio de cultura com as células, e apresenta um ambiente propício ao crescimento celular e à síntese do bioproduto de interesse (SCHMIDELL, 2021). Com relação ao tamanho, os biorreatores se dividem em três grupos principais: escala laboratorial, piloto e industrial. Para a maioria dos produtos biotecnológicos o processo produtivo só é comercialmente viável em fermentadores industriais, com volume útil entre 1 e 500 m³ (PALOMARES et al. 2009). A escala piloto é fundamental na transferência do processo da escala laboratorial para a escala industrial, pois nele é possível analisar como os parâmetros do processo fermentativo iram se comportar em volumes maiores, evitando riscos e prejuízos no processo (SCHMIDELL, 2021).

A ampliação de escala, também conhecida como *scale-up*, é uma etapa complexa, na qual objetiva transferir as condições ótimas obtidas em escala laboratorial para um biorreator de maior escala, considerando todos os aspectos que afetam a integridade da fermentação. Esses aspectos incluem fatores físicos (como taxas de transferência de oxigênio e tempo de mistura), bioquímicos (como

composições do meio e reologia) e de processo (como condições de pré-cultura e inóculo) (MAHDNIA *et al* 2019).

Percebe-se que o grande crescimento do mercado de inoculantes e a complexidade do seu processo produtivo, trazem à tona a necessidade do aprofundamento em pesquisa e desenvolvimento na área, a fim de gerar mais conhecimento sobre as etapas do processo, otimizar a produção e obter bons rendimentos e boa rentabilidade para a indústria.

Visando agregar valor e beneficiar as áreas de ensino, pesquisa e extensão do Laboratório de Fermentações da UTFPR-PG, o presente trabalho objetiva demonstrar todos os cálculos e recursos necessários para transformar um tanque de mistura em um biorreator piloto agitado mecanicamente, que seja capaz de proporcionar condições ótimas para produção de inoculantes microbianos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Projetar e dimensionar um biorreator agitado mecanicamente, a partir de um tanque em escala piloto, com os requisitos necessários para produção de *Bradyrhizobium sp.*, microrganismo utilizado como inoculante agrícola.

2.1.1 Objetivos específicos

- Estudar Informações sobre as condições de cultivo do *Bradyrhizobium sp.*;
- Estudar dimensões e parâmetros do biorreator bancada;
- Coletar dimensões e analisar a estrutura do tanque de mistura;
- Calcular os critério de escalonamento e parâmetros de processo;
- Comparar e selecionar o melhor critério de escalonamento;
- Propor projeto, incluindo instrumentos, equipamentos e malha de controle necessários para concretizar o projeto.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Inoculantes agrícolas

Inoculantes agrícolas ou biofertilizantes, são insumos biológicos com microrganismos que beneficiam o crescimento e desenvolvimento das plantas. Atualmente, os inoculantes têm grande importância para o setor agrícola mundial, pois auxiliam na diminuição dos problemas ambientais, na manutenção da fertilidade do solo e proporcionam um aumento significativo na produção de alimentos, impactando diretamente à alimentação humana e animal.

Os inoculantes são avaliados e registrados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e devido à grande relevância que apresenta para o setor agrícola, há grandes investimentos em pesquisa e desenvolvimento para entender os processos, além de buscar novas bactérias e genes que possam ampliar o manejo (MEYER, et al. 2022).

O mercado brasileiro de inoculantes é muito promissor e está crescendo ano após ano. Com mais de 75 milhões de doses, representando 85% da área produtiva de soja, o mercado brasileiro total de inoculantes na safra 2020/21 superou 390 milhões de reais, um crescimento de 37% em comparação com a safra 2019/20 (Valor Econômico, 2021) e cerca de 97% do total de inoculantes utilizados no Brasil são produzidos nacionalmente, os demais 3% são importados predominantemente da Argentina e Uruguai (MEYER, et al. 2022).

3.1.1 Produção de *Bradyrhizobium sp.*

Dentre os inoculantes, destacam-se os que contém bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo as mais conhecidas e aplicadas as do gênero *Bradyrhizobium*. São bactérias aeróbicas, Gram-negativas, encontradas naturalmente no solo, podendo ser obtidas através de isolamento em meio de cultivo, e caracterizam-se por capturar o nitrogênio atmosférico e posteriormente disponibilizar em formas assimiláveis pelas plantas (SANTOS, 2022; LIMA, 2001).

Devido ao processo de fixação biológica do nitrogênio, ocorre uma associação simbiótica entre essas bactérias e as raízes de leguminosas (soja, feijão, ervilha, entre outras), que resulta na melhor absorção de água e nutrientes, aumentando assim a capacidade da planta de produzir e suportar estresses ambientais (MEYER, 2022). Uma das principais e mais utilizadas formas de aplicação é por meio da inoculação da

soja, podendo ser realizada de diferentes formas, via tratamento de sementes (mais comumente utilizada) ou por via foliar (SANTOS, 2022).

Quando produzidas em escala industrial, geralmente são multiplicadas em biorreatores aerados e agitados mecanicamente com volume útil de 100 a 2000 litros, em regime descontínuo (batelada). Apresentam crescimento lento e produzem uma reação básica, promovendo um aumento do pH no meio de cultura (LIMA, 2001). A tabela 1 mostra um meio de cultura funcional, utilizado em fermentador para *Bradyrhizobium*.

Tabela 1 - Meio de cultura em biorreator para *Bradyrhizobium sp.*

Componente	Concentração
Sacarose	10 g/l
Extrato de Levedura	2 g/l
Glutamato monossódico	2 g/l
Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	0,75 g/l
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	0,6 g/l
Cloreto de sódio (NaCl)	0,1 g/l
Sulfato de magnésio hepta hidratado (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0,2 g/l
Cloreto de ferro (II) (FeCl ₂ . 6H ₂ O) a 10%	0,1 ml/l
Sulfato de magnésio (MnSO ₄ . 4H ₂ O) a 10%	0,1 ml/l

Fonte: Adaptado de Lima (2001).

As condições de cultivo no biorreator podem variar de acordo com a linhagem e características de cada microrganismo. Os principais parâmetros que devem ser monitorados para o cultivo de *Bradyrhizobium sp.*, são apresentados na tabela 2. Manter esses parâmetros no intervalo ideal de cultivo, otimiza o rendimento e diminui o risco de prejuízos durante o processo fermentativo.

Tabela 2 - Condições gerais de cultivo de *Bradyrhizobium sp* em biorreator.

Parâmetro	Intervalo ideal de cultivo	Ref.
pH	6-7	(LIMA, 2001)
Temperatura	28 °C – 30 °C	(LIMA, 2001)

Tabela 2 - Condições gerais de cultivo de *Bradyrhizobium sp* em biorreator (Conclusão)

Parâmetro	Intervalo ideal de cultivo	Ref.
K _{la} (Coeficiente volumétrico de transferência de O ₂)	18 - 35 h ⁻¹	(LIMA, 2001)
Agitação	200 – 300 rpm	(CAMPOS, 2021)

Fonte: Autoria própria (2022).

3.2 Biorreatores aerados e mecanicamente agitados

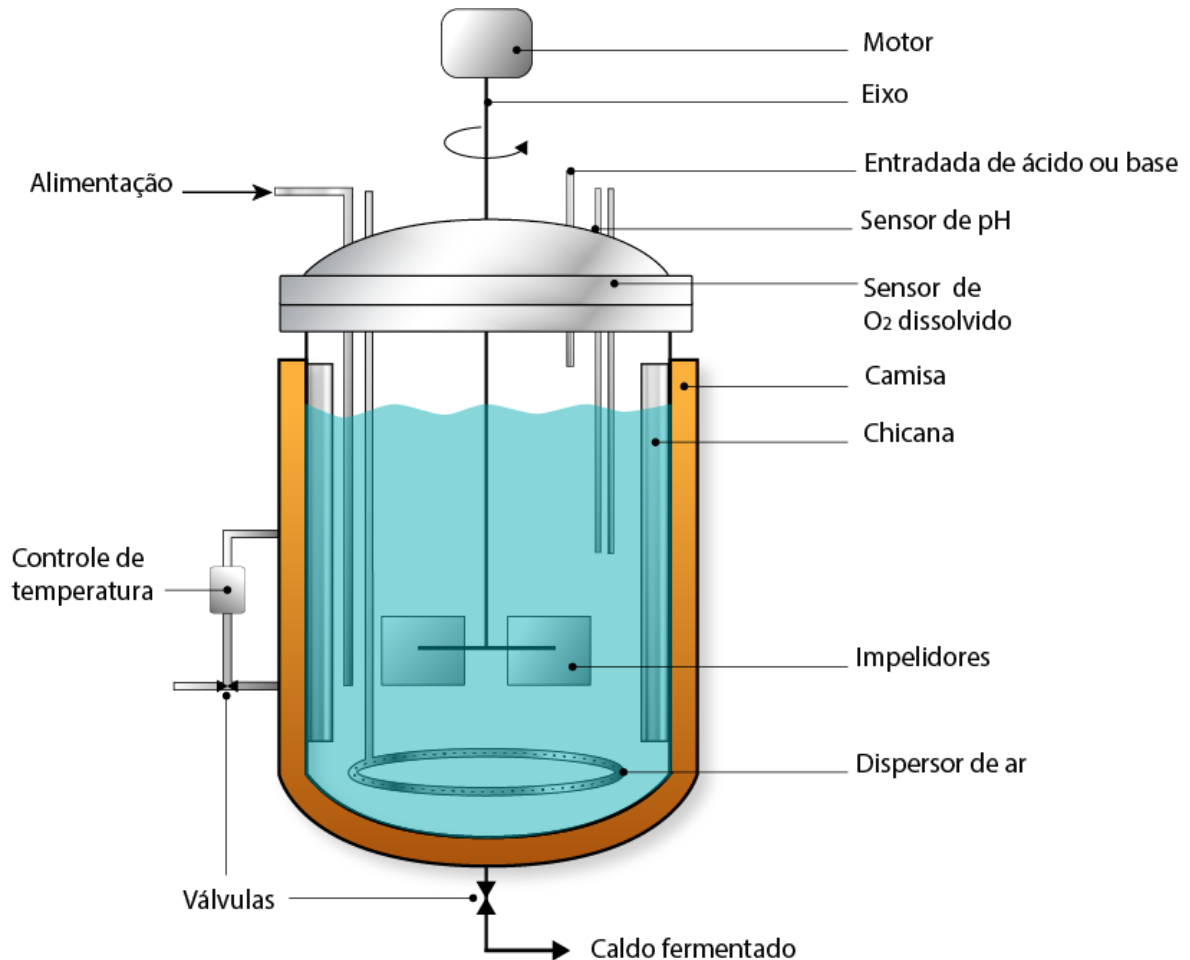
Biorreatores, também denominados de “reatores biológicos”, são sistemas desenvolvidos para favorecer o crescimento celular e devem possuir um ambiente que permite a homogeneização do meio de cultura com as células, mantendo a integridade física e metabólica do microrganismo; um sistema eficiente de controle das variáveis de processo como temperatura, pH e oxigênio dissolvido; terem a capacidade de serem esterilizados e manter a esterilidade do meio por um longo período de tempo, além de satisfazer as exigências legislativas de contenção ambiental (SCHIMIDELL, W., 2021).

Dentre os diferentes tipos, destacam-se os biorreatores mecanicamente agitados e aerados, também conhecidos como *stirred-tank reactor* (STR), por serem os mais difundidos e utilizados, tanto em escala laboratorial quanto industrial. Trata-se de um tanque cilíndrico vertical de aço inox ou vidro, onde o meio é agitado pela ação de impelidores fixados num eixo central, os quais são rotacionados por um motor acoplado ao eixo. Geralmente são equipados com um sistema para controle de temperatura (camisa ou serpentinas); chicanas (*baffles*) verticais na parede do reator para evitar a formação de vórtices, aeradores, além de outros acessórios que promovem os controles necessários ao bioprocessamento (SCHIMIDELL, 2021). A agitação mecânica favorece a homogeneização, suspensão de sólidos, dispersão de gases, aeração e transferência de calor e massa dentro do reator.

Ao projetar um biorreator, manter a esterilidade do tanque é um ponto crucial. A esterilização geralmente é feita com vapor pressurizado em todo interior do reator, vedações, sondas e válvulas. O número de aberturas no fermentador deve ser limitado apenas para uso de sondas que melhoram o controle dos parâmetros de processo, ou seja, quanto menos aberturas no tanque, menor a chance de contaminação. Para a maioria dos produtos de interesse comercial, a esterilidade absoluta é necessária, e

a contaminação pode causar a perda de produto, tempo e dinheiro (SHULER et al. 2017).

Figura 1 - Representação simplificada de um biorreator tipo STR



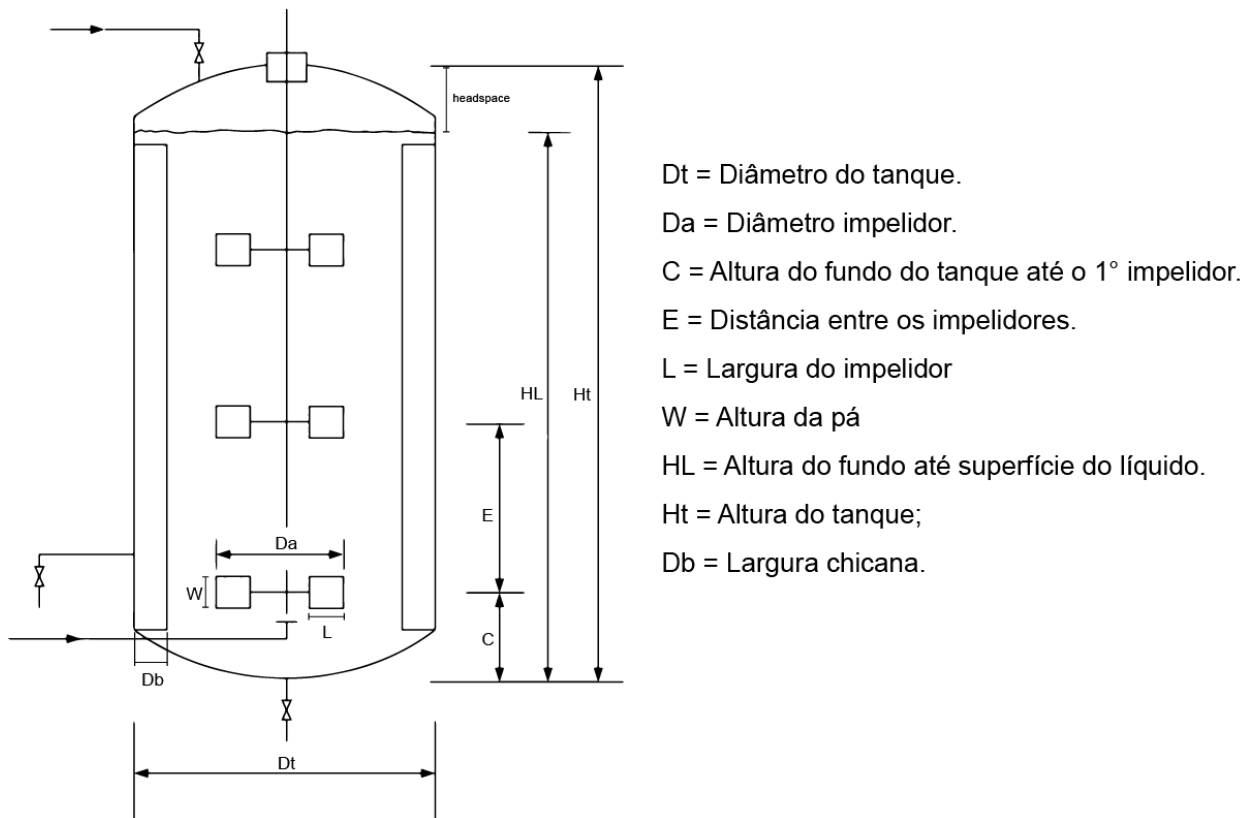
Fonte: Autoria própria (2022).

Há três formas principais de operar biorreatores STR: descontínuo ou batelada, que é a forma mais usual em bioprocessos e caracteriza-se por não haver entrada de substrato ou saída de caldo fermentado até o fim do processo fermentativo, facilitando a operação e estanqueidade do tanque; contínuo alimentado ou batelada alimentada, tem como característica a adição de nutrientes ao longo do cultivo, sem que haja retirada de meio, apresentando assim um aumento gradativo do volume no interior de tanque; sistema contínuo, o qual caracteriza-se pela entrada contínua de meio de cultura e saída do caldo fermentado, ambos na mesma vazão, mantendo assim o volume do biorreator constante (SCHIMIDELL, 2021).

3.2.1 Estrutura padrão

Ao elaborar um projeto de biorreator, uma série de parâmetros devem ser consideradas para que as funções essenciais do tanque sejam satisfeitas. Conforme a figura 2, a estrutura de reatores tipo *STR* comumente seguem um padrão geométrico que objetiva otimizar os parâmetros físicos e químicos no processo fermentativo, além de ser crucial para realizar um escalonamento eficiente.

Figura 2 - Esquema de um biorreator padrão.



Fonte: Adaptado Schmidell (2021).

É importante salientar que muitos biorreatores utilizados industrialmente não seguem exatamente esse padrão geométrico e mesmo assim apresentam produtividade satisfatória, ou seja, esse padrão não é obrigatório em tanques mecanicamente agitados. Porém, o biorreator com estrutura padrão fornece uma gama de vantagens, sendo a principal de tornar o escalonamento um processo matematicamente previsível, possibilitando prever o comportamento dos parâmetros fermentativos no tanque de maior volume ao realizar o *scale-up*. Com base nas principais relações geométricas da literatura, mostra-se na tabela 3 as medidas

padrões mais utilizadas em biorreatores *STR*, as quais podem apresentar pequenas variações em função da demanda de cada cultivo.

Tabela 3 - Relações geométricas utilizadas em biorreatores tipo STR

Relação Geométrica	Razão	Medida
Altura do líquido / Altura total do tanque	HL/ Ht	0,7 - 0,8
Altura total do tanque / Diâmetro do tanque	Ht/ Dt	1 - 2
Diâmetro do impelidor / Diâmetro do tanque	Da/ Dt	0,25 - 0,5
Diâmetro da chicana / Diâmetro do tanque	Db/ Dt	0,08 - 0,1
Altura do fundo do tanque até o primeiro impelidor / Diâmetro do impelidor	C/ Da	1
Altura do impelidor / Diâmetro do impelidor	W/ Da	0,2
Largura do impelidor / Diâmetro do impelidor	L/ Da	0,25

Fonte: Autoria própria (2022).

3.2.1.1 Impelidores

Os agitadores, conhecidos também como turbinas, impelidores ou pás, são peças fundamentais nos biorreatores mecanicamente agitados pois interferem diretamente no bom andamento de processos fermentativos aerados (BUFFO et al., 2015). As principais funções dos impelidores são: homogeneização do meio, mistura das fases gasosa e aquosa e a fragmentação das bolhas de ar para intensificar a turbulência do meio líquido e suspensão de sólidos (SCHIMIDELL, 2021). Além das funções primárias, os impelidores também influenciam diretamente outros parâmetros fermentativos, como o consumo de potência, a transferência de oxigênio e a taxa de cisalhamento.

Sendo assim, antes de determinar a geometria do impelidor para um bioprocessos, é de suma importância obter informações precisas sobre as propriedades do fluido (newtoniano ou não newtoniano), condições do processo e peculiaridades das células vivas em questão (BUFFO et al., 2015).

Devido à grande diversidade de processos biotecnológicos, surgiu a necessidade de projetar diferentes tipos de impelidores para diferentes aplicações. São classificados de acordo com:

- a. Padrão de escoamento, que dependendo da geometria das lâminas a mistura apresenta diferentes comportamentos, sendo esses: radial, axial ou uma combinação de ambas orientações, quando utilizado mais de um tipo de impelidor no mesmo eixo.
- b. Regime de mistura, que pode ser laminar (número de Reynolds $<10^4$) ou turbulento (número de Reynolds $>10^4$). Em bioprocessos é necessário que o regime seja turbulento para uma transferência de massa e homogeneização mais eficientes.

Experimentos realizados em biorreatores agitados, demonstram que utilizar diferentes tipos de impelidores com diferentes geometrias no mesmo reator, melhora o desempenho do sistema em termos do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_La), tempo de mistura, retenção gasosa e consumo de potência em cultivos (CATALINA et al., 2013).

3.2.1.2 Chicanas

Também chamada de quebra-vórtice ou pelo termo em inglês *baffles*, as chicanas são essenciais em biorreatores *STR*. Evitam a formação de vórtice e melhoram a homogeneidade, aumentam a turbulência e otimizam a transferência de oxigênio do meio. Usualmente utiliza-se quatro chicanas dentro do reator, as quais apresentam largura de 10% do diâmetro do tanque, fixadas de 1 cm a 2 cm do corpo do reator, evitando assim a formação de zonas de estagnação (SCHMIDELL, 2021).

3.2.1.3 Difusor de ar

Os difusores ou dispersores de ar são responsáveis por suprir a demanda de ar dentro do biorreator. Os mais comuns encontrados são os de tubo simples com formato em L, ou um anel de distribuição inserido abaixo do último impelidor do eixo, sendo este o mais aplicado na indústria. Cada tipo de dispersor apresenta vantagens e desvantagens de aplicação, cabe ao projetista analisar qual melhor modelo que se adapta ao cultivo no biorreator (SCHMIDELL, 2021).

O gás sob pressão é fornecido ao difusor com auxílio de um compressor e sistema de filtragem do ar, para manter a estanqueidade do tanque. O tamanho das bolhas de gás e a dispersão ao longo do tanque são críticos para o desempenho do processo. Embora o anel de distribuição forneça inicialmente bolhas menores,

difusores com um único ponto de saída são frequentemente preferidos para meios com altos níveis de sólidos suspensos porque são mais resistentes ao entupimento. Juntamente com o difusor, os impelidores também tem a função de dispersar as bolhas maiores em bolhas menores, fazendo com que o gás permaneça por mais tempo no caldo, induzindo uma melhor taxa de oxigênio dissolvido no processo. Em processos aerados o oxigênio é um substrato chave e a concentração de oxigênio dissolvido no líquido depende da taxa de transferência de oxigênio (OTR) e da taxa absorção de oxigênio (OUR) pelo microrganismo (GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E., 2009).

3.2.1.4 Camisa e serpentina

Tem finalidade de controlar a temperatura no interior do tanque, seja retirando ou inserindo calor no sistema. A camisa, geralmente fica ao redor do tanque, está sendo cada vez menos empregadas em biorreatores pois apresentam ineficiência na transferência de calor devido a irregularidade na passagem de vapor ou água. Já as serpentinas, por estarem dentro do tanque, apresentam uma melhor troca térmica devido à maior área de superfície para transferência de calor. No entanto, em muitos sistemas, as serpentinas tornam-se contaminadas pelo crescimento microbiano, diminuindo a transferência de calor e muitas vezes afetando adversamente a mistura, além de diminuir o volume útil do tanque, aumentar a dificuldade de limpeza e atrapalhar o processo de homogeneidade do caldo. Nesses casos, o tanque encamisado oferece mais vantagens (SCHMIDELL, 2021; SHULER et al. 2017).

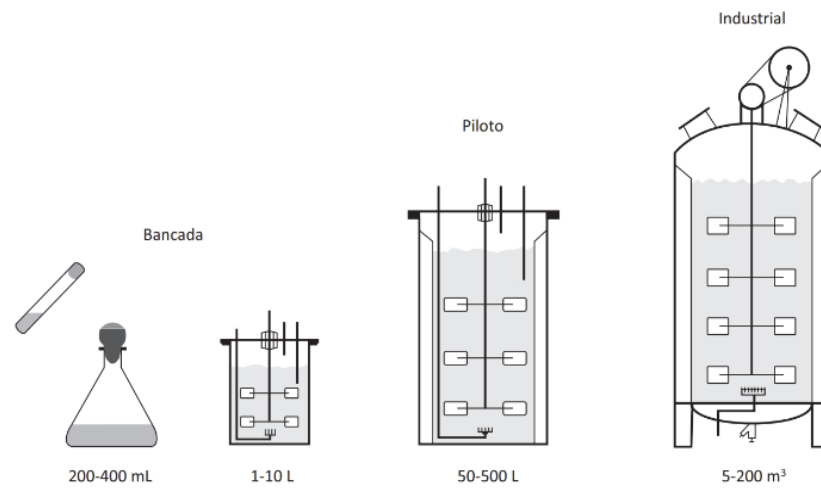
3.3 Ampliação de escala

O processo de *scale-up* baseia-se nas principais escalas de trabalho dos biorreatores:

- Bancada ou laboratorial, envolve o *screening* de microrganismos, a obtenção de dados cinéticos e a otimização dos meios e condições de cultivo para atingir o desempenho adequado do ponto de vista econômico (BASTOS, 2019). Operam com volume útil entre 1 a 50 litros e apresentam maior flexibilidade e menor custo de operação;
- Piloto (50-500 litros), fundamental na transferência do processo para a escala industrial, pois verifica a estabilidade e a reprodutividade do processo e estima

- como a fermentação irá se comportar em volumes maiores, permitindo a otimização das condições de operação (SCHMIDELL, 2021; BASTOS, 2019);
- Industrial, na qual o processo deve ser economicamente rentável, operando com volumes entre 500 a 20000 litros, dependendo do processo (SCHMIDELL, 2021). A figura 3 ilustra as escalas de trabalho em biorreatores.

Figura 3 - Escalas de trabalho em biorreatores.



Fonte: (SCHMIDELL, 2021).

Ao se desenvolver um bioproduto, busca-se inicialmente obter condições economicamente viáveis em escala de bancada, a partir do conhecimento das condições ideais do processo, como temperatura, pH, meio de cultivo e consumo de oxigênio, para assim alcançar valores elevados de rendimento e produtividade. Após essa etapa, há a necessidade de se ampliar a produção até uma escala industrial.

A ampliação de escala, etapa determinante durante o desenvolvimento do processo, objetiva transferir as condições ótimas já obtidas na fase laboratorial e analisar os problemas associados com a transposição de dados entre os biorreatores (SHULER et al. 2017). O sucesso dessa operação depende da identificação do critério de ampliação de escala mais adequado, que manterá os parâmetros fermentativos de interesse (temperatura, oxigênio dissolvido, taxa cisalhamento, tempo de mistura, etc) otimizados (MAHDINIA et al, 2019).

O método de aumento de escala baseia-se na similaridade geométrica e nos parâmetros de transferência de calor e massa entre os biorreatores. Uma vez que o volume do biorreator de grande escala for escolhido, seus parâmetros geométricos,

ou seja, altura do tanque, diâmetro do tanque e dimensão do agitador, podem ser estimados (MAHDINIA *et al*, 2019). Desta forma, é possível definir os critérios para ampliação de escala, ou seja, uma determinada grandeza que deverá ser a mesma na escala piloto em relação à empregada na escala de bancada (SCHMIDELL, 2021). Os critérios de ampliação de escala mais aplicados em biorreatores, são:

- Número de Reynolds (Nr_e): está diretamente ligado ao grau de agitação e de mistura no interior do tanque. Em bioprocessos, o ideal é manter o caldo em regime turbulento, ou seja, $Nr_e > 10^4$.
- Potência sobre o volume (P/V): um dos critérios mais utilizados para variação de escala de biorreatores.
- Velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip}): tem forte influência na viabilidade celular, uma vez que influencia a taxa de cisalhamento, ponto muito importante quando se trata de células sensíveis como fungos filamentosos. Segundo Schmidell (2021), uma faixa satisfatória de V_{tip} situa-se entre 250-500 cm/s.
- Tempo de mistura (T_m): é o intervalo necessário para a completa homogeneização do caldo agitado. De forma geral, pode ser utilizado para definir o grau de mistura ou turbulência em tanques. Em regimes turbulentos, o tempo de mistura é proporcional ao diâmetro do agitador e a frequência de agitação.
- Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (KLa): em processos aerados, onde a dissolução de oxigênio no meio é um fator de controle importante, o KLa é um critério de ampliação muito promissor. O KLa é um fator que reflete os efeitos da agitação, viscosidade, impelidor(es), dimensões e formas das bolhas, propriedades reológicas da fase líquida e até mesmo o volume de trabalho (BASTOS, 2019). Descreve também a eficiência com que o oxigênio é entregue ao cultivo no biorreator, ou seja, a determinação do KLa é essencial para estabelecer a eficiência da aeração e quantificar os efeitos das variáveis operacionais sobre o fornecimento de oxigênio dissolvido (GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E., 2009).

4 METODOLOGIA

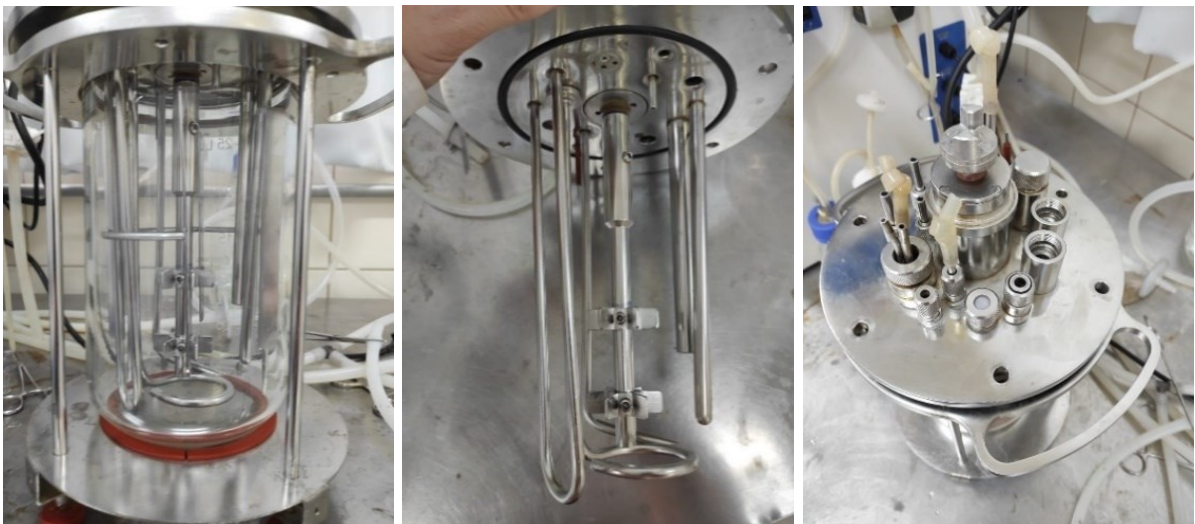
De forma geral, teve-se como ponto de partida os resultados de otimização em escala laboratorial obtidos por Campos (2021) e as dimensões e características dos biorreatores para efetuar o cálculo dos critérios de escalonamento. Posteriormente, manteve-se constante separadamente cada critério no tanque piloto e calculou-se os parâmetros fermentativos. A partir da análise dos dados, selecionou-se o critério que mais se adequa para ampliação de escala, a fim de manter as condições ótimas na escala piloto.

4.1 Dimensões e características dos biorreatores

4.1.1 Biorreator de bancada

Os dados de partida para esse trabalho foram obtidos a partir de um biorreator de bancada padrão, da marca Technal modelo TEC-Bio-3,0V de 2,5L, que pertence a UTFPR - PG. É composto por: 4 chicanas, eixo central, 2 impelidores, motor, sistema de aquecimento e resfriamento via serpentina, sistema de aeração, sonda de pH, sensor de temperatura, sensor antiespumante, sonda de oxigênio dissolvido, entrada de ácido, base e antiespumante. A combinação de impelidores selecionada foi Rushton + orelha de elefante, pois estes apresentaram maior eficiência na transferência de oxigênio no biorreator (CAMPOS, 2021).

Fotografia 1 - Vista lateral do tanque; Vista lateral e superior da tampa.



Fonte: Autoria própria (2022).

As medidas do biorreator e parâmetros de processos para produção de *Bradyrhizobium* são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Dimensões e parâmetros fermentativos do biorreator de bancada.

Dados	Medidas	Unidades
Volume nominal	0,0025	m ³
Volume útil	0,002	m ³
Altura do tanque	0,233	m
Altura do líquido	0,187	m
Diâmetro do tanque	0,127	m
Diâmetro dos impelidores	0,043	m
Diâmetro da chicana	0,0129	m
Largura do impelidor	0,012	m
Número de impelidores	2	-
Distância entre impelidores	0,036	m
Potência do motor	500	W
Agitação	265	RPM
VVM	1,1	L _{ar} /L _{meio} .min
Vazão de ar (Q)	3,66E-5	m ³ /s
Temperatura	30	°C

Fonte: Adaptado Campos (2021).

Tendo como base as relações geométricas de biorreatores (tabela 3), verificou-se que biorreator de bancada apresenta medidas padrão, conforme apresentado na tabela 5.

Tabela 5 - Relações geométricas do biorreator de bancada

Relação Geométrica	Razão	Medida padrão	Medida biorreator
Altura do líquido/ Altura total do tanque	HL/ HT	0,7 - 0,8	0,8
Altura total do tanque/ Diâmetro do tanque	HT/ DT	1 - 2	1,83
Diâmetro do impelidor/ Diâmetro do tanque	Da/ DT	0,25 - 0,5	0,33
Diâmetro da chicana / Diâmetro do tanque	Db/ DT	0,08 - 0,1	0,1
Largura do impelidor / Diâmetro do impelidor	L/ Da	0,25 – 0,3	0,27

Fonte: Autoria própria (2022).

4.1.2 Tanque de mistura

Trata-se de um tanque encamisado de 200L, da marca Didacta Itália modelo TA17/D que está na UTFPR Campus Ponta Grossa (Fotografia 2). Possui: eixo, camisa de aquecimento e resfriamento e motor. Não possui: chicanas, sistema de aeração, sensores e sondas.

Fotografia 2 - Tanque de mistura e motor.



Fonte: Autoria própria (2022).

Para efetuar o escalonamento da produção de *Bradyrhizobium* para o tanque de mistura, este deverá ser modificado estruturalmente para apresentar as características de um biorreator padrão e manter as condições ideais de processo. Sendo assim, fez-se as seguintes considerações:

- a. O tanque seguirá as mesmas proporções do biorreator de bancada (tabela 5), com exceção apenas a relação H_t/D_t .
- b. Os volumes nominal e útil do tanque foram calculados a partir das seguintes equações:

$$V_{\text{total}} = \pi r^2 H_t \qquad r^2 = \left(\frac{D_t}{2}\right)^2$$

(1)

(2)

$$V_{\text{útil}} = \frac{H_l}{H_t} \cdot V_{\text{total}} \quad HL = 0,8 \cdot Ht$$

- c. Serão utilizados dois impelidores (Rushton e orelha de elefante). Para obter o diâmetro destes, fez-se o seguinte cálculo:

(3)

$$Da = Dt \cdot 0,33$$

- d. Serão inseridas 4 chicanas, as quais foram dimensionadas com base na relação abaixo:

(4)

$$Db = Dt \cdot 0,1$$

- e. Obteve-se a vazão de ar com base na equação:

(5)

$$VVM = \frac{Q}{V}$$

Onde:

- VVM: Vazão específica do ar (vazão de gás por volume de meio);
- Q: Vazão volumétrica de ar (m³/s);
- V: Volume útil do tanque.

4.2 Cálculo dos critérios de escalonamento

Os cálculos foram efetuados em planilhas no software Excel e todas as equações foram devidamente referenciadas nas tabelas. Todos os critérios descritos abaixo foram, primeiramente, calculados para o biorreator de bancada. Posteriormente, para os cálculos de ampliação de escala, manteve-se constante no tanque piloto cada um dos critérios calculados para o biorreator de bancada e, a partir disso, calculou-se e analisou-se o comportamento dos outros parâmetros.

4.2.1 Número de Reynolds (Nre)

Para cálculo deste critério, utilizou-se a equação 6, descrita por Bastos (2015):

(6)

$$N_{Re} = \frac{\rho N D a^2}{\mu}$$

(7)

$$(N_{Re})_1 = (N_{Re})_2$$

Onde:

- Da: Diâmetro do tanque (m);
- ρ : densidade do líquido (kg/m³);
- μ : viscosidade dinâmica do líquido (kg/(ms));
- N: frequência de rotação do eixo do agitador (rps). Representado por:

(8)

$$N = \frac{2\pi (rpm)}{60}$$

A equação 6 foi utilizada para calcular o Número de Reynolds no biorreator de bancada. A equação 8 foi utilizada para calcular a frequência de agitação do eixo a partir das rotações por minuto (RPM), a qual foi determinada na otimização do processo em escala laboratorial. Para ampliação da escala de 1 para 2, sendo o biorreator de bancada 1 e o tanque de mistura 2, substituiu-se a equação 6 na equação 7, onde o número de Reynolds (N_{re1}) já foi calculado, isolou-se N_2 e obteve-se o valor da frequência de rotação do eixo no tanque piloto. A partir disso, calculou-se os outros critérios e parâmetros no tanque piloto.

Apesar da falta de dados práticos na literatura descrevendo as propriedades reológicas do caldo ao longo da fermentação, sabe-se que este comporta-se como um fluido newtoniano. Sendo assim, considerou-se as propriedades físicas da água a 30 °C (tabela 6) para fim dos cálculos teóricos.

Tabela 6 - Densidade e viscosidade dinâmica da água a 30 °C.

Densidade (Kg/m ³)	Viscosidade dinâmica (Kg/ms)
995,61	0,7879E+3

Fonte: Autoria própria (2022).

4.2.2 Potência por unidade de volume (P/V)

Considerando que todo o processo ficará em regime turbulento, calculou-se a potência a partir da equação descrita por Mahdinia *et al* (2019):

(9)

$$P = N_p \rho N^3 D a^5$$

(10)

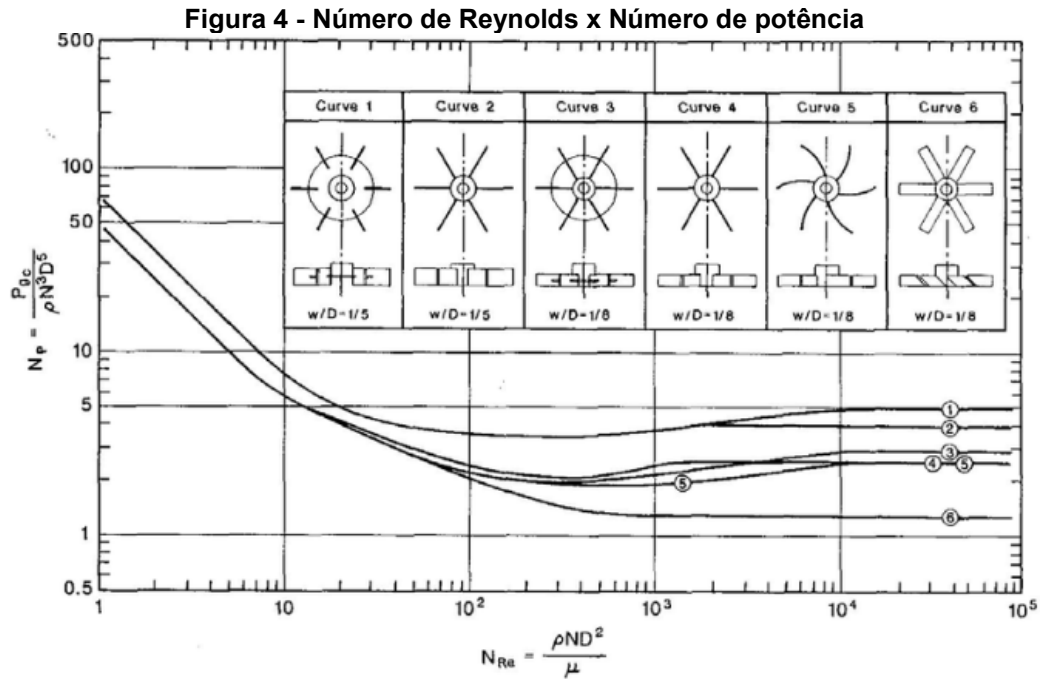
$$\left(\frac{P}{V}\right)_1 = \left(\frac{P}{V}\right)_2$$

Onde:

- P: potência transmitida na agitação do líquido (W);
- V: volume útil no tanque (m³);
- N: frequência de rotação do eixo do agitador (rps).
- Da: diâmetro do impelidor (m);
- N_p: Número de potência (adimensional).

Os números de potência (N_p) foram obtidos a partir da curva que correlaciona o número de Reynolds com o número de potência consumida em tanques defletores de geometria padrão com fluidos newtonianos, conforme mostra a figura 4. O N_p é um valor que está diretamente relacionado com a geometria do impelidor e, conforme citado anteriormente, tanto na escala laboratorial quanto no tanque piloto há uma associação entre dois impelidores com geometrias distintas. Para o cálculo da potência total consumida no biorreator de bancada, aplicou-se a equação 9, onde calculou-se duas potências – uma para o impelidor tipo Rushton (N_p=5 conforme descrito por Schmidell *et al.* (2001)) e outra para o impelidor tipo orelha de elefante (N_p=2,25 como descrito por Catalina, (2013)). Somando-se (P₁+P₂) obteve-se a potência total consumida, então bastou dividir a potência total pelo volume útil para obter (P/V)₁.

Utilizou-se a equação 10 para iniciar os cálculos de ampliação de escala com base na constância de P/V. Tendo o valor de (P/V)₁ e sabendo-se o volume útil do tanque piloto, calculou-se o valor a potência total no tanque piloto. Com este dado calculado, utilizou-se a equação 9 para obter o valor de N₂. A partir disso, calculou-se os outros critérios e parâmetros no tanque piloto.



Fonte: (PADRON, 2001).

4.2.3 Velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip})

A equação 11 descrita por Schmidell (2021), foi utilizada para o cálculo da V_{tip} , a qual relaciona a frequência de rotação (N) e o diâmetro do impelidor (D_a).

(11)

$$V_{tip} = \pi D_a N$$

(12)

$$(V_{tip})_1 = (V_{tip})_2$$

A equação 11 foi aplicada para o cálculo da V_{tip} no biorreator de bancada. Para ampliação de escala de 1 para 2, utilizou-se a equação 12, onde $(V_{tip})_1$ já é sabido e isolando N_2 na equação. A partir disso, calculou-se os outros critérios e parâmetros no tanque piloto.

4.2.4 Tempo de mistura (T_m)

Utilizou-se a equação 13, descrita por Schmidell (2021), para efetuar o cálculo do tempo de mistura.

(13)

$$T_m \propto \left(\frac{Da}{N^4}\right)^{\frac{1}{6}}$$

$$(T_m)_1 = (T_m)_2$$

Na ampliação de escala com base na constância do tempo de mistura, utilizou-se a equação 14 para encontrar a frequência de rotação no eixo da escala 2 (N_2), sendo que o T_{m1} já havia sido calculado previamente. A partir disso, calculou-se os outros critérios e parâmetros no tanque piloto.

4.2.5 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_La)

A equação 15, apresentada por Schmidell (2021), baseia-se em diversos experimentos da literatura e em diferentes volumes de trabalho (2 L a 2.600 L) para vários tipos de impelidores. Sendo assim, considerou-se a equação mais adequada para efetuar os cálculos deste trabalho.

$$K_La \propto 0,026 \left(\frac{P_g}{V}\right)^{0,4} (V_s)^{0,5}$$

Onde:

- K_La : coeficiente volumétrico de transferência de O_2 (s^{-1});
- P_g : potência transmitida ao fluido sob aeração (W);
- V : volume de fluido (m^3).
- P_g/V é representado por:

$$\frac{P_g}{V} = \frac{N^{3,15} \cdot Da^{2,85}}{Q^{0,25}}$$

- V_s : velocidade superficial de ar (m/s). É expressa por:

$$V_s = \frac{Q}{S} = \frac{4Q}{\pi D_t^2}$$

Em que:

- Q: vazão volumétrica de ar (m³/s);
- S: área da secção transversal do tanque (m²);
- Dt: diâmetro do tanque (m).

As equações 15, 16 e 17 foram utilizadas para calcular o KLa no biorreator de bancada. Para os cálculos de ampliação de escala, substituiu-se a equação 15 na equação 18 e isolou-se o N₂, obtendo a equação 19. Com N₂ calculou-se os outros critérios e parâmetros no tanque piloto.

(18)

$$(K_L a)_1 = (K_L a)_2$$

(19)

$$N_2 = N_1 \left(\frac{Da_1}{Da_2} \right)^{\frac{2 \cdot (0,5) - 2,85(0,4)}{3,15(0,4)}} \left(\frac{Q_2}{Q_1} \right)^{\frac{0,25(0,4) - 0,5}{3,15(0,4)}}$$

Além da análise dos critérios de escalonamento, também é importante avaliar o comportamento de outros parâmetros no biorreator. Desta forma, para melhor análise, também se efetuou o cálculo da OTR através da equação 20, referenciada por Nor Alafiza Yunus *et al* (2013). Conforme descrito no trabalho de Campos (2021), as variáveis C* (saturação de O₂ no meio) e C (concentração de O₂ dissolvido no meio), são respectivamente, 7,57 mg/L e 30%.

(20)

$$OTR = KLa (C^* - C)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Dimensões e parâmetros de processos do tanque piloto

Conforme já citado anteriormente, utilizou-se as relações geométricas do biorreator de bancada e algumas informações no tanque (altura total, diâmetro total e potência do motor) para o cálculo e determinação das medidas e parâmetros de processo na escala piloto, os quais são apresentados na tabela 7. Vale lembrar que o tanque piloto estudado neste trabalho apresenta um eixo de agitação descentralizado. Devido à falta de referências na literatura indicando o comportamento dos parâmetros de processo em tanques desse tipo, todos os cálculos teóricos efetuados levaram em consideração um eixo centralizado. Seria interessante, em trabalhos futuros, realizar experimentos para averiguar quais efeitos a descentralização do eixo causa na homogeneidade do cultivo.

Tabela 7 - Dimensões e parâmetros de processo do tanque em escala piloto

Dados	Medidas	Unidades
Volume nominal	0,20	m ³
Volume útil	0,16	m ³
Altura do tanque	0,89	m
Altura do líquido	0,712	m
Diâmetro do tanque	0,54	m
Diâmetro dos impelidores	0,178	m
Diâmetro da chicana	0,054	m
Largura do impelidor	0,014	m
Número de impelidores	2	-
Distância entre impelidores	0,13	m
Potência do motor	250	W
Agitação*	285	RPM
VVM*	1,1	L _{ar} /L _{meio} .min
Vazão de ar (Q)	2,93E-3	m ³ /s
Concentração de O ₂ no líquido (C)*	2,27	mg/L
Saturação de O ₂ (C*) *	7,57	mg/L

**Nota: (*) Dados obtidos de Campos (2021).
Fonte: Autoria própria (2022).**

5.2 Análise dos critérios de escalonamento

A tabela 8, mostra os resultados dos cálculos dos critérios de escalonamento para o biorreator de bancada. Nota-se que todos os critérios apresentam valores ótimos. Isso se dá, pois, além do biorreator apresentar uma estrutura padrão, os dados utilizados para efetuação dos cálculos tiveram como base a otimização realizada pelo trabalho de Campos (2021). Como já é sabido, otimizar o processo em escala laboratorial é fundamental para efetuar uma ampliação de escala eficiente. Sendo assim, ter como ponto de partida dados de um processo já otimizado, eleva o grau de confiabilidade dos dados de escalonamento calculados.

Tabela 8 - Critérios e parâmetros de processo calculados para o biorreator de bancada.

Critérios de escalonamento		Unidades (SI)	Fórmula
Nre	6,48E+04	-	[6]
P/V	11,3	kW/m ³	-
Vtip	374,88	cm/s	[11]
Tm	0,06	s ⁻¹	[13]
Kla	7,07E-03	s ⁻¹	[15]
Parâmetros de processo		Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	RPS	[8]
RPM	265	-	-
Potência imp. 1	15,64	W	[9]
Potência imp. 2	7,04	W	[9]
P1+P2	22,68	W	-
Pg/v	57,65	-	[16]
Vs	2,89E-03	-	[17]
OTR	0,0375	mg/L	[20]

Fonte: Autoria própria (2022).

Através da análise dos dados obtidos, percebe-se que: o regime do caldo é turbulento, ou seja, apresenta boa homogeneidade; a velocidade na ponta do impelidor (Vtip) está dentro da faixa sugerida pela literatura (200 – 500 cm/s); o tempo

de mistura é praticamente instantâneo; e o KLa calculado ($7,07E-3 \text{ s}^{-1}$) se mostrou muito promissor, apresentando um valor próximo ao encontrado experimentalmente por Campos (2021) que foi de $4,52E-3 \text{ s}^{-1}$. A taxa de transferência de oxigênio (OTR) calculada comprova que o suprimento de ar dentro do tanque fornece condições favoráveis ao crescimento do *Bradyrhizobium*, já que o consumo de oxigênio deste microrganismo (OUR) é de $0,0096 \text{ mg.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$, conforme descrito por Campos (2021).

Em bioprocessos que envolvem microrganismos aeróbicos, a agitação e aeração são elementos chave para obter bons rendimentos. Apesar de não serem citados como critérios de escalonamento, esses parâmetros também podem ser mantidos constantes ao realizar a ampliação de escala, ou seja, manter a mesma agitação (RPM) e vazão volumétrica de ar (Q) no biorreator de maior escala para analisar como os outros parâmetros se comportam.

No caso deste trabalho, ao manter a agitação e aeração constantes, obteve-se os dados da tabela 9, onde pode-se analisar o seguinte: a potência por unidade de volume (P/V) aumentará 11 vezes, ou seja, com um tanque maior a potência requerida para manter a mesma agitação e vazão volumétrica de ar também será maior. Assim, haverá necessidade de um motor muito robusto, que forneça uma potência mínima de 35 kW, considerando uma eficiência de 80%, o que é inviável pois motores que fornecem essa potência tem um custo muito elevado. O meio manterá o regime turbulento, o que é bem positivo e necessário, apresentando um Nre 17 vezes maior. Esse alto valor pode ser explicado pois quanto maior a potência aplicada, maior será a turbulência no meio. A V_{tip} apresentou um valor 3 vezes maior que o máximo indicado pela literatura, e apesar do microrganismo em questão não ter alta sensibilidade ao cisalhamento, uma V_{tip} alta é um ponto de atenção, pois um alto cisalhamento pode resultar na morte do microrganismo, inviabilizando todo o processo produtivo. O tempo de mistura foi praticamente instantâneo, o que é bem comum em fluídos com características Newtonianas. O KLa apresentou um valor pouco superior ao encontrado no biorreator de menor escala e conseqüentemente, a OTR também foi maior, o que é bem positivo pois significa que a aeração no meio é mais eficiente.

Com base nos pontos acima, conclui-se que manter esses parâmetros constantes é uma solução pouco favorável pois, apesar da troca do motor ser viável, a potência deste teria que ser muito alta, ou seja, o investimento seria muito oneroso, sendo que ao selecionar outros critérios, isso não seria necessário.

Tabela 9 - Constância da Aeração (Q) e agitação (RPM)

Crítérios	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
Nre	6,48E+04	1,11E+06	-	[6]
P/V	1,13E+04	1,72E+05	W/ m3	-
Vtip	374,88	1551,83	cm/s	[11]
Tm	0,06	0,08	-	[13]
Kla	7,07E-03	8,40E-03	s-1	[15]
Parâmetros de processo	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	27,75	RPS	[8]
P1	15,64	1,90E+04	W	[9]
P2	7,04	8,55E+03	W	[9]
P1+P2	22,68	2,76E+04	W	-
Pg/v	57,65	3,30E+03	m/s	[16]
Vs	2,89E-03	1,60E-04	m-2	[17]
OTR	0,0375	0,0445	mg/L.s	[20]

Fonte: Autoria própria (2022).

5.2.1 Número de Reynolds (Nre)

Apesar do Nre indicar um regime turbulento no biorreator de bancada, este apresentou quase o valor mínimo, ou seja, um valor próximo do limite de transição (10^4). Então, manter esse critério constante é equivalente a analisar as condições mínimas para manter a escala piloto em regime de turbulência.

Conforme os dados da tabela 10, uma frequência de apenas 15 rotações por minuto e o consumo total de 5,47 Watts de potência, seriam suficientes para manter o cultivo em regime turbulento na escala piloto. Conseqüentemente, o tempo de mistura aumentou e a aeração no tanque foi extremamente prejudicada apresentando um KLa e OTR 5 vezes menor que a escala laboratorial, ou seja, a taxa de transferência de oxigênio (OTR) será inferior a taxa consumo de oxigênio do microrganismo (OUR), causando uma insuficiência de O_2 no meio e podendo causar grande deficiência no processo produtivo. Esses dados confirmam que quanto maior a turbulência do meio, melhor será a homogeneidade e aeração no tanque. O valor

de V_{tip} também foi inferior, que pode ser justificado pela baixa frequência de rotações por minuto.

Tabela 10 - Constância do Número de Reynolds

Critérios de escalonamento	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
Nre	6,48E+04	6,48E+04	-	-
P/V	1,13E+04	34,18	W/ m ³	-
V_{tip}	374,88	90,51	cm/s	[11]
T_m	0,06	0,54	-	[13]
Kla	7,07E-03	1,35E-03	s ⁻¹	[15]
Parâmetros de processo	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	1,62	RPS	[7]
RPM	265,00	15,46	-	[8]
P1	15,64	3,77	W	[9]
P2	7,04	1,70	W	[9]
P1+P2	22,68	5,47	W	-
$P_{g/v}$	57,65	0,14	m/s	[16]
V_s	2,89E-03	1,28E-02	m ⁻²	[17]
OTR	0,0375	0,0072	mg/L.s	[20]

Fonte: Autoria própria (2022).

No processo estudado por este trabalho, não há interesse em manter os parâmetros fermentativos nas condições mínimas, mas sim em condições ótimas. Sendo assim, selecionar o Nre como critério de escalonamento não é a solução almejada.

5.2.2 Potência por unidade de volume (P/V)

Ao realizar a análise dos dados da tabela 11, percebe-se que a energia transmitida para o meio é um parâmetro chave para a ampliação de biorreatores, corroborando com o estudo efetuado por Kaiser *et al* (2018), o qual descreve a influência deste critério em outras operações no reator, como homogeneização, dispersão gás-líquido e transferência de calor, além da associação ao estresse de

cisalhamento, que pode afetar particularmente o crescimento e a formação de produtos.

Tabela 11 - Constância da potência por unidade de volume útil

Critérios de escalonamento	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
P/V	1,13E+04	1,13E+04	W/ m ³	-
Número de Reynolds	6,48E+04	4,49E+05	-	[6]
V _{tip}	374,88	626,55	cm/s	[11]
T _m	0,06	0,15	-	[13]
K _{la}	7,07E-03	15,5E-03	s ⁻¹	[15]

Parâmetros de processo	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	11,20	RPS	[9]
RPM	265	106,99	-	[8]
P ₁ +P ₂	22,68	1,81E+03	W	[10]
P _{g/v}	57,65	63,47	m/s	[16]
V _s	2,89E-03	1,28E-02	m ⁻²	[17]
OTR	0,0375	0,0820	mg/L.s	[20]

Fonte: Autoria própria (2022).

Todos os parâmetros apresentam valores muito promissores. Regime turbulento, com N_{re} 7 vezes maior que a escala de bancada. A V_{tip} pouco acima do recomendado pela literatura, indicando cisalhamento viável. O tempo de mistura apesar de ter dobrado seu valor ainda é quase instantâneo. O K_{La} e OTR apresentaram valores superiores aos encontrados na escala laboratorial, ou seja, o suprimento de ar no cultivo será ainda mais eficiente. Wilde *et al* (2014) também cita em seu trabalho um aumento do K_{La} em reatores de maior volume. O aumento da altura do líquido (biorreator piloto é mais alto) gera um maior tempo de residência das bolhas de gás no líquido, resultando em uma transferência de oxigênio mais eficiente.

Um ponto desfavorável é que o motor atual do tanque piloto não fornecerá a potência necessária para manter P/V constante, requerendo 1,81 kW, potência 7 vezes superior que do motor atual. Conforme referencias comerciais, a maior parte

dos tanques com capacidade de 200 litros tem motores com potência de 15 kW, ou seja, o tanque estudado neste trabalho apresenta um motor muito inferior ao normal. Desta forma, efetuar a troca para um motor de 15 kW é uma sugestão de alteração estrutural, já que o motor atual apresenta ser muito pequeno para qualquer processo efetuado no tanque.

Caso seja efetuada a troca do motor, a escolha do critério P/V para ampliar a produção de *Bradyrhizobium* é muito promissora, mostrando que os dados obtidos estão em concordância com a literatura, a qual indica que utilizar o P/V como critério de escalonamento é uma estratégia eficaz, tendo como referência de sucesso a ampliação de escala na produção de penicilina.

5.2.3 Velocidade na extremidade do impelidor (V_{tip})

Conforme Dorceus, (2018) a velocidade da ponta do impelidor tem grande influência na tensão de cisalhamento, tempo de mistura, transferência de oxigênio e homogeneidade do meio. Para cultivos com células sensíveis, manter esse critério constante é vantajoso em vários sentidos.

A V_{tip} como critério de escalonamento apresentou valores muito promissores, conforme visto na tabela 12. O cultivo se manterá em regime turbulento, com N_{re} bem acima do limite de transição. A potência requerida de 389 W é satisfatória, mas ainda seria necessária a troca para um motor maior. O tempo de mistura aumentou pouco mais de 3 vezes, mas ainda apresenta um valor bem dentro do esperado. O KLa e OTR apresentaram valores melhores que o biorreator de bancada, indicando uma melhor oxigenação do cultivo.

Os dados obtidos indicam que este critério é um bom candidato para ampliação de escala, justificando o motivo de diversas indústrias de bioprocessos, principalmente as que trabalham com células sensíveis, utilizarem esse critério para escalonar a produção. Porém, o microrganismo estudado neste trabalho, não apresenta alta sensibilidade a tensão de cisalhamento, então a escolha deste critério pode ser uma opção, mas não a mais atrativa.

Tabela 12 - Constância da velocidade na ponta do impelidor

Critérios de escalonamento	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
Vtip	374,88	374,88	cm/s	-
Número de Reynolds	6,48E+04	2,68E+05	-	[6]
P/V	1,13E+04	2,43E+03	W/m ³	-
Tm	0,06	0,21	-	[13]
Kla	7,07E-03	8,10E-03	s ⁻¹	[15]
Parâmetros de processo	Bancada	Tanque	Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	6,70	RPS	[12]
RPM	265,00	64,02	-	[8]
P1	15,64	267,99	W	[9]
P2	7,04	120,60	W	[9]
P1+P2	22,68	388,59	W	-
Pg/v	57,65	12,59	m/s	[16]
Vs	2,89E-03	1,28E-02	m ⁻²	[17]
OTR	0,0375	0,0429	mg/L.s	[20]

Fonte: Autorial própria (2022).

5.2.4 Tempo de Mistura (T_m)

Esse critério é mais relevante pra cultivos que apresentam características não newtonianas, ou seja, cultivos que há um aumento da viscosidade ao longo da fermentação, o que não é o caso do cultivo estudado neste trabalho. Para biorreatores pequenos (< 500 L), que trabalham com fluidos newtonianos, a mistura é praticamente instantânea (perfeita). Isso pode ser observado em todos os cálculos de tempo de mistura efetuados neste trabalho, os quais apresentam valores muito pequenos, indicando sempre uma mistura perfeita. Sendo assim, não se faz necessário avaliar ou considerar esse critério constante neste caso.

5.2.5 Coeficiente de transferência de oxigênio (KLa)

Analisando os dados da tabela 13, observa-se que ao manter o KLa constante, os parâmetros apresentaram valores muito favoráveis ao processo. O meio permanecerá em regime turbulento, com Nre 3 vezes maior que a escala laboratorial. A Vtip ficou dentro do indicado pela literatura, apresentando um valor bem próximo do encontrado no biorreator de menor escala. O tempo de mistura aumentou, mas a mistura ainda é perfeita. Como esperado a P/V diminui, pois a potência aplicada pelo motor é baixa para um volume grande.

Tabela 13 - Constância do KLa x Potência máxima do motor

Crítérios de escalonamento	Bancada	Tanque	P = 200 W	Unidades (SI)	Fórmula
Kla	7,07E-03	7,07E-03	6,12E-03	s-1	-
Número de Reynolds	6,48E+04	2,36E+05	2,12E+05	-	[6]
P/V	1,13E+04	1,66E+03	1,25E+03	W/m ³	-
Vtip	374,88	329,93	300,29	cm/s	[11]
Tm	0,06	0,23	0,24	-	[13]

Parâmetros de processo	Bancada	Tanque	P= 200W	Unidades (SI)	Fórmula
N	27,75	5,90	5,37	RPS	[19]
RPM	265,00	56,34	51,3	-	[8]
P1	15,64	1,83E+02	-	W	[9]
P2	7,04	8,22E+01	-	W	[9]
P1+P2	22,68	2,65E+02	200,00	W	-
OTR	0,0375	0,0375	0,0324	mg/L.s	[20]

Fonte: Autoria própria (2022).

Dentre todos os outros critérios, este foi o único a requerer uma potência pouco acima de 250 W, ou seja, realizando pequenos ajustes é possível utilizar o motor atual para realizar o *scale-up* do processo. Desta forma, selecionar o KLa como critério de escalonamento é semelhante a utilizar a potência máxima fornecida pelo

motor, que é de 200 W (considerando uma eficiência de 80%). Ao fazer isso, os parâmetros de processo apresentam resultados extremamente próximos, conforme mostra os dados da tabela 13.

Devido dos fatos, o KLa se mostra um critério muito atrativo. Além de ser um parâmetro crucial dentro de biorreatores aerados, não haver necessidade da troca do motor possibilita que em trabalhos futuros, efetuem na prática o escalonamento a partir os dados obtidos para comparar se os dados calculados corroboram com os experimentais, confirmando, ou não, se esse critério é realmente o melhor para manter constante.

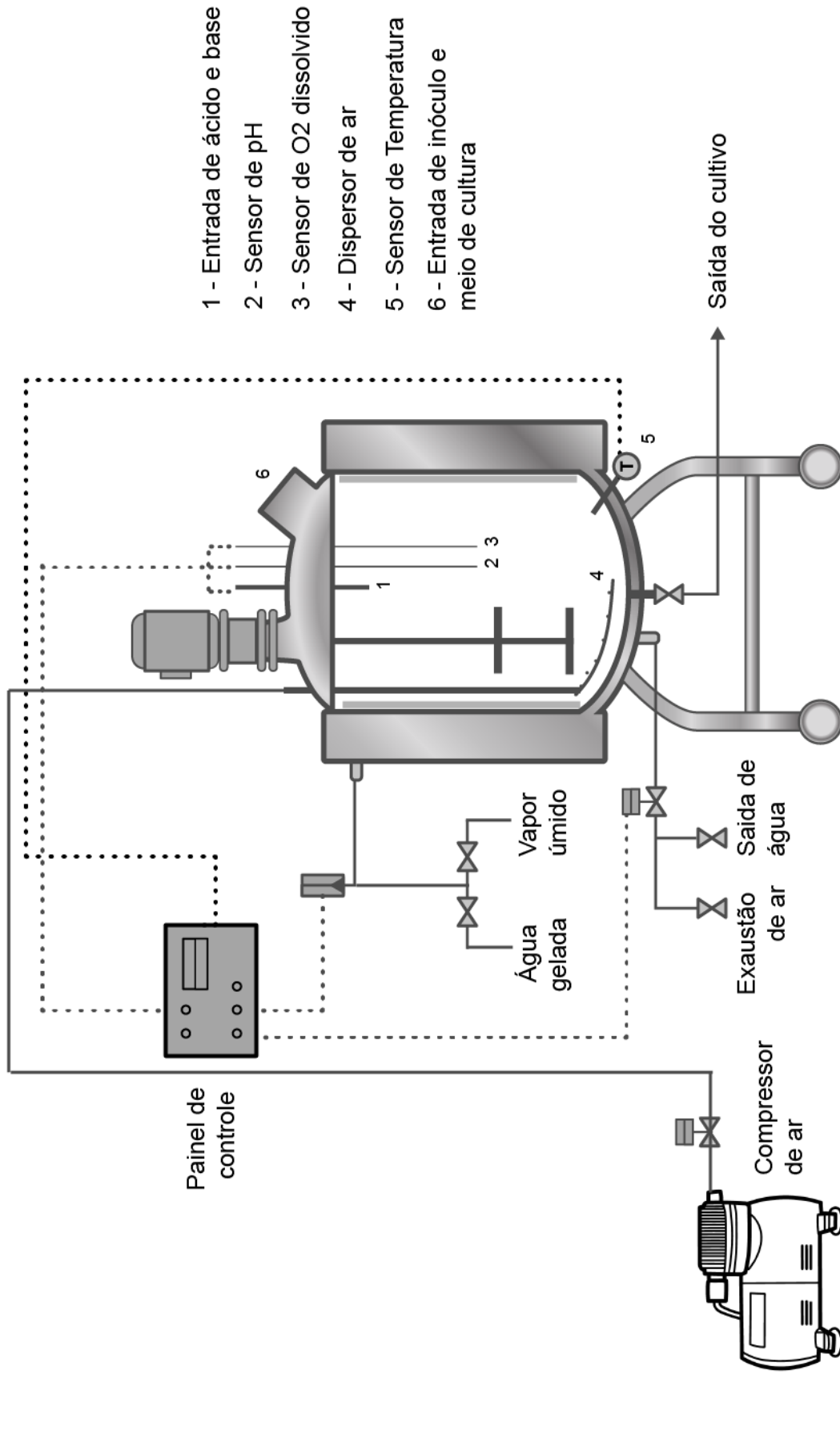
5.3 Sugestões de alterações estruturais no tanque

Para o tanque de mistura fornecer as condições ideais durante o processo produtivo de *Bradyrhizobium sp*, ou qualquer outro cultivo de células, há a necessidade de inserir instrumentos para efetuar o controle e monitoramento dentro do reator. Tendo como ponto de partida as características e considerações já descritas na sessão 4.1.2 deste trabalho, sugere-se a adição e inserção dos seguintes equipamentos e sensores:

- Sistema de aeração: tubo de distribuição inserido pela parte superior do tanque e posicionado abaixo do último impelidor do eixo, com filtro absoluto antes da entrada de ar, acompanhado de um compressor de ar com capacidade vazão de até 3 VVM.
- Sonda de pH, sonda de oxigênio dissolvido e entrada de ácido e base. Devido o tanque ser encamisado, uma solução é inserir todos os sensores e sondas através da parte superior do tanque, utilizando usinagem para efetuar as aberturas necessárias, atentando-se manter a vedação de cada entrada.
- A esterilização do meio é feita inserindo vapor úmido e limpo na camisa do reator, mantendo uma temperatura de 121 ° C por 20 minutos.
- O uso de uma caldeira de laboratório auxiliará na passagem de vapor úmido nas linhas de ar, inóculo e amostragem.

Efetuando as alterações citadas acima, a figura 5 ilustra como a estrutura do tanque ficará, além de demonstrar a malha de controle dos sistemas do tanque.

Figura 5 - Estrutura e malha de controle do tanque de mistura após alterações sugeridas



Fonte: Autoria própria (2022).

6 CONCLUSÃO

Conclui-se então que o KLa é o melhor critério para realizar a ampliação de escala pois, além ser um fator importante na produção do *Bradyrhizobium sp.* (microrganismo aeróbio restrito que necessita de oxigênio dissolvido no meio para seu crescimento), todos os parâmetros de processo apresentaram valores ótimos na escala piloto, além não apresentar a necessidade da troca de motor.

Os resultados obtidos a partir dos cálculos efetuados foram muito satisfatórios e corroboram com dados encontrados em outros trabalhos acadêmicos, indicando que a metodologia e o raciocínio aplicado foram coerentes. Além disso, obter como ponto de partida dados de um processo já otimizado em escala laboratorial, eleva o grau de confiabilidade e precisão dos cálculos. Dada a situação, a escolha do KLa como critério de escalonamento se mostrou a mais adequada, mas não exclui o fato dos critérios P/V e V_{tip} também serem boas escolhas para ampliação de escala caso houvesse a troca para um motor de maior potência. O número de Reynolds foi o critério menos atrativo.

Sendo assim, conclui-se que apesar da complexidade, aplicar os princípios gerais de ampliação da escala de biorreator é fundamental para que essa etapa seja mais precisa e assertiva, proporcionando melhor oxigenação e homogeneidade no cultivo, melhorando o crescimento do microrganismo e gerando um processo mais estável e rentável em escala industrial.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, Massilon J. **Fundamentos de agronegócios**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2018.

ARAUJO, S. C.; CASTRO, J. R. P. **Consolidação de uma tecnologia vencedora**. *Agroanalysis*, v. 39, n. 8, p. 27-28, 2019.

BASTOS, Reinaldo Gaspar. **Tecnologia das fermentações: fundamentos de bioprocessos**. -- São Carlos: EdUFSCar, 2010. 162 p. -- (Coleção UAB-UFSCar)

BUFFO, M. M. et al. **Análise do consumo de potência e da transferência de oxigênio em tanque agitado com diferentes associações de impelidores utilizando fluido pseudoplástico**. *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, v. 2, n. 1, p. 1370- 1377, 2015.

CAMPOS, George Betim. **Análise da influência de diferentes impelidores na transferência de oxigênio em biorreatores agitados e efeitos no cultivo de *Bradyrhizobium japonicum***. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2021.

CATALINA, Maritza; BUSTAMANTE, Condori. **Transferência de Oxigênio e Condições de Cisalhamento em Biorreator Convencional com Impelidores Orelha de Elefante**. [s.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/3953/6133.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 5 out. 2022.

CHHABRA, R.P. ; RICHARDSON, J.F. **Liquid mixing: Non-Newtonian Flow in the Process Industries**, p. 324–392, 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/power-number>>. Acesso em: 3 nov. 2022.

CRATER, J. S.; LIEVENSE, J. C. **Scale-up of industrial microbial processes**. FEMS Microbiology Letters, v. 365, n. 13, 1 jun. 2018.

DORCEUS, Michelet. **Cell Culture Scale-Up in Stirred-Tank Single-Use Bioreactors**, 2018. [s.l.: s.n., s.d.]. Disponível em: <https://www.eppendorf.com/product-media/doc/en/633183/Fermentors-Bioreactors_Publication_BioBLU-c_Cell-Culture-Scale-Up-BioBLU-Single-Vessels.pdf>.

EQUIPE MAIS SOJA. **Inoculantes e fertilizantes fisiológicos são alternativas para os produtores diante da alta dos insumos agrícolas**. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/inoculantes-e-fertilizantes-fisiologicos-sao-alternativas-para-os-produtores-diante-da-alta-dos-insumos-agricolas/>>. Acesso em: 23 out. 2022.

GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E. **Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview**. Biotechnology Advances, v. 27, n. 2, p. 153–176, mar. 2009.

KAISER SC, WERNER S, JOSSEN V, BLASCHCZOK K, EIBLI D. **Power Input Measurements in Stirred Bioreactors at Laboratory Scale**, 2018. May 16. Doi: 10.3791/56078.

LIMA, Urgel de A. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. Editora Blucher, 2001. E-book. ISBN 9788521215196. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521215196/>. Acesso em: 24 out. 2022.

MAHDINIA, E., CEKMECELIOGLU, D., & DEMIRCI, A. **Bioreactor Scale-Up. Learning Materials in Biosciences**. Pg 213–236. 2019

MERCANTE, Fábio Martins. **Inoculantes microbianos na agricultura**. Dourado/ MS: EMBRAPA-CGPE, Online 2016. (EMBRAPA-CGPE 12905).

MEYER, M. C. et al. **BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA**. Embrapa Soja, 2022. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1143066/bioinsumos-na-cultura-da-soja> >, acesso em: 08/08/2022.

NOR ALAFIZA YUNUS *et al.* **European Symposium on Computer Aided Process Engineering**. [s.l.] Elsevier Inc. Chapters, 2013.

PADRON, Gustavo A. **Figura 1.3-1 Power number-Reynolds number correlation for baffled tanks**. ResearchGate, 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/1-Power-number-Reynolds-number-correlation-for-baffled-tanks-of-standard-geometry-with_fig1_305278259>. Acesso em: 1 nov. 2022.

PALOMARES, L. A., RAMÍREZ, O. T. (2009). **Bioreactor Scale-Up**. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*. doi:10.1002/9780470054581.eib143

SCHMIDELL W, LIMA UA, AQUARONE E, BORZANI W. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica. Volume 2**. Ed Edgard Blücher LTDA, São Paulo, 2001.

SCHMIDELL, Willibaldo. **Biotecnologia Industrial - Vol. 2: Engenharia Bioquímica**. Editora Blucher, 2021. E-book. ISBN 9786555060195. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555060195/>. Acesso em: 19 set. 2022.

SANTOS, M. C. **Bradyrhizobium se “eterniza” no campo?** MAIS SOJA - Pensou Soja, Pensou Mais Soja. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/bradyrhizobium-se-eterniza-no-campo/>>. Acesso em: 24 out. 2022.

SHULER, M. L.; FIKRET KARGI. **Bioprocess engineering: basic concepts**. Uttar Pradesh, India: Pearson, 2017.

SOUSA, P. M. **Otimização do processo de produção de células das estirpes de Bradyrhizobium INPA 3-11B e UFLA 3-84, inoculantes do feijão-caupi**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade federal de lavras.

VALOR ECONÔMICO. **Venda de insumos biológicos cresce 37% no país, diz estudo**. **Valor Econômico**, 10 nov. 2021. Disponível em <https://valor.globo.com/agronegocios/noticia/2021/11/10/venda-de-insumos-biologicos-cresce-37-no-pais-diz-estudo.ghtml>. Acesso em: 20 out. 2022.

WILDE , DAVY DE. **Superior Scalability of Single-Use Bioreactors**. BioProcess International. Disponível em: <https://bioprocessintl.com/upstream-processing/upstream-single-use-technologies/superior-scalability-single-use-bioreactors/>. Acesso em: 6 nov. 2022.