

SIMULAÇÃO DE MODELOS MATEMATICOS PARA O COMPORTAMENTO DE CÉLULAS IMOBILIZADAS EM GEL

Márcio de Andrade Batista¹; Louriel Oliveira Vilarinho²

Universidade Federal de Uberlândia

Av. João Naves de Ávila, 2160 - Campus Santa Mônica - Bloco 1M - Uberlândia/MG

CEP: 38400-902 - Fone: (34) 3239 4148/4192/4150 - Fax: (34) 3239 4206

Email: engandrade10@gmail.com; vilarinho@mecanica.ufu.br

1- Doutorando do programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica

2- Professor Doutor do programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica

Resumo: *Este trabalho tem como objetivo central propor uma contribuição para o desenvolvimento de uma compreensão para o processo e comportamento de imobilização de células. Nessa direção, apresenta-se uma proposta de modelo que visa descrever as condições de imobilização da Saccharomyces cerevisiae em alginato de cálcio. Abordam-se aspectos matemáticos e de simulação para um melhor entendimento de um sistema com a finalidade de investigar fatores importantes no comportamento de imobilização. Ressalta-se ainda que essa metodologia é fundamental para criar-se uma analogia com a formação de biofilmes envolvidos no processo de corrosão induzida por microrganismos.*

Palavras-chave: Biofilme, Imobilização, Modelos Matemáticos.

1-INTRODUÇÃO

Aspectos introdutórios para a modelagem

A cinética de transformação para um sistema com células imobilizadas é diferente daquela resultante de células livre. Existem vários efeitos que contribuem para essas diferenças sendo a modificação de ação metabólica e a existência de efeitos de resistência à transferência de massa os fatores mais importantes dessa diferença. O balanço de massa para o substrato dentro de uma partícula esférica pode ser escrito na forma unidimensional conforme:

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D \frac{dS}{dr} \right) = R_s \quad (1)$$

Onde R_s é a taxa de transformação do substrato por unidade de volume na partícula.

As condições de contorno para o problema são dadas por:

Em:

$$\begin{aligned} r=0, \quad \frac{dS}{dr} &= 0 \\ r=R \quad D \frac{dS}{dr} &= k_L (S_o - S) \end{aligned} \quad (2)$$

Onde:

S	Substrato consumido
S_o	Substrato inicial
r	Posição radial no <i>pellet</i>
R	Raio do <i>pellet</i> (Superfície da partícula)
k_L	Constantes de inibição (Monod)
D	Coeficiente de difusividade

Escrevendo o modelo com variáveis adimensionalizadas:

$$\varphi = \frac{S}{S_o} \quad (3)$$

$$\xi = \frac{r}{R} \quad (4)$$

Tem-se o modelo adimensional e com D constante,

$$\frac{1}{\xi^2} \frac{d}{d\xi} \left(\xi^2 \frac{d\varphi}{d\xi} \right) = \frac{R^2}{DS_o} R_\varphi \quad (5)$$

As condições de contorno na forma adimensional são,

$$\text{Em } \xi = 0, \frac{d\varphi}{d\xi} = 0 \quad (6)$$

$$\text{Em } \xi = 1, \frac{d\varphi}{d\xi} = \frac{k_L R}{D} (1 - \varphi) = Sh(1 - \varphi) \quad (7)$$

A simulação computacional desse modelo é simples e pode ser feita utilizando uma metodologia de discretização acoplada a um algoritmo para solução de sistemas de equações não lineares. Nesse trabalho utilizou-se a técnica de colocação ortogonal com polinômios de Jacobi (VILLADSEN e MICHELSEN, 1978) em um ambiente Scilab. A investigação preliminar utilizou-se uma cinética do tipo Michaelis-Menten dada pela expressão de taxa:

$$R_s = \frac{kC_x S}{K_m + S} \quad (8)$$

A dificuldade de se medir a concentração de glicose (S) dentro da partícula fez com que se escolhesse uma abordagem paramétrica de investigação preliminar onde investiga-se o efeito dos parâmetros que descrevem o modelo. Nesse aspecto, busca-se valores que possibilitem compreender o efeito a ser verificado experimentalmente em trabalhos futuros. O sistema

investigado, com $\gamma = \frac{S_o}{K_m}$ e vários valores de módulo de Thiele, $\phi^2 = \frac{KCR^2}{DK_m}$, apresenta o

comportamento descrito na Figura 1. Merece destaque o fato de que como a concentração de células aumenta com o tempo, a exploração do comportamento desse sistema para uma faixa de valores do módulo de Thiele permite esboçar o comportamento que esse modelo descreve para o comportamento do sistema. De forma análoga, o raio da partícula possui influência quadrática nesse comportamento.

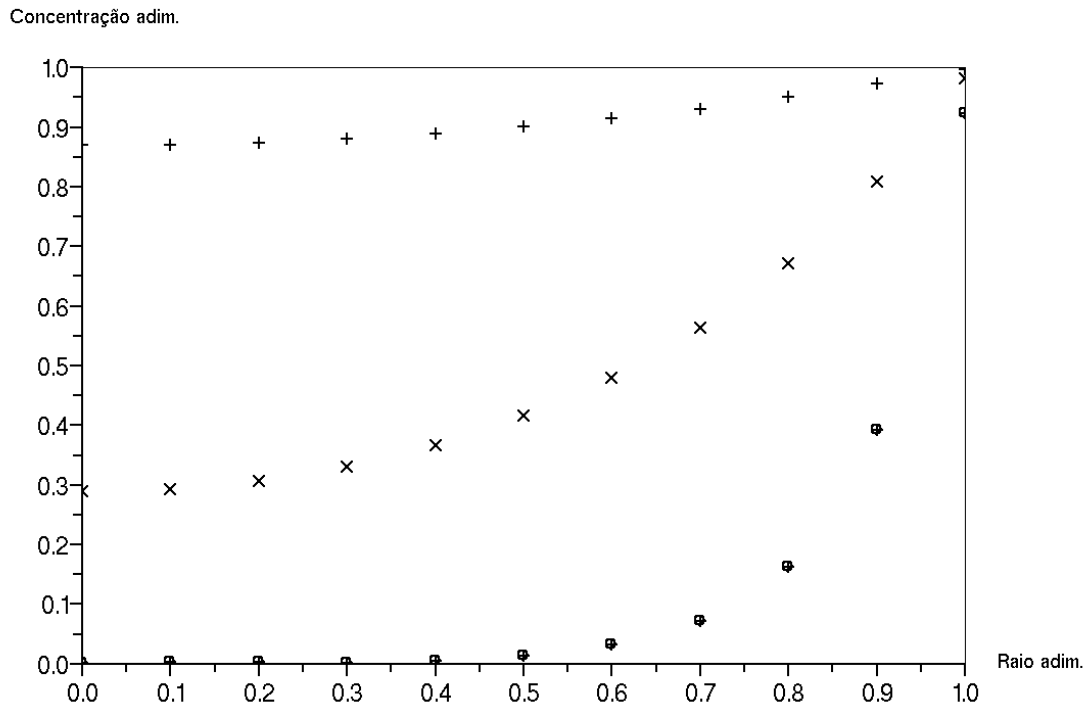


Figura 1 - Comportamento estacionário de uma partícula com 5 pontos de colocação internos, polinômio de Jacobi com $\alpha = 1$, $\beta = 1$, $Sh=100$, $\gamma = 0,2$ e $\phi^2 = [1(+), 10(x), 100(o)]$.

O módulo de Thiele apresenta explicitamente, para uma partícula esférica com raio fixo, uma proporcionalidade direta com a concentração de células, indicando assim que durante a operação do sistema o comportamento qualitativo que se espera no tempo seja algo similar ao resultado mostrado na Figura 1, considerando comportamento estacionário com três níveis de concentração de células na partícula.

O sistema operando com células imobilizadas apresentam menores problemas em relação à inibição pelo substrato. Mesmo assim, estudos do metabolismo das células imobilizadas e avaliação dos mecanismos difusivos no interior de uma partícula num processo de fermentação com células imobilizadas merecem ainda a atenção futura. Procurando explorar os efeitos que tal descrição de modelo pode apresentar, faz-se na Figura 2 uma análise com uma cinética com inibição pelo substrato e expressão de taxa dada por:

$$R_s = \frac{kCS}{(K_m + S)(1 + S/K_i)} \quad (9)$$

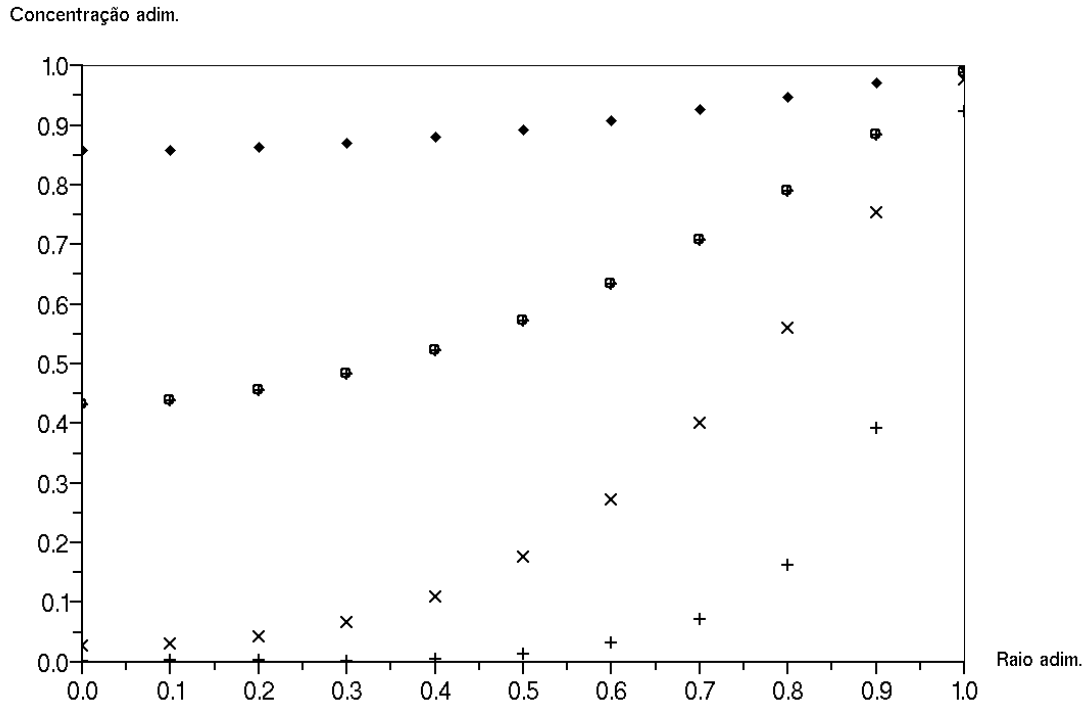


Figura 2 - Comportamento estacionário de uma partícula com 5 pontos de colocação internos, polinômio de Jacobi com $\alpha = 1$, $\beta = 1$. $Sh=100$, $\gamma = 0,2$, $\phi^2=100$ e $\gamma_2=[0(+), 10(x), 25(•), 100(♦)]$.

A simulação para elevados níveis de módulos de Thiele faz com que o efeito de inibição pelo substrato seja entendido à medida que o parâmetro de inibição $\gamma_2 = \frac{S_o}{K_i}$ aumenta, ou seja, com

o aumento da inibição têm-se a esperada redução na queda de concentração do substrato dentro da partícula. É fato também que com o crescimento celular, os mecanismos difusivos se alteram e considerar que o coeficiente de difusividade interno é constante pode não representar bem a realidade. De acordo com FERREIRA (1986), os coeficientes de partição em partículas de gel contendo *Saccharomyces cerevisiae* são funções da concentração celular, e possuem a tendência de redução com o aumento da concentração de células no interior da partícula.

A consideração de uma cinética com inibição pelo produto segue mesmos padrões da inibição pelo substrato e fornece uma expressão do tipo das Equações 10 e 11 para inibição não competitiva e competitiva, respectivamente.

$$R_s = \frac{kC_xS}{(K_m + S)(1 + P/K_i)} \quad (10)$$

$$R_s = \frac{kC_xS}{K_m + S + (K_m/K_I)P} \quad (11)$$

No caso da inibição pelo substrato, exige-se que o balanço de massa para o produto também seja feito na partícula. Assim, o modelo descrevendo o sistema tem a forma:

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D \frac{dS}{dr} \right) = R_s \quad \text{e} \quad \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_p \frac{dP}{dr} \right) = -R_s \quad (12)$$

Onde D_p é a difusividade do etanol na partícula. Escrevendo o sistema na forma adimensionalizada, com:

$$\theta = \frac{P}{S_o} \quad \text{e} \quad \delta = \frac{D_p}{D}, \quad \text{têm-se:}$$

$$\frac{1}{\xi^2} \frac{d}{d\xi} \left(\xi^2 \frac{d\varphi}{d\xi} \right) = \frac{R^2}{DS_o} R_{\varphi\theta} \quad \text{e} \quad \frac{1}{\xi^2} \frac{d}{d\xi} \left(\xi^2 \frac{d\theta}{d\xi} \right) = -\frac{R^2}{DS_o} \frac{1}{\delta} R_{\varphi\theta} \quad (13)$$

As condições de contorno na forma adimensional são,

$$\text{Em } \xi = 0, \quad \frac{d\varphi}{d\xi} = 0 \quad \text{e} \quad \frac{d\theta}{d\xi} = 0 \quad (14)$$

$$\text{Em } \xi = 1, \quad \frac{d\varphi}{d\xi} = \frac{k_L R}{D} (1 - \varphi) = Sh(1 - \varphi) \quad (15)$$

$$\text{e} \quad \frac{d\theta}{d\xi} = \frac{k_L R}{D\delta} (\theta_o - \theta) = \frac{Sh}{\delta} (\theta_o - \theta) \quad (16)$$

$$\text{onde } \theta_o = \frac{P_o}{S_o}.$$

Somando-se as equações dos modelos pode-se mostrar que:

$$\theta = \theta_o + \frac{1 - \varphi}{\delta} \quad (17)$$

Isso permite que modelo seja resolvido apenas substituindo θ na expressão da taxa e resolve-se o balanço de massa para o substrato. A resolução desse sistema para o caso em que a concentração do produto na fase líquida é nula, $\gamma_3 = \frac{S_o}{K_I}$ é investigada numa faixa inibitória de 0 a 100 e $\delta = 1$. A Figura 3 apresenta o comportamento para o substrato.

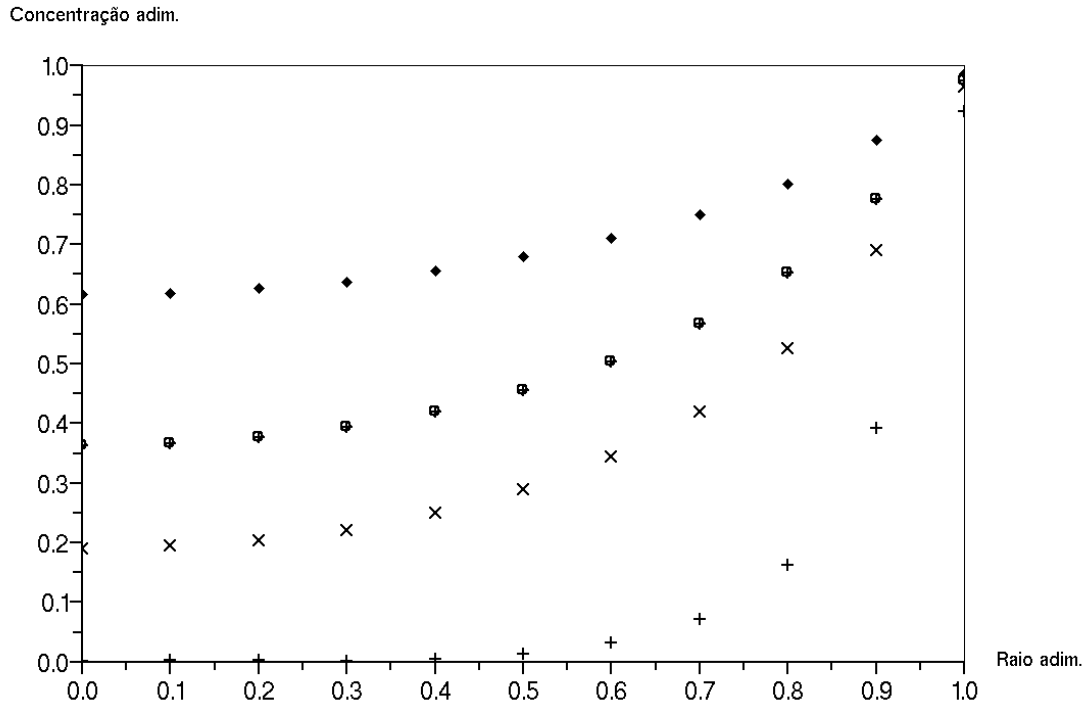


Figura 3- Comportamento estacionário de uma partícula com inibição pelo produto de forma não competitiva utilizando 5 pontos de colocação internos, polinômios de Jacobi com $\alpha = 1$, $\beta = 1$,

$$\gamma = 0,2, \text{ Sh}=100, \phi^2=100 \text{ e } \gamma_3=[0(+), 10(x), 25(\bullet), 100(\blacklozenge)].$$

A análise apresentada não considera casos em que a difusividade é função da concentração. Entretanto, essa consideração pode ser facilmente implementada nos sistemas investigados nessa seção se tal comportamento constitutivo for conhecido.

Da avaliação preliminar do comportamento estacionário da concentração de substrato dentro de uma partícula esférica pode-se inferir que o comportamento quando o número de células precisa também ser considerado não é de todo simples para uma descrição transiente. Abordando-se o reator de mistura investigado (e considerado em mistura perfeita), pode-se escrever o balanço de células, etanol e glicose conforme seguem:

Balanço de células livres no fermentador:

$$\frac{dC_L}{dt} = R_{ef}, \quad C_L(0) = \varepsilon \quad (18)$$

onde R_{ef} é a taxa efetiva de crescimento celular no exterior da partícula com células imobilizadas e ε a concentração inicial de células livres ($\ll 1$ g/L). Uma expressão para R_{ef} para uma cinética tipo Monod pode ser dada por:

$$R_{ef} = \frac{\mu_{\max} C_{gf}}{K_m + C_{gf}} C_L + K_p C_{cd}^n, \quad (19)$$

Assim, tem-se:

$$\frac{dC_L}{dt} = \frac{\mu_{\max} C_{gf}}{K_m + C_{gf}} C_L + K_p C_{cd}^n \quad (20)$$

Onde;

C_{gf}	Concentração de glicose no fluido
C_{cd}	Concentração de células
C_L	Concentração celular no leito
K_p, K_m, n	Constantes de processo
m_{ef}	Concentração de etanol no interior da partícula
V	Volume do reator
$\mu_{\max}$	Velocidade específica máxima

Na Equação 21, a primeira parcela é resultante do crescimento celular das células livres e a segunda parcela origina-se do desprendimento da própria partícula, sendo K_p e n constantes que dependem fundamentalmente do processo utilizado para a confecção da partícula e da operação do fermentador (resistência a estresse, etc.). Pelos resultados experimentais apresentados nesse estudo, que não reutilizou partículas em fermentações subseqüentes, a contribuição do número de células por desagregação de partículas pode ser negligenciada, mantidos os níveis operacionais conforme investigado.

A avaliação do comportamento do substrato e produto para o sistema pode ser descrita pelos balanços:

Balanço de Etanol:

$$\frac{VdC_{ef}}{dt} = Y_{P/c} \frac{\mu_{\max} C_{gf}}{K_m + C_{gf}} C_L V + \dot{m}_{ef} ; C_{ef}(0) = 0 \quad (21)$$

onde $\dot{m}_{ef}$ é a quantidade de etanol, gerada no interior da partícula, e que foi transferido para a fase *bulk* do fermentador. Esse termo pode ser descrito conforme comumente feito na literatura de transferência de massa, nesse caso, $\dot{m}_{ef}$ é proporcional a $(P - P_o)$, ou seja $\dot{m}_{ef} \propto (P - P_o)$.

Balanço de Glicose:

$$\frac{VdC_{gf}}{dt} = -Y_{S/c} \frac{\mu_{\max} C_{gf}}{K_m + C_{gf}} C_L V - \dot{m}_{gf} ; C_{gf}(0) = C_{go} \quad (22)$$

onde $\dot{m}_{gf}$ é a quantidade de glicose consumida no interior da partícula, e que foi retirada da fase *bulk* do fermentador, nesse caso $\dot{m}_{gf} \propto (C_{gf} - S)$, $C_{gf} = S_o$.

Evidentemente o modelo pode ser facilmente ajustado para considerar expressões cinéticas de fermentação de glicose com *Saccharomyces cerevisiae* mais complexas. Os balanços dentro da partícula podem ser expressos por:

Balanço dentro da Partícula

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D \frac{dS}{dr} \right) - R_s \quad (23)$$

$$\frac{\partial P}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_p \frac{dP}{dr} \right) + R_s \quad (24)$$

Onde S e P são as concentrações de glicose e etanol no interior da partícula. As condições de contorno para caso de coeficientes de transferência de massa nas vizinhanças externas à partícula dadas por k_L , são descritas por:

$$\text{Em } r=0, \frac{dS}{dr} = \frac{dP}{dr} = 0 \quad (25)$$

$$\text{Em } r=R, D \frac{dS}{dr} = k_L (S_o - S) \text{ e } D_p \frac{dP}{dr} = k_L (P_o - P) \quad (26)$$

O conjunto de equações descrevendo o modelo desse sistema, embora não seja simples, ainda é tratável de um ponto de vista numérico, necessitando, entretanto, de parâmetros cinéticos, de operação e internos à partícula. A simulação e validação do modelo proposto, bem como a avaliação dos resultados experimentais, serão deixadas como sugestão de continuidade desse trabalho e uma possível analogia com a formação de biofilme será realizada.

2. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de bolsa de pesquisa

3. REFERÊNCIAS

- BATISTA, M.A. Estudo da imobilização de células de *saccharomyces cerevisiae* em gel de alginato de cálcio no processo de fermentação alcoólica, Uberlândia, 2005. 115p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia.
- VILLADSEN, J.V. E MICHELSEN, M. L. *Solution of Differential Equation Models by Polynomial Approximation*, Prentice Hall. (1978).
- FERREIRA, R.S. *Coeficientes de partição de solutos em gel contendo microrganismos imobilizados*, São Carlos, 1986. 69p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos.

SIMULATION OF MATHEMATICAL MODELS FOR THE BEHAVIOR OF IMMOBILIZED CELLS IN GEL

Márcio de Andrade Batista¹; **Louriel Oliveira Vilarinho**²

Universidade Federal de Uberlândia

Av. João Naves de Ávila, 2160 - Campus Santa Mônica - Bloco 1M - Uberlândia/MG

CEP: 38400-902 - Fone: (34) 3239 4148/4192/4150 - Fax: (34) 3239 4206

Email: engandrade10@gmail.com; vilarinho@mecanica.ufu.br

3- Doutorando do programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica

4- Professor Doutor do programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica

Abstract: The central objective of this work is to propose a contribution for the development of alternative technologies for the process and behavior of immobilization of cells. In this direction, a model proposal with the purpose to describe the conditions of immobilization of the *Saccharomyces cerevisiae* in alginate of calcium is presented. Mathematical aspects as well as aspects of simulation for a better comprehension of a system with the purpose to investigate important factors in the immobilization behavior are considered. It is still emphasized that this methodology is basic to create an analogy with the formation of *biofouling* involved in the process of induced corrosion for microorganisms.

Keywords: *Biofouling, Immobilization, Mathematical Model.*