

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GUILHERME FERREIRA DA SILVA

**SÍNTESE, MODELAGEM, SIMULAÇÃO E ANÁLISE TÉCNICA-ECONÔMICA DE
UMA PLANTA DE PRODUÇÃO DE UM BIOCATALISADOR HETEROGÊNEO
PARA OBTENÇÃO DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS**

Poços de Caldas/MG

2023

GUILHERME FERREIRA DA SILVA

**SÍNTESE, MODELAGEM, SIMULAÇÃO E ANÁLISE TÉCNICA-ECONÔMICA DE
UMA PLANTA DE PRODUÇÃO DE UM BIOCATALISADOR HETEROGÊNEO
PARA OBTENÇÃO DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Firmani Perna
Coorientadora: Dr^a. Andreza Ap. Longati

Poços de Caldas/MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Campus Poços de Caldas

Silva, Guilherme Ferreira da .

SÍNTESE, MODELAGEM, SIMULAÇÃO E ANÁLISE TÉCNICO-ECONÔMICA DE
UMA PLANTA DE PRODUÇÃO DE UM BIOCATALISADOR HETEROGÊNEO PARA
A OBTENÇÃO DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS / Guilherme Ferreira da Silva. -
Poços de Caldas, MG, 2024.

113 f. : il. -

Orientador(a): RafaelFirmani Perna.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal
de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. Análise técnica-econômica. 2. Frutossiltransferase. 3. Aspergillus
oryzae. 4. Modelagem e simulação. 5. fruto-oligossacarídeos. I. Perna,
RafaelFirmani, orient. II. Título.

GUILHERME FERREIRA DA SILVA

SÍNTESE, MODELAGEM, SIMULAÇÃO E ANÁLISE TÉCNICA-ECONÔMICA DE UMA PLANTA DE PRODUÇÃO DE UM BIOCATALISADOR HETEROGÊNEO PARA OBTENÇÃO DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química

Aprovada em: 08 de dezembro de 2023

Prof. Dr. Rafael Firmani Perna

Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dr. Andrew Milli Elias

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Prof. Dr. Marlus Pinheiro Rolemberg

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Firmani Perna, Professor do Magistério Superior**, em 08/12/2023, às 13:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1154342** e o código CRC **B45935C4**.

Dedico esta dissertação em memória de meu pai que sempre me apoiou e foi meu maior exemplo de trabalho e perseverança.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por permitir que mais esse sonho fosse realizado. Por me dar força e sabedoria ao longo de toda essa jornada.

Em segundo lugar, aos meus pais, Joarez e Angelizia, e ao meu irmão Gustavo, por terem me dado apoio e condições para que chegasse até aqui, além de não medirem esforços por mais essa realização.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Firmani Perna, pelo seu profissionalismo, pela confiança depositada em mim, por todo apoio e incentivo dedicado durante toda a elaboração deste trabalho.

A minha coorientadora, Dr^a. Andreza Aparecida Longati, por todo suporte, ensinamentos e “puxões de orelha”. Sem você esse sonho não seria realidade.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT/SP) pelo fornecimento da cepa microbiana e auxílio na realização das análises laboratoriais.

Aos colegas e amigos do mestrado, por todo apoio, ensinamentos, conselhos e pela amizade. Em especial, a Mariana, por todo companheirismo e parceria ao longo dessa jornada.

A todos os membros do grupo de pesquisa em “Tecnologia Enzimática e Bioprocessos”, da UNIFAL-MG, que sempre estiveram dispostos a me ajudar.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, pelos conhecimentos fornecidos ao longo dos anos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa e pelo financiamento desse projeto de pesquisa (Processo APQ-00085-21), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro (CNPq – Processo 404912/2021-4).

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são açúcares prebióticos de baixa caloria que promovem uma série de benefícios à saúde e nutrição humana e animal. Podem ser produzidos pela reação de transfrutossilacção em moléculas de sacarose, catalisada por enzimas frutossiltransferases (FTase E.C.2.4.1.9) aderidas às células microbianas. O uso da enzima solúvel na produção de FOS pode causar instabilidade na estrutura tridimensional quando isolado do seu ambiente natural e possível perda de atividade devido às condições do processo ou inibição pelo substrato e/ou produto. Com isso a imobilização de células em materiais de suporte permite obter biocatalisadores heterogêneos robustos com elevada atividade, especificidade e seletividade, ao passo que a reticulação das células imobilizadas permite produzi-los com maior estabilidade operacional, possibilitando a aplicação em sistemas reacionais contínuos. As esponjas de poliuretano (EPU) são suportes indicados para a imobilização de células por apresentarem estabilidades térmica e mecânica, além de tamanho e distribuição de poros que possibilitam a difusão gasosa e de substrato, essenciais para o crescimento microbiano. Neste contexto, propõe-se realizar a síntese, modelagem, simulação, análise técnica-econômica (ATE) e de sensibilidade de uma planta de produção de biocatalisadores heterogêneos visando a síntese de FOS a partir de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301, com atividade de transfrutossilacção, imobilizadas em cubos de EPU. As simulações foram realizadas no *software* EMSO para os cenários envolvendo células imobilizadas e reticuladas em EPU (Cenário A) e apenas para células imobilizadas em EPU (Cenário B) mediante o processamento de 4,5 kg/h de sacarose VHP (*Very High Polarization*) utilizada como substrato. No cenário A foram obtidos 2,776 kg/h do biocatalisador heterogêneo com gasto energético de 6,298 kW, enquanto no cenário B foram produzidos 2,789 kg/h do biocatalisador com gasto energético de 6,167 kW. Para ambos os cenários, obteve-se uma produtividade de 2,812 kg/m³.h do biocatalisador heterogêneo. Os processos apresentaram elevados custos de produção, acarretando um preço mínimo de venda maior que o valor proposto de 420 US\$/kg para o cenário A (437,285 US\$/kg) e 210 US\$/kg para o cenário B (376,296 US\$/kg). Além disso, ambos os cenários obtiveram um VPL negativo, tornando os processos inviáveis do ponto de vista econômico. Nas análises de sensibilidade, constatou-se que o cenário B necessita de uma grande alteração no preço de venda para ser economicamente viável. Entretanto, pequenas alterações nas variáveis do cenário A possibilitam tornar o processo viável, visto que as células imobilizadas e reticuladas em EPU apresentam maior atividade enzimática e, portanto, impactam positivamente no aumento da produção de FOS.

Palavras-chave: análise técnica-econômica; frutossiltransferase; *Aspergillus oryzae*; modelagem e simulação; fruto-oligossacarídeos.

ABSTRACT

Fructooligosaccharides (FOS) are low-calorie prebiotic sugars that promote a series of benefits to human and animal health and nutrition. They can be produced by the occurrence of transfructosylation in sucrose molecules, catalyzed by fructosyltransferase enzymes (FTase E.C.2.4.1.9) adhered to microbial cells. The immobilization of cells on support materials allows to obtain robust heterogeneous biocatalysts with high activity, specificity and selectivity, while the cross-linking of immobilized cells allows them to be produced with greater operational stability, enabling their application in continuous reaction systems. Polyurethane sponges (EPU) are suitable supports for cell immobilization as they have thermal and mechanical stability, in addition to the size and distribution of pores that enable gaseous and substrate diffusion, essential for microbial growth. One of the main challenges encountered when implementing a biocatalyst production plant, aiming to synthesize FOS in Brazil, is related to its production stage. Therefore, the use of immobilized microbial cells, with enzymatic activity, can become a feasible alternative for industrial application. In this context, it is proposed to carry out the synthesis, modeling, simulation, technical-economic analysis (TEA) and sensitivity of a heterogeneous biocatalyst production plant aiming at the synthesis of FOS from *Aspergillus oryzae* IPT-301 cells, with activity of transfructosylation, immobilized in EPU cubes. The simulations were carried out in the EMSO software for scenarios involving cells immobilized and cross-linked in EPU (Scenario A) and only for cells immobilized in EPU (Scenario B) through the processing of 4.5 kg/h of VHP (Very High Polarization) sucrose. used as substrate. In scenario A, 2.776 kg/h of the heterogeneous biocatalyst were obtained with an energy expenditure of 6.298 kW, while in scenario B 2.789 kg/h of the biocatalyst were produced with an energy expenditure of 6.167 kW. For both scenarios, a productivity of 2.812 kg/m³.h of the heterogeneous biocatalyst was obtained. The processes presented high production costs, resulting in a minimum sales price higher than the proposed value of 420 US\$/kg for scenario A (437,285 US\$/kg) and 210 US\$/kg for scenario B (376,296 US\$/kg). Furthermore, both scenarios had a negative NPV, making the processes unfeasible from an economic point of view. In sensitivity analyses, it was found that scenario B requires a large change in the sales price to be economically viable. However, small changes in the variables of scenario A make it possible to make the process viable, since the cells immobilized and cross-linked in EPU have greater enzymatic activity and, therefore, have a positive impact on the increase in FOS production.

Keywords: technical-economic analysis; fructosyltransferase; *Aspergillus oryzae*; modeling and simulation; fructooligosaccharides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas químicas da sacarose e dos principais compostos do FOS: (A) sacarose, (B) 1-kestose, (C) nistose, (D) β -frutofuranosilnistose	18
Figura 2 - Esquema simplificado para a síntese enzimática de FOS por meio da reação enzimática de transfrutossilação em moléculas de sacarose.....	20
Figura 3 - Reação enzimática de transfrutossilação	23
Figura 4 - Técnicas de imobilização celular	24
Figura 5 - Diagrama de blocos simplificado de uma biorrefinaria para produção de açúcar, energia, etanol e FOS por meio de células integras imobilizadas	31
Figura 6 - Fluxograma do processo de produção do biocatalisador heterogêneo reticulado	38
Figura 7 - Fluxograma do processo de produção do biocatalisador heterogêneo	41
Figura 8 - Categorias e subcategorias de estimativa de custos que são importantes para a análise de custos.	45
Figura 9 - Custo de operacional do cenário A e B da produção do biocatalisador heterogêneo.....	63
Figura 10 - PMV em função da variação do tempo de operação , CAPEX, OPEX, vazão mássica, concentração do biocatalisador, pressão e temperatura para o cenário A	67
Figura 11 - PMV em função da variação do tempo de operação , CAPEX, OPEX, vazão mássica, concentração do biocatalisador, pressão e temperatura para o cenário B	69
Figura 12 - VPL em função da variação da conversão (de 10% até 100%) e da variação do preço de venda do biocatalisador (de 100 US\$/kg até 2500 US\$/kg) do cenário A.....	70
Figura 13 - VPL em função da variação da conversão (de 10% até 100%) e da variação do preço de venda do biocatalisador (de 100 US\$/kg até 2500 US\$/kg) do cenário B.....	70

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1 - Microrganismos produtores de FTase E.C. 2.4.1.9</u>	22
<u>Tabela 2 - Relação de trabalhos na literatura abordando a imobilização de células microbianas em EPU aplicadas em diversos processos biotecnológicos</u>	28
<u>Tabela 3 - Componentes usados na simulação do processo de produção do biocatalisador heterogêneo</u>	36
<u>Tabela 4 - Os pressupostos econômicos utilizados</u>	44
<u>Tabela 5 - Custo das matérias-primas e insumos utilizados no processo</u>	47
<u>Tabela 6 - Custo das utilidades utilizadas no processo</u>	47
<u>Tabela 7 - Custos em relação aos processos de sólidos e fluidos</u>	51
<u>Tabela 8 - Comparação das variáveis de processo obtidos na simulação e no experimental</u>	53
<u>Tabela 9 - Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos do Cenário A</u>	55
<u>Tabela 10 - Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos da unidade de reticulação</u>	57
<u>Tabela 11 - Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos do Cenário B</u> ..	59
<u>Tabela 12 - Quantidade das utilidades usadas nos processos avaliados</u>	60
<u>Tabela 13 - Custo de capital do cenário A e B da produção do biocatalisador heterogêneo</u>	61
<u>Tabela 14 - Avaliação econômica dos cenários</u>	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATE	Análise técnico-econômica
CAPEX	<i>Capital Expenditure</i>
CEPCI	<i>Chemical Engineering Plant Cost Index</i>
CFC	Taxa de empreiteiros e contingência
CCI	Cultivo de células microbianas imobilizadas
CFS	Cultivo em fase sólida
CS	Cultivo submerso
DFC	Custo fixo direto
EMSO	<i>Environment for modeling, simulation and optimization</i>
EPR	Esponja de Poliuretano reticulada
EPU	Esponja de Poliuretano
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FTase	Frutossiltransferase
OPEX	<i>Operational Expenditure</i>
PBR	Reator de leito fixo
TIR	Taxa interna de retorno
TPC	Custo total da planta
TPDC	Custo direto total da planta,
TPIC	Custo total da planta indireto
VPL	Valor Presente Líquido
WC	Capital de giro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS.....	18
3.2	FRUTOSILTRANSFERASE E ATIVIDADE DE TRANSFRUTOSILAÇÃO	22
3.3	IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS MICROBIANAS COM ATIVIDADE ENZIMÁTICA	24
3.3.1	Reticulação de células microbianas	26
3.3.2	Suportes de imobilização	27
3.3.3	Esponja de poliuretano	27
3.4	FOS NO CONTEXTO DE BIORREFINARIAS	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	CASO BASE	34
4.2	<i>SOFTWARE</i> PARA MODELAGEM E SIMULAÇÃO DO PROCESSO.....	34
4.3	MODELAGEM MATEMÁTICA.....	35
4.3.1	Modelagem computacional	35
4.3.2	Lista de componentes	35
4.4	DESCRIÇÃO DO PROCESSO.....	36
4.4.1	Cenário (A) – Fluxograma PFD com a unidade de reticulação	36
4.4.2	Cenário (B) – Fluxograma PFD sem a unidade de reticulação	39
4.4.3	Biorreator	42
4.5	AVALIAÇÃO ECONÔMICA.....	42
4.5.1	Parâmetros econômicos	42
4.5.2	Despesas operacionais e de capital	45
4.6	ANÁLISE DE SENSIBILIDADE	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	VARIÁVEIS DE PROCESSOS.....	53

5.2	BALANÇOS DE MASSA E ENERGIA.....	54
5.3	AVALIAÇÃO ECONÔMICA.....	61
5.4	ANÁLISE DE SENSIBILIDADE.....	67
6	CONCLUSÃO	72
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	74
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A – MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIOCATALISADOR	96
	APÊNDICE B – PARÂMETROS USADOS NA SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIOCATALISADOR HETEROGÊNEO.....	110

1 INTRODUÇÃO

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são oligômeros de frutose constituídos, principalmente, por kestose, nistose e β -frutofuranosilnistose. Esses açúcares, de baixa caloria, são classificados como prebióticos, não são cariogênicos, podem ser consumidos seguramente por diabéticos, aumentam a absorção de cálcio e magnésio pelo organismo humano e, por não serem hidrolisados pelas enzimas gastrointestinais, promovem a seletividade bacteriana na microbiota intestinal, auxiliando na eliminação de microrganismos patogênicos e na prevenção do câncer de cólon (Jitonnom; Ketudat-Cairns; Hannongbua, 2018; Zhang *et al.*, 2017). Os FOS também auxiliam na redução dos níveis séricos totais de colesterol e no tratamento de doenças como a anemia, hipertensão arterial e insuficiência renal (Hayashi *et al.*, 1990; Hidaka *et al.*, 1986; Jitonnom; Ketudat-Cairns; Hannongbua, 2018; Passos; Park, 2003).

Os FOS podem ser produzidos mediante reação de transfrutossilacção de moléculas de sacarose, catalisadas por enzimas de origem microbiana como as frutossiltransferases (FTase, E.C.2.4.1.9), as quais apresentam elevada atividade de transfrutossilacção (Cunha *et al.*, 2019; Dias *et al.*, 2022; Faria *et al.*, 2021; Flores-Maltos *et al.*, 2014; Garcia *et al.*, 2021; Gonçalves *et al.*, 2020; Perna *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2023). As FTases são sintetizadas, majoritariamente, por fungos dos gêneros *Aureobasidium*, *Penicillium* e *Aspergillus* (Antosová *et al.*, 2008; Castro *et al.*, 2017), podendo ser secretadas para o meio de cultura (FTase extracelular) e/ou aderidas na parede celular do microrganismo (FTase micelial)(Oliveira, 2007). Especificamente, o *Aspergillus oryzae* IPT-301 tem sido reportado como fonte potencialmente produtora de ambas FTases, com elevada atividade de transfrutossilacção, dentre diversas linhagens de fungos filamentosos avaliadas (Cuervo-Fernández *et al.*, 2007).

A abundância da matéria-prima (sacarose), o alto valor comercial do produto de interesse (FOS), comercializado a €150/kg e, principalmente, o potencial de mercado mundial de FOS, estimado em US\$ 2,8 bilhões com perspectiva de crescimento anual de 5,0% entre os anos de 2021 e 2027, tornam a produção industrial atrativa para essa classe de açúcares com propriedades nutracêuticas (Absolutereports, 2021; Bedzo *et al.*, 2019; Choukade; Kango, 2021; Mordorintelligence, 2017) A produção de FOS tem se intensificado nos últimos anos

, principalmente na Europa, América do Norte e Ásia, sendo o Japão o maior mercado produtor e consumidor com demanda anual de 69 mil toneladas (Bedzo *et al.*, 2019), representando cerca de 24,72% do mercado mundial (Grandviewresearch, 2021; Marketwatch, 2022). Por sua vez, o Brasil ainda não oferece tecnologia eficaz para a sua produção em larga escala que corresponda à demanda existente, que é atualmente suprida por importações (Absolutereports, 2021)

Os maiores desafios para a produção em larga escala dos FOS são, principalmente, os custos relacionados à produção enzimática e ao rendimento reacional (Souza *et al.*, 2017). Além disso, a produção de FOS a partir da enzima solúvel pode causar instabilidade na estrutura tridimensional do biocatalisador quando isolado do seu ambiente natural e possível perda de atividade devido às condições do processo ou inibição pelo substrato e/ou produto (Lorenzoni *et al.*, 2015). Além disso, as enzimas solúveis contaminam o produto desejado e não podem ser recuperadas do meio reacional de forma ativa. Dessa forma, o uso de enzimas solúveis pode resultar em altos custos de síntese e purificação. Para que o processo tenha melhor desempenho e possa ser implementado em escala industrial, é importante a recuperação e reutilização dessas enzimas (Krajewska, 2004)

A aplicação de células íntegras imobilizadas, com atividade enzimática, pode se tornar uma alternativa promissora frente aos desafios mencionados. A imobilização consiste em confinar/aderir, física ou quimicamente, a célula microbiana a um suporte sólido insolúvel em meio aquoso ou solvente orgânico, obtendo-se um biocatalisador heterogêneo com elevada atividade, especificidade, seletividade e estabilidade (Dwevedi, 2016). Dessa forma, a imobilização tem sido considerada uma das técnicas mais consolidadas para tornar competitiva a aplicação de enzimas no setor industrial (Andrades, 2019; Souza *et al.*, 2017).

A aplicação de células imobilizadas permite obter biocatalisadores heterogêneos mais robustos e resistentes às mudanças do ambiente reacional, reutilizáveis e fáceis de serem separados do produto, além da possibilidade de implementar e conduzir processos contínuos e batelada (Sheldon, 2007; Souza *et al.*, 2017). Ressalta-se ainda que, a imobilização de células é considerada mais vantajosa que a de enzimas solúveis, visto que não há necessidade de extração e/ou purificação prévia da proteína, já que a própria estrutura da célula microbiana pode ser utilizada como suporte natural do biocatalisador. Inclusive, a imobilização de células por

encapsulação e reticulação têm possibilitado a preparação de biocatalisadores mais estáveis, com potencial aplicação em biorreatores de leito fixo e fluidizado para a produção de FOS (Dias *et al.*, 2022; Gonçalves *et al.*, 2020; Lorenzoni *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2023; Zambelli *et al.*, 2016).

As células microbianas imobilizadas podem, ainda, ser reticuladas mediante uso de reagentes que possibilitam a obtenção de um biocatalisador heterogêneo rígido e de maior resistência perante os agentes desnaturantes (calor, solventes orgânicos e pH extremos), além de minimizar o fenômeno de dessorção da enzima micelial, melhorar a adesão da célula ao suporte de imobilização e possibilitar o seu uso em diferentes configurações de reatores (Mendes *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2017). O glutaraldeído é um dos reagentes mais utilizados nos processos de reticulação, visto que permite obter biocatalisadores ativos e estáveis (Barbosa *et al.*, 2012; Mateo *et al.*, 2007).

Entre os diversos suportes reportados na literatura, matrizes poliméricas de esponja de poliuretano (EPU) têm sido identificadas como suportes promissores nos processos de imobilização de células microbianas com atividade enzimática (Kilonzo; Margaritis; Bergougou, 2011; Martinez *et al.*, 2015). As matrizes de poliuretano apresentam elevada área específica com interstícios para o crescimento celular, porosidade uniforme o que garante a troca gasosa, fluxo de substrato e produtos metabólicos, boa estabilidade mecânica, química, térmica e biológica, resistência à degradação enzimática, além de proporcionarem fácil imobilização e viabilidade para uso em escala industrial (Soares *et al.*, 2012).

Atualmente, o Brasil não dispõe de tecnologia para implantação de planta de produção de FOS e de biocatalisadores específicos para a sua produção em escala industrial, capaz de suprir a demanda nacional, atendida por importações. Além disso, não há registro na literatura a respeito de trabalhos que realizaram a modelagem, simulação e análise técnica-econômica (ATE) da produção do biocatalisador heterogêneo a partir da imobilização das células microbianas com atividade catalítica, embora haja grupos de estudos sobre sua produção. Dessa forma, realizou-se a síntese do processo, modelagem, simulação e ATE de uma planta de produção do biocatalisador heterogêneo obtido a partir da imobilização de células de *A. oryzae* IPT-301 em cubos de EPU visando a síntese de FOS.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a síntese, modelagem, simulação e ATE de uma planta de produção de biocatalisadores heterogêneos para a obtenção de FOS a partir de dados experimentais obtidos de células de *A. oryzae* IPT-301, com atividade biocatalítica, immobilizadas em cubos de EPU.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

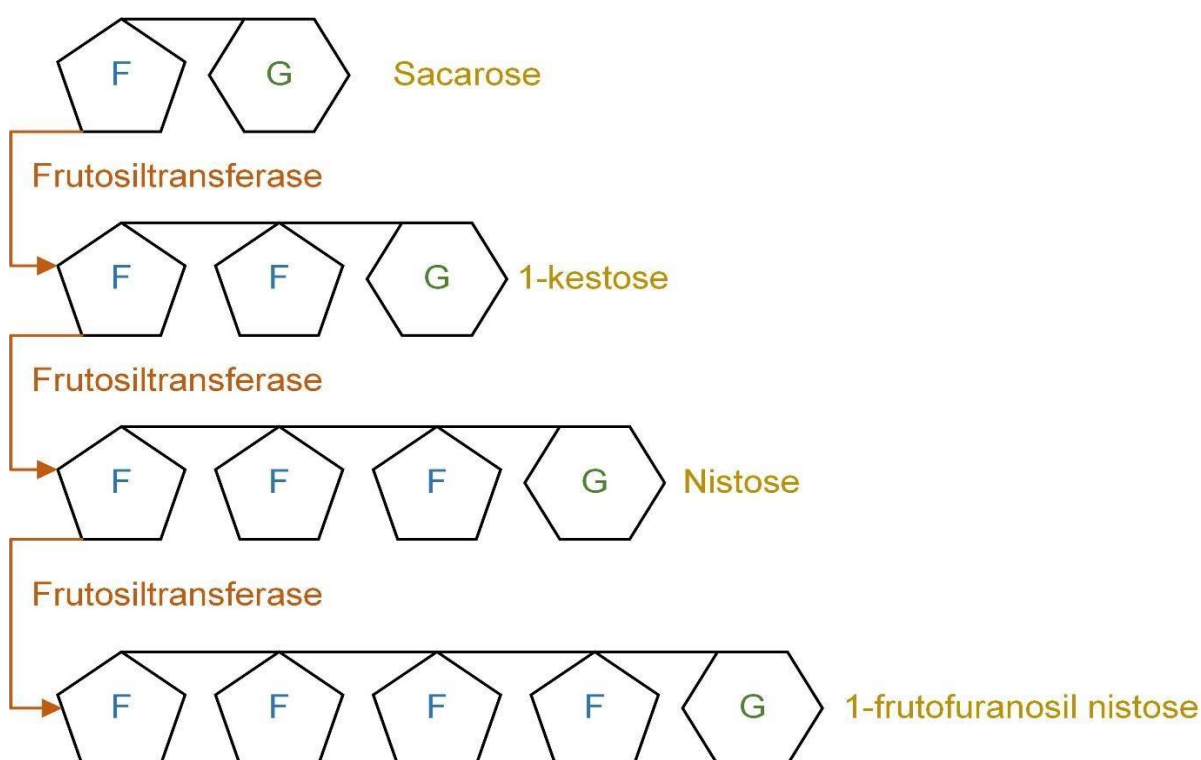
- a) Definir o caso base;
- b) Realizar a síntese do processo a ser implementado;
- c) Modelar e simular o processo de produção do biocatalisador heterogêneo;
- d) Estimar os custos de operação e de capital;
- e) Efetuar as análises técnica-econômica e de sensibilidade do processo;
- f) Avaliar e comparar os diferentes cenários do processo de produção do biocatalisador heterogêneo na ausência e presença da etapa de reticulação.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são oligossacarídeos pertencentes ao grupo dos frutanos, os quais podem ser encontrados na natureza. O termo FOS é utilizado para frutanos do tipo inulina que apresentam ou não um grupo terminal de glicose. Na composição dos FOS, de duas a nove unidades de frutose estão ligadas por meio de ligações β (2 \rightarrow 1) glicosídicas e a ligação com a glicose é do tipo α (1 \rightarrow 2), como ocorre na molécula de sacarose. Os FOS são encontrados, principalmente, nas formas de 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃) e β -frutofuranosilnistose (GF₄) (Antosová *et al.*, 2001; Franck, 2002; Singh *et al.*, 2010; Yun, 1996).

Figura 1 - Estruturas químicas da sacarose e dos principais compostos do FOS: (A) sacarose, (B) 1-kestose, (C) nistose, (D) β -frutofuranosilnistose

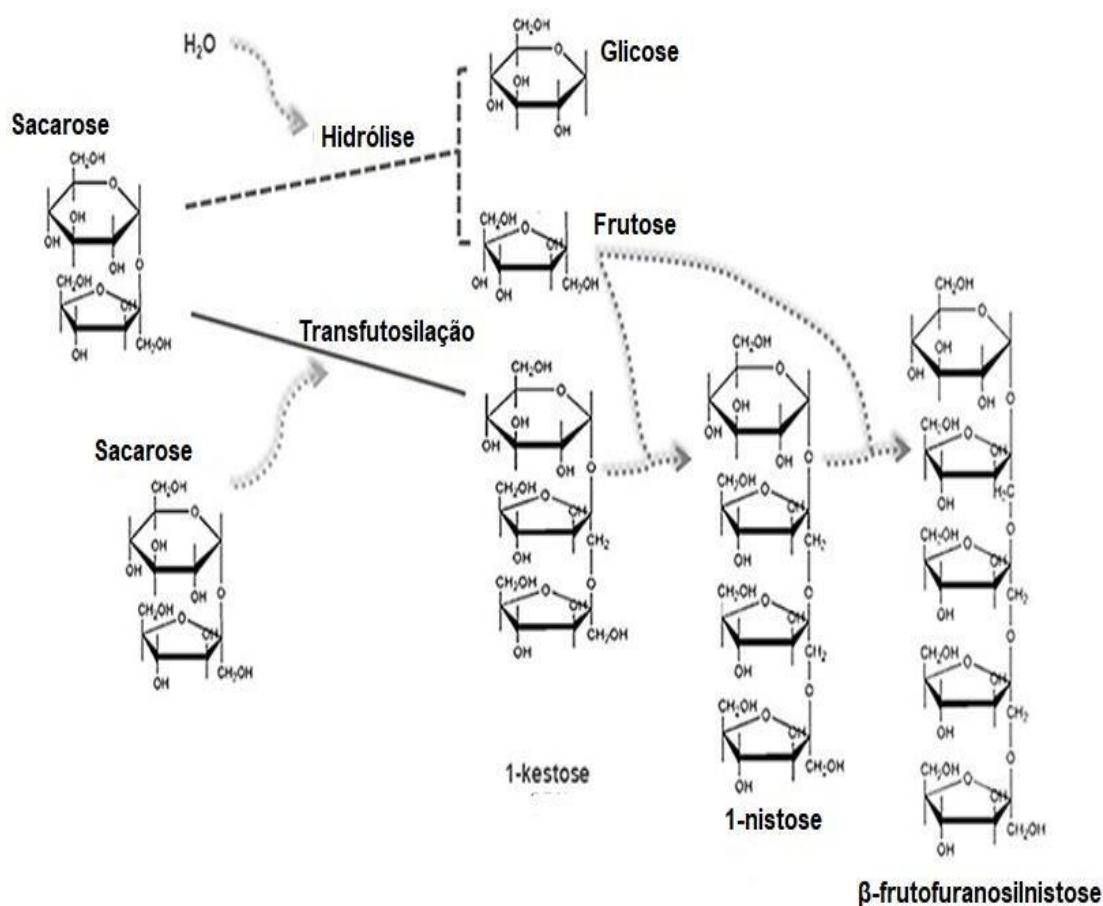


Fonte: Barbosa (2022, p. 20).

Os FOS são compostos de origem natural e podem ser encontrados em mais de 36 mil espécies de plantas, entre as quais destacam-se alcachofra, alho, aspargos, banana, beterraba, cebola, chicória, tomate, trigo e batata yacon (L'homme *et al.*, 2003; Mussatto *et al.*, 2007; Passos *et al.*, 2003). Além disso, a obtenção comercial dos FOS pode ocorrer a partir de fontes vegetais, seja por extração direta ou por hidrólise enzimática da inulina (Antosová *et al.*, 2001; Barbosa, 2007; Sangeetha *et al.*, 2005; Voragen, 1998).

A extração direta dos FOS a partir de fontes vegetais é economicamente inviável devido ao baixo rendimento e elevado custo do processo. Dessa forma, dentre os métodos comerciais, esse é o menos utilizado (Figuroa-gonzález *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2016). A extração dos FOS a partir da hidrólise enzimática da inulina pode ser realizada a partir de diferentes técnicas, tais como por difusão em água quente e ultrassom (Li *et al.*, 2015; Lingyun *et al.*, 2007). Para a produção dos FOS, a inulina sofre uma hidrólise enzimática realizada por enzimas inulinases, formando unidades lineares com duas a sete unidades de frutose com ou sem uma unidade de glicose terminal. As inulinases são classificadas em endo e exoinulinase, podendo ser obtidas a partir de tecidos de plantas e por microrganismos, respectivamente. No entanto, o uso de enzimas oriundas de plantas é limitado devido às condições sazonais e ao baixo rendimento. As endoinulinases hidrolisam aleatoriamente a inulina para a produção de uma mistura de FOS com diferentes graus de polimerização. Por outro lado, as exoinulinases hidrolisam a ligação $\beta(2 \rightarrow 1)$ a partir da extremidade não redutora da inulina (Courtin *et al.*, 2009; Morris *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2016; Voragen, 1998). Os FOS também podem ser obtidos por meio da reação enzimática de transfrutossilacção utilizando sacarose como substrato (Figura 2). Essa reação é catalisada por enzimas frutossiltransferases (FTase, E.C. 2.4.1.9) ou β -frutofuranosidases (Morris *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2016). As estruturas químicas dos produtos dessa reação dependem da origem das enzimas utilizadas na síntese (Antošová; Polakovič, 2001). De modo geral, os FOS são obtidos pelo processo de síntese enzimática e apresentam entre uma e cinco unidades de frutose (Maiorano *et al.*, 2020; Perna, *et al.*, 2018).

Figura 2 - Esquema simplificado para a síntese enzimática de FOS por meio da reação enzimática de transfrutoseilação em moléculas de sacarose.



Fonte: Adaptado de Martins *et al.*, (2019).

Os FOS possuem um sabor adoçante semelhante ao da sacarose, mas com 60% de doçura em relação ao dissacarídeo (Silva *et al.*, 2010). Devido a essa característica, podem substituir o açúcar parcial ou totalmente, se combinado com edulcorantes de alta intensidade, fornecendo um perfil de sabor balanceado e ocultando o sabor residual (Gonzalez-tomas *et al.*, 2008). Como possuem propriedades semelhantes às da sacarose, também podem ser usados para melhorar o “mouthfeel” (sensação bucal) dos produtos em que são adicionados, mas sem formar cristais (Meyer *et al.*, 2011; Tárrega *et al.*, 2011). Como não possuem sabores

indesejáveis e não alteram a viscosidade dos produtos, diferentemente de outras fibras, possibilitam o desenvolvimento de alimentos ricos em fibras, semelhantes aos originais. A sua alta solubilidade ainda permite que o FOS seja utilizado em produtos lácteos; isso aumenta a ação das culturas probióticas adicionadas, exercendo efeito simbiótico (Castro *et al.*, 2017; Damodaran *et al.* 2005; Damodaran *et al.*, 2010; Fortes; Muniz, 2009; Guisan, 2013;).

Os FOS apresentam baixa caloria (2,0 kcal/g) e baixo índice glicêmico (Santos-moriano *et al.*, 2015), já que dificilmente são hidrolisados pelas enzimas digestivas devido a configuração das ligações entre os grupos frutossil, (Mabel *et al.*, 2008; Saulnier *et al.*, 2007; Yun *et al.*, 1996). Li *et al.* (2013) reportaram ainda que existem evidências de melhoras cognitivas e efeitos protetivos ao cérebro relacionadas ao consumo de FOS. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os FOS podem ser utilizados desde que a recomendação de consumo diário do produto pronto para consumo forneça, no mínimo, 5 gramas do açúcar nutracêutico, sendo que a porção deve fornecer, no mínimo, 2,5 gramas. O uso do ingrediente não deve ultrapassar 30 gramas na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante (Anvisa, 2019).

Os FOS desempenham um papel importante na melhoria da microbiota intestinal e podem ser adotados como substituto da sacarose quando utilizados em alimentos cujo uso do dissacarídeo é restringido pela sua elevada doçura (Flores-Maltos *et al.*, 2014). Os FOS também podem ser consumidos seguramente por diabéticos, não sendo absorvidos pelo organismo humano. Desta forma, são fermentados no intestino grosso, estimulando as bactérias probióticas do trato intestinal (Dominguez *et al.*, 2014; Flores-Maltos *et al.*, 2014). Além disso, os FOS já demonstraram diversos outros benefícios para a saúde e nutrição humana, como auxílio na produção de ácidos graxos de cadeia curta pelas bactérias do cólon que geram, entre outros benefícios, o alívio da constipação e a diminuição do risco de câncer de cólon. O aumento da absorção de minerais como cálcio, magnésio, ferro e zinco também têm sido atribuído ao consumo dos FOS na alimentação. Nesse caso, esses minerais se ligam ao FOS e passam pelo trato gastrointestinal superior, chegando ao colón, região em que estes íons ficam disponíveis para a absorção (De Preter *et al.*, 2011; Frost, Sullivan, 2008; Mussatto; Mancilha, 2007; Sabater-Molina *et al.*, 2009; Sangueta *et al.*, 2005;).

3.2 FRUTOSILTRANSFERASE E ATIVIDADE DE TRANSFRUTOSILAÇÃO

A reação de transfrutosilação em moléculas de sacarose consiste em clivar as ligações do tipo β -(2→1), que liga a metade frutossil à metade glicosil da molécula, e transferir o grupo frutossil de um doador ativado para uma molécula aceptora apropriada, que pode ser sacarose ou outras moléculas de FOS. Como produto indesejado, é liberada uma molécula de glicose, conforme ilustrado na Figura 3 (Antosová *et al.*, 2008; Araújo *et al.*, 2021; Ganaie *et al.*, 2014; Ghazi *et al.*, 2005; Jung *et al.*, 1989; Yun *et al.*, 1996).

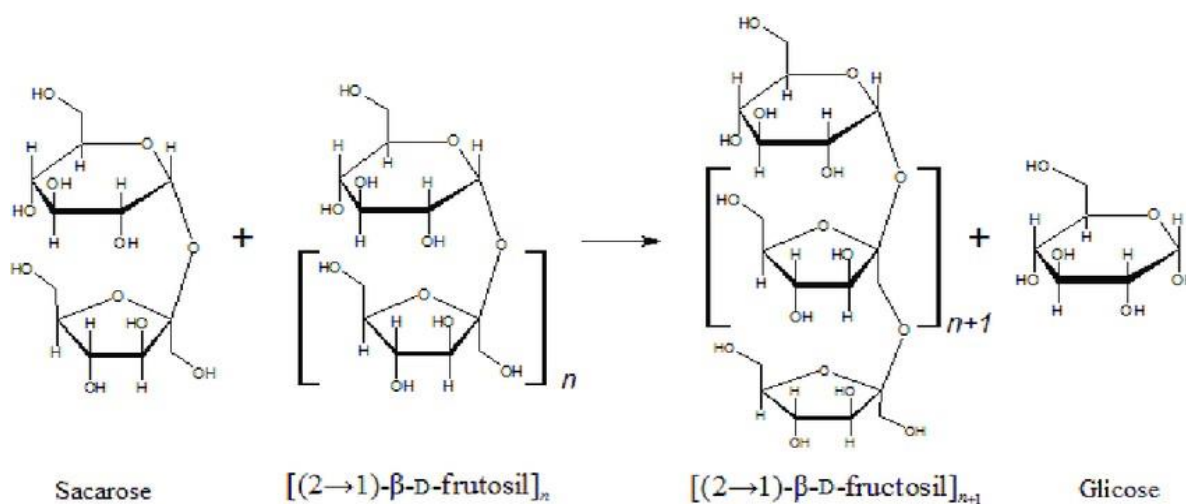
As principais fontes para obtenção da FTases são microbianas sintetizadas majoritariamente por bactérias e fungos listados na Tabela 1 (Brenda, 2018).

Tabela 1 - Microrganismos produtores de FTase E.C. 2.4.1.9.

Microrganismo	
<i>Aspergillus japonicus</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i> NCC 533
<i>Aspergillus japonicus</i> FCL 119T	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Aspergillus japonicus</i> JN19	<i>Lactobacillus reuteri</i> 121
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i> TMW1.106
<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Leuconostoc citreum</i>
<i>Aspergillus oryzae</i> CRF 202	<i>Leuconostoc citreum</i> CW2.
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Leuconostoc citreum</i> CW28
<i>Aureobasidium pullulans</i> CFR77	<i>Paenibacillus macerans</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i> KCCM12017	<i>Paenibacillus macerans</i> EG-6
<i>Aureobasidium</i> sp	<i>Paenibacillus macerans</i> EG-7
<i>Helianthus tuberosus</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Penicillium citrinum</i> FERM P-15944
<i>Lactobacillus gasseri</i> DSM 20604	<i>Penicillium purpurogenum</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Thermothelomyces heterothallica</i>

Fonte: adaptado de Brenda, (2018).

Figura 3 - Reação enzimática de transfrutossilacção.



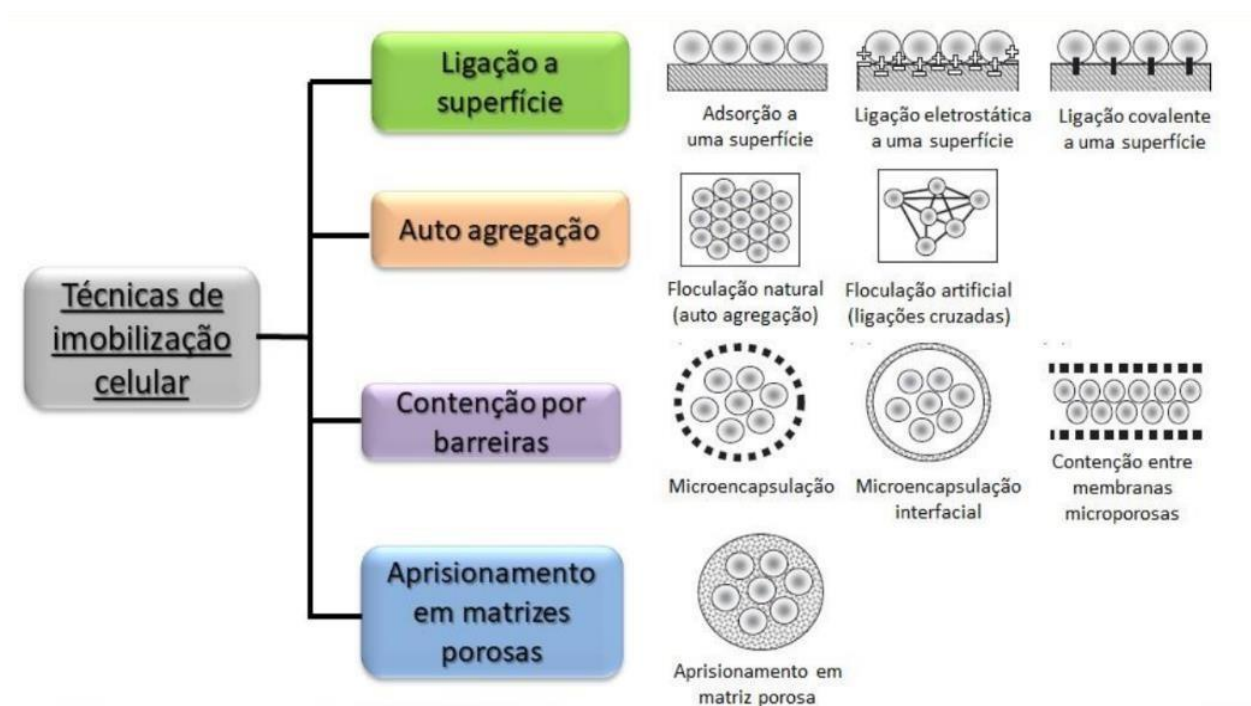
Fonte: Cunha (2017, p. 25).

Ressalta-se que esse trabalho é baseado na aplicação de células de *A. oryzae* IPT-301, o qual apresentou a maior atividade de transfrutossilacção dentre as linhagens de fungos filamentosos avaliadas (Cuervo-Fernández *et al.*, 2007; Ottoni *et al.*, 2012). Cuervo-Fernández *et al.* (2007) compararam dezessete cepas diferentes de fungos filamentosos que foram cultivadas em meio sintético para comparar suas capacidades de produção de enzimas com potencial atividade de transfrutossilacção. Os fungos *A. oryzae* IPT-301, *A. niger* ATCC 20611 e a linhagem IPT-615, apresentaram alta produção com atividade de frutossiltransferase superior a 450 U g^{-1} . Portanto, o uso dessas células como biocatalisadores proporciona, ao meio reacional, os sítios ativos imobilizados da enzima no seu suporte natural (parede celular do micro-organismo), oferecendo redução de custos, possibilitando aprimorar seu desempenho em reações enzimáticas e melhorar o controle do processo em operação contínua, aumentando, assim, a estabilidade operacional e facilitando a separação do biocatalisador do meio reacional por filtração (Cunha *et al.*, 2019; Dias *et al.*, 2022; Perna *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2023).

3.3 IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS MICROBIANAS COM ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Os processos biotecnológicos são favorecidos por técnicas de imobilização celular (Figura 4), que podem ser agrupadas em quatro grupos a depender da técnica físico-química empregado (Kourkoutas *et al.*, 2004).

Figura 4 - Técnicas de imobilização celular.



Fonte: Adaptado de Kourkoutas *et al.* (2004, p. 5).

A produção industrial de bioprodutos enzimáticos envolve três etapas: (i) a produção e purificação da enzima e/ou biomassa catalítica, mediante processos fermentativos e de separação; (ii) a imobilização da enzima e/ou da biomassa catalítica para maior estabilidade térmica, operacional e frente ao pH, utilizando-se diferentes técnicas como encapsulação e adsorção; e, (iii) a otimização das condições de reação envolvendo, principalmente, a avaliação dos efeitos da concentração de substrato, pH e temperatura na atividade enzimática de modo a se obter um biocatalisador robusto, com maior seletividade e especificidade ao substrato (Detofol *et al.*, 2015; Dwevedi *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2017).

O uso de enzimas requer a recuperação e a reutilização destas para tornar o processo economicamente viável (Souza *et al.*, 2017). A produção de FOS com FTase solúvel pode gerar altos custos de síntese e purificação da enzima, instabilidade da sua estrutura tridimensional quando isolada do seu ambiente natural e possível perda de atividade devido às condições do processo ou inibição pelo substrato e/ou produto. Além disso, as enzimas solúveis contaminam o produto desejado e não podem ser recuperadas do meio reacional de forma ativa (Krajewska, 2004).

Portanto, a aplicação de células microbianas (biomassa com atividade catalítica) imobilizadas pode se tornar uma alternativa promissora frente às problemáticas levantadas. A imobilização consiste em confinar/aderir, física ou quimicamente, a célula microbiana a um suporte sólido insolúvel e inerte em meio aquoso ou solvente orgânico, obtendo-se um biocatalisador heterogêneo com elevada atividade, especificidade, seletividade e estabilidade (Dwevedi, 2016). Desta forma, a imobilização tem sido considerada a técnica mais promissora para tornar competitiva a aplicação de enzimas no setor industrial (Souza *et al.*, 2017).

A aplicação da biomassa catalítica imobilizada permite obter biocatalisadores heterogêneos mais robustos e resistentes às mudanças do ambiente reacional (aumento da estabilidade enzimática), reutilizáveis e fáceis de serem separados do produto, além da possibilidade de implementar e conduzir processos contínuos e batelada (Sheldon, 2007; Souza *et al.*, 2017). Ressalta-se ainda que, a imobilização de células, com atividade enzimática, é considerada mais vantajosa quando comparada à de enzimas, visto que não há necessidade de extração e/ou purificação prévia da proteína, já que a própria estrutura da biomassa pode ser utilizada como suporte natural do biocatalisador. Inclusive, a imobilização de células por encapsulação e reticulação tem possibilitado a preparação de biocatalisadores mais estáveis, com potencial aplicação em biorreatores de leitos fixo e fluidizado para a produção de FOS (Dias *et al.*, 2022; Gonçalves *et al.*, 2020; Lorenzoni *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2023; Zambelli *et al.*, 2016).

As células microbianas imobilizadas podem, ainda, ser reticuladas mediante uso de reagentes que possibilitam a obtenção de um biocatalisador heterogêneo rígido e de maior resistência perante os agentes desnaturantes (calor, solventes orgânicos e pH extremos), além de minimizar o fenômeno de dessorção da enzima micelial, melhorar a adesão da célula ao suporte de imobilização e possibilitar o seu uso em diferentes configurações de reatores (Mendes *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2017).

O glutaraldeído é um dos reagentes mais utilizados nos processos de reticulação, visto que permite obter biocatalisadores ativos e estáveis (Barbosa *et al.*, 2012; Garcia *et al.*, 2021; Mateo *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2023). Castro *et al.*, (2017) e Mussatto *et al.*, (2009) estudaram a imobilização de células de *Aspergillus japonicus* ATCC 20236 e *Aureobasidium pullulans* em esponja de poliuretano, fibras vegetais, peneiras moleculares e espumas de vidro e reportaram os maiores rendimentos de FOS para células imobilizadas em espuma de poliuretano reticulada e de alta porosidade.

3.3.1 Reticulação de células microbianas

A reticulação entre as células consiste na formação de um aglomerado celular, de forma natural ou induzida artificialmente por meio de agentes químicos que promovam ligações cruzadas entre as células, chamados de agentes de reticulação (agentes “*cross-linking*”). Este método possui a vantagem do baixo custo por não exigir, necessariamente, o uso de um suporte sólido para a imobilização e proporcionar alta estabilidade enzimática da célula microbiana (Canilha; Carvalho; Silva, 2006; Cruz *et al.*, 2012; Long *et al.*, 1996; Soccol; França; Resende, 2016).

O agente de reticulação consiste em uma molécula que apresente, no mínimo, duas extremidades reativas que se ligam a grupos específicos de aminoácidos na superfície da enzima. Os reagentes de reticulação, disponíveis comercialmente, podem ser classificados quanto aos grupos reativos presentes em suas extremidades (homobifuncional e heterobifuncional), a especificidade de seus grupos reativos, o comprimento do braço espaçador (“*space arm*”) e sua solubilidade e reatividade (Fernandez-Lafuente *et al.*, 2012; Souza, 2017).

Dentre os agentes de reticulação, o glutaraldeído se destaca como um dos reagentes mais empregados na ativação de suportes devido à simplicidade dos métodos de ativação e obtenção de preparações enzimáticas ativas e estáveis. Nesse caso, a molécula de glutaraldeído reage com o suporte e a enzima, e estas são imobilizadas covalentemente no suporte por reação com seus grupos aminos (α -NH₂ da cadeia terminal, ϵ -NH₂ da lisina e/ou NH₂ proveniente de amina química), que se ligam aos grupos aldeídos do suporte, formando as bases de *Schiff* (Barbosa *et al.*, 2012; Mateo *et al.*, 2007;).

Diversos fatores devem ser analisados para garantir a insolubilidade da enzima e consequente sucesso da imobilização, como a proporção entre concentração

enzimática e de glutaraldeído, o pH, a temperatura e o tempo reacional. Alguns autores sugerem, ao término da reação de imobilização com glutaraldeído, uma etapa de redução das bases de *Schiff* reversíveis em ligações de aminoácidos secundárias mais estáveis e redução dos grupos de aldeído não reagidos para grupos inertes. Ambas as reduções podem ser promovidas por meio da reação com borohidreto de sódio (Migneault *et al.*, 2004b; Rueda *et al.*, 2016).

3.3.2 Suportes de imobilização

A maior contribuição para o bom desempenho da célula microbianas e/ou enzima imobilizadas é dada pelo suporte e, apesar de existirem diferentes materiais que podem ser aplicados na imobilização, a sua escolha dependerá, essencialmente, das características peculiares das células e/ou enzima e das condições de uso da biomolécula imobilizada. Os principais atributos a serem observados na seleção de um suporte para determinada aplicação são: área específica, permeabilidade, insolubilidade, capacidade de regeneração, morfologia e composição, natureza hidrofílica ou hidrofóbica, resistência ao ataque microbiano, resistência mecânica, custo, dentre outros (Canilha; Carvalho; Silva, 2006; Corcuera *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011;).

De acordo com sua origem, os suportes podem ser classificados como materiais orgânicos e inorgânicos. Quanto à sua morfologia, podem ser porosos, não porosos e de estrutura em gel. Os materiais porosos apresentam como principal vantagem uma elevada área específica interna disponível para a imobilização de células e/ou enzimas (Araujo, 2021). É importante atentar para o diâmetro dos poros do suporte, pois estes devem ser suficientemente grandes para acomodar a enzima e/ou células e permitir o acesso do substrato. Os materiais orgânicos, em especial os polímeros, que podem ser naturais ou sintéticos, são uma classe de suportes muito importantes no campo da imobilização de biocatalisadores. Os polímeros sintéticos exibem variedades de formas físicas e estruturas químicas que podem ser combinadas para formar um suporte de acordo com as características desejadas (Souza *et al.*, 2017).

3.3.3 Esponja de poliuretano

As esponjas de poliuretano (EPU) vêm sendo utilizadas como suportes para a imobilização de células microbianas devido à sua disponibilidade, baixo custo e, principalmente, devido a suas propriedades envolvendo resistência mecânica e elasticidade (Souza *et al.*, 2017). Esses suportes também têm se destacado por apresentarem (i) elevada área específica com interstícios para o crescimento celular, (ii) porosidade uniforme, garantindo a difusão gasosa, fluxo de substrato e produtos metabólicos, (iii) boa estabilidade mecânica, química, térmica e biológica, assim como resistência à degradação enzimática, (iv) além de proporcionarem imobilização fácil e viável para uso em escala industrial (De ory *et al.*, 2004).

Além dessas características, a EPU pode ser considerado como um suporte de imobilização promissor devido a sua flexibilidade de síntese, sendo possível obter esponjas hidrofílicas e hidrofóbicas, o que facilita sua utilização em processos biocatalíticos conduzidos em meios orgânico ou aquoso. Dependendo do sistema reacional, é possível aproveitar a característica de sorção das esponjas flexíveis a fim de promover a transferência de massa de substratos até o microrganismo (Dacewicz; Grzybowska-pietras, 2021; Kaushiva *et al.*, 2000). A Tabela 2 apresenta o uso de EPU, como suportes de imobilização, de células microbianas para aplicação em diferentes processos biotecnológicos.

Tabela 2 - Relação de trabalhos na literatura abordando a imobilização de células microbianas em EPU aplicadas em diversos processos biotecnológicos.

Microrganismo	Aplicação	Referência
<i>Trichoderma reesei</i>	Produção de celulases por células fúngicas imobilizadas	Qin zhang <i>et al.</i> , 2009.
<i>A. niger</i>	Estudo comparativo da produção de ácido glucônico por células fúngicas <i>in natura</i> e imobilizadas.	Mukhopadhyia <i>et al.</i> , 2005
<i>Acetobacter aceti</i>	Otimização das condições de imobilização para a produção de vinagre.	De ory <i>et al.</i> , 2004.
<i>A. terreus</i>	Remoção de metais pesados de efluentes de indústrias metalúrgicas	Dias <i>et al.</i> , 2001
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Utilização da EPU para a absorção do óleo contido na superfície da água e uso	Oh; Maeng; Kim, 2000.

	do microrganismo imobilizado para a degradação do óleo.	
<i>Nematoloma sp</i>	Estudo comparativo entre células <i>in natura</i> e imobilizadas para a produção de enzimas ligninolíticas extracelulares.	Rogalski; Szczodrak; Janusz, 2006
Consortio de micro-organismos	Produção de biofiltros para degradação de compostos orgânicos voláteis.	Acosta <i>et al.</i> , 2012

Fonte: Adaptado de SOARES (2012).

As esponjas de poliuretano (EPU) comerciais vêm sendo utilizadas como matrizes para imobilização de células em diversos estudos envolvendo, por exemplo, a produção de biodiesel derivados de *Rhizopus oryzae* (Hama *et al.*, 2004), *Pseudomonas fragi* (Schuepp *et al.*, 1997), *Penicillium cyclopium* (Legier e Comeau, 1992), *Aspergillus niger* (Xiao *et al.*, 2010; Romeroe *et al.*, 2012) e *Mucor circinelloides* (Antczak *et al.*, 2002). Este polímero também apresenta um alto nível de porosidade (próximo de 97%) e uma grande superfície de adsorção que reduz as limitações de difusão de oxigênio, fator importante para o crescimento de microrganismos aeróbicos (De Orye, 2006). Diversos trabalhos têm descrito os modos pelas quais os microrganismos podem colonizar EPUs em culturas obtidas em escala laboratorial. Geralmente, as células imobilizadas no suporte podem desenvolver um biofilme espesso e denso na superfície do material ou, então, podem aderir aos poros do suporte de imobilização (Dacewicz; Grzybowska-pietras, 2021; Mussatto *et al.*, 2009; Soares *et al.*, 2012; Varesche *et al.*, 2021).

3.4 FOS NO CONTEXTO DE BIORREFINARIAS

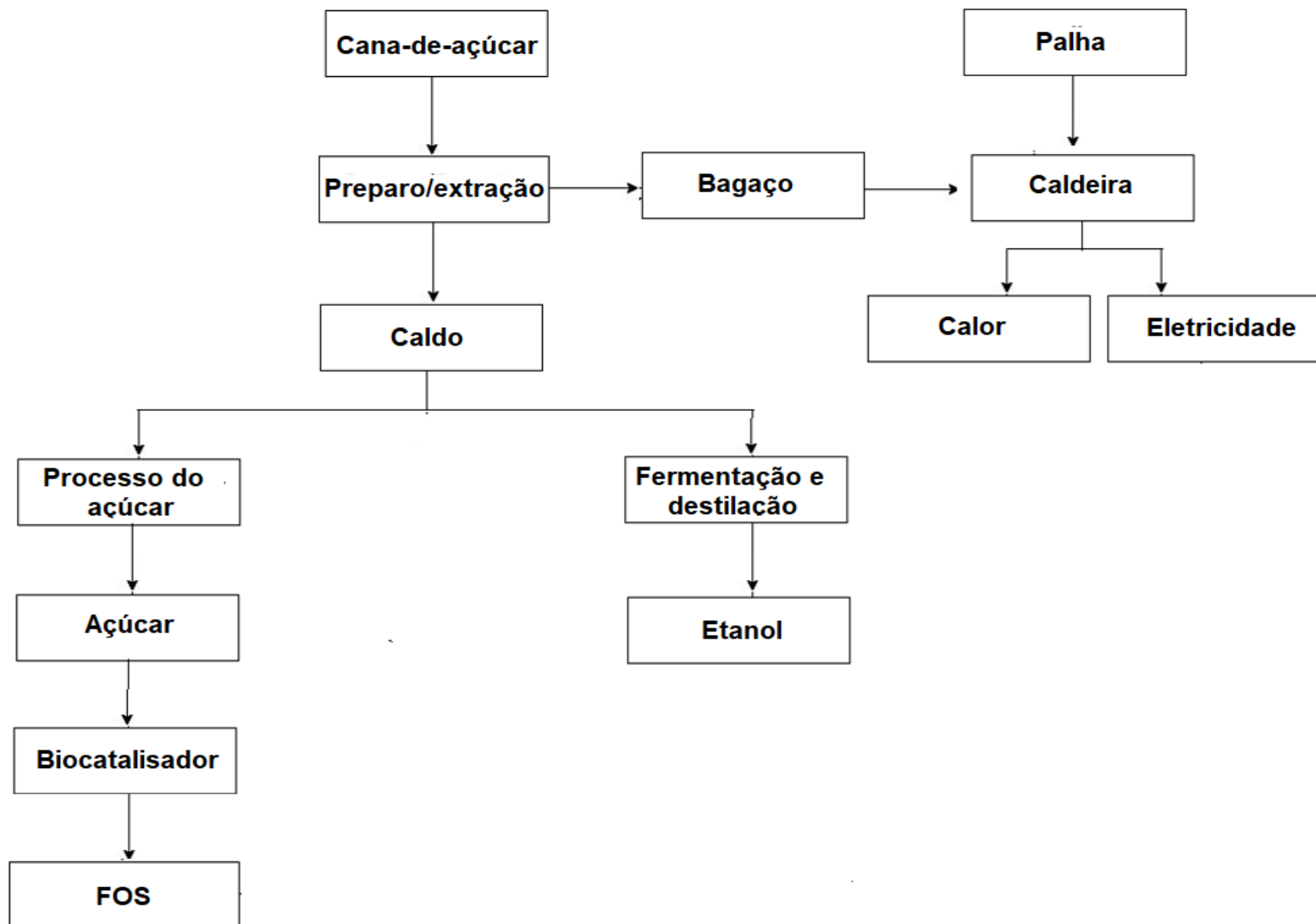
As biorrefinarias são instalações industriais que têm como principal função a conversão da biomassa em biocombustíveis, insumos químicos, materiais, alimentos, rações e energia (Holm-Nielsen; Ehimen, 2014). Assim, o objetivo de uma biorrefinaria é otimizar o uso de recursos e minimizar os efluentes, maximizando os benefícios. Além disso, estudos diversos apontam as biorrefinarias como indústria-chave do século XXI, com papel essencial na nova revolução industrial, em virtude da importância das tecnologias que empregam e dos efeitos sobre o paradigma industrial (Ramos, 2022; Santos; Tavares, 2022). Segundo Embrapa (2021) uma biorrefinaria

tem capacidade de promover um crescimento econômico sustentável e uma transformação das economias rurais, pois introduzem uma grande quantidade de bioprodutos no mercado, transformando resíduos industriais em eletricidade, materiais e combustíveis.

No Brasil, tem-se bem estabelecidas as biorrefinarias de cana-de-açúcar e de soja. A primeira tem como principais produtos açúcar, etanol e bioeletricidade e a segunda tem como principais produtos óleo de soja, rações, biodiesel e diversos outros possíveis derivados (Embrapa, 2021). As instalações de biorrefinaria de cana-de-açúcar tem a capacidade de fornecer bioenergias e bioprodutos. As bioenergias incluem biocombustíveis de baixo valor e alto volume, como etanol, eletricidade e calor (Longati *et al.*, 2018). Os bioprodutos são preferencialmente de alto valor, mas obtidos em baixos volumes e incluem biofármacos de altíssimo valor. Os bioprodutos de alto valor são destinados a aumentar a rentabilidade das biorrefinarias enquanto os biocombustíveis de alto volume, bioenergia e biocalor são gerados com um baixo custo de energia para uso interno e fornecem receitas adicionais. Os bioprodutos que podem ser derivados da biomassa dependem principalmente das características da matéria-prima e rotas de processamento empregada (Budzianowski, 2017).

Os FOS são bioprodutos de alto valor e que atrai a atenção comercial porque com tecnologias inovadoras a expectativa é que possam ser obtidos a um custo razoável, garantindo assim uma margem de lucro significativa (Costa, 2015; Mussato; Mancilha, 2007; Mussato *et al.*, 2009;). Além disso, a produção de FOS pode ser inserida no contexto das biorrefinarias em uma produção anexa (Figura 5). Entretanto, os FOS provavelmente não podem ser obtidos em grandes volumes, uma vez que aparecem em baixas concentrações na biomassa ou são obtidos via rotas de conversão sofisticadas com quantidades notáveis de subprodutos. Além disso, as conversões de açúcar em FOS consome muita energia e insumos, o que aumenta os custos de produção (Dodge *et al.*, 2021).

Figura 5 - Diagrama de blocos simplificado de uma biorrefinaria para a produção de açúcar, energia, etanol e FOS por meio de células integras imobilizadas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O valor de mercado do FOS não depende apenas dos custos de produção, mas também das condições de mercado, incluindo a demanda, adequação para certas aplicações e principalmente sua pureza, variando de 4 a 150 € kg⁻¹ (Choukade; Kango, 2021) Além disso, os FOS têm um alto potencial comercial estimado mundialmente em US\$ 2,8 bilhões com perspectiva de crescimento anual de 5,0 % entre os anos de 2021 e 2027 (Absolutereports, 2021; Mordorintelligence, 2017), que é atendido por nichos de mercado, e necessita ser obtido a um custo razoável e, devido a estruturas químicas específicas complexas, evitam a competição (Dodge *et al.*, 2020).

Dodge *et al.* (2020) realizaram a modelagem e simulação de sete cenários para a produção de FOS e de ácido succínico integrada a uma indústria de cana açúcar sul-africana. O objetivo era produzir 440 mil t/ano de FOS e 160 mil t/ano de ácido succínico. Os processos integrados foram projetados para abastecer tanto a usina de açúcar quanto os novos produtos com eletricidade e utilidades quentes de uma fonte comum, ou seja, o sistema de cogeração existente. O melhor cenário produziu cerca de 40,5 mil t/ano de ácido succínico e 13,5 mil t/ano de FOS em xarope de melaço, que resultou na taxa interna de retorno (TIR) de 56,1% e preços mínimos de venda de 226 US\$/t e 1.285 US\$/t, em comparação com preços de mercado de 471 US\$/t de FOS em xarope e 2500 US\$/t de ácido succínico, indicando um desempenho econômico positivo (Dodge *et al.*, 2020).

Mussato *et al.* (2015) compararam, por meio de análise técnica-econômica (ATE), a produção de FOS por *A. japonicus* em cultivo submerso (CS), cultivo em fase sólida (CFS) em espermoderma de café e cultivo de células microbianas imobilizadas em sabugo de milho (CCI), tendo-se como meta uma produção anual do açúcar prebiótico de 200 toneladas. Embora a ATE tenha mostrado a viabilidade econômica dos processos avaliados, o cenário empregando CFS apresentou o melhor desempenho econômico com maior taxa interna de retorno (TIR) (33,36% vs 9,61% em CS vs 11,64% em CCI), maior valor presente líquido (VPL) (24,2 M€ vs 1,93 M€ em CS vs 3,85 M€ em CCI) e menor tempo de retorno de investimento (2,27 anos vs 6,16 anos em CS vs 5,52 em CCI).

Vanková *et al.* (2008) desenvolveram um processo para a produção industrial de FOS a partir de células íntegras de *Aureobasidium pullulans* CCY 27-1-94. As operações e condições específicas do processo foram desenvolvidas mediante resultados experimentais obtidos nas escalas de bancada e semi-piloto. Os estudos envolveram as etapas de obtenção de FTase, por fermentação, isolamento e

purificação (Onderková *et al.*, 2006) e a imobilização da enzima. A purificação de FOS ocorreu mediante remoção de glicose, frutose e sacarose, não reagidas da mistura reacional, por cromatografia líquida em leito móvel simulado. Para um volume de produção anual estimado em 10.000 toneladas, os autores estimaram os custos para a produção da enzima e do açúcar prebiótico sólido e em solução (43 % m m⁻¹). Para a etapa de produção da FTase, os custos de capital e de operação foram estimados em 4,1 M€ e 705,2 mil €, respectivamente, sendo que mais de 97% dos custos da matéria-prima foram atribuídos a resina à base de poli(estireno-co-divinilbenzeno) usada como suporte de imobilização. Com relação à produção de FOS, o custo de capital estimado foi de 5,031 M€ para o produto sólido e de 4,837 M€ para o xarope, cuja redução de 4% dos custos foi atribuída a não utilização da operação de secagem. Ressalta-se ainda que o custo operacional anual da produção de FOS sólido foi estimado em 22,630 M€ ao passo que para o açúcar em solução, obteve-se um custo de 21,983 M€ (Vanková *et al.*, 2008).

Bedzo *et al.* (2019) realizaram a modelagem e simulação da produção de FOS em pó e xarope. A produção foi analisada considerando três métodos: a enzima solúvel (ES), enzimas imobilizadas em alginato de cálcio (EIAC) e enzimas imobilizadas em Amberlite IRA 900 (EIA). A análise teve como meta uma produção anual do FOS de 2000 toneladas por ano. Em relação ao custo da produção de FOS, o processo envolvendo ES apresentou o melhor custo de capital estimado em 15,46 M\$ vs 15,95 M\$ em EIAC vs 16,19 M\$ em EIA para o produto sólido. Neste caso, o investimento no secador, por pulverização, representou o maior custo de equipamento (68%, 68% e 73% da aquisição do equipamento para os sistemas ES, EIAC e EIA, respectivamente). O processo com a enzima solúvel (ES) apresentou o melhor custo operacional anual da produção de FOS estimado em 3,40 M\$ vs 3,50 M\$ em EIAC vs 3,97 M\$ em EIA por ano. Os três processos para os dois tipos de produto apresentaram viabilidade econômica, pois seus preços mínimos de venda (PMV) associados (2,61 US\$ kg⁻¹ em ES vs 2,69 US\$ kg⁻¹ em EIAC vs 2,94 US\$ kg⁻¹ em EIA) mostraram-se abaixo do preço estipulado de 5 US\$ kg⁻¹ de FOS (FROST, 2008). É importante ressaltar que apesar do processo ES apresentar um melhor custo-benefício, de acordo com Bedzo *et al.* (2019) a produção de FOS usando biocatalisadores imobilizados oferece algumas vantagens funcionais e técnicas sobre as enzimas solúveis.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CASO BASE

Foi considerado como caso base a produção de biocatalisadores heterogêneos para a produção FOS anexa a uma biorrefinaria média nacional processando 4 milhões de toneladas de cana por safra. A planta produz 42 litros de etanol anidro por cada tonelada de cana, 71 kg de açúcar por tonelada de cana processada e 34,94 kW de energia excedente para a venda. Isso corresponde a uma produção anual de 42 milhões de litros de etanol, 71 mil toneladas de açúcar, e 156,59 MW de energia (Cgee, 2005; Epe, 2020; Junqueira *et al.*, 2017; Novacana, 2022; Novacana, 2023). Foi considerado um desvio anual de 22,275 toneladas de açúcar *Very High Polarization* (VHP) suficiente para produzir 12,474 toneladas de biocatalisador heterogêneo obtido a partir de células microbianas, com atividade catalítica, imobilizadas em esponja de poliuretano. Essa quantidade de biocatalisador é suficiente para a produção de 18,571 toneladas de FOS (Castro *et al.*, 2017), que corresponde a 10% da demanda mundial, estimada em 185,71 toneladas em 2022 (Grandviewresearch, 2022).

Foi considerado o açúcar VHP como fonte de carbono (substrato) para a produção do biocatalisador, uma vez que este açúcar possui menor custo quando comparado ao açúcar refinado. É importante ressaltar que, embora seja considerado que o processo de produção do biocatalisador heterogêneo esteja anexado a uma biorrefinaria, apenas a produção do biocatalisador é simulada e, portanto, a integração de seu processo na biorrefinaria não foi realizada.

Ao deixar de comercializar 22,275 toneladas de sacarose VHP para utilizá-la como substrato do processo de produção biocatalisador, houve o custo de oportunidade. O custo de oportunidade é o capital que se deixou de ganhar ao fazer uma escolha ou em outras oportunidades de negócios (Zago; Pinto 2005). Neste contexto baseando em Esalq (2022) que a sacarose VHP tem o preço médio de venda 19,86 \$/50 kg, então o custo de oportunidade foi de 8847,63 \$ por ano.

4.2 SOFTWARE PARA MODELAGEM E SIMULAÇÃO DO PROCESSO

Para a modelagem e simulação foi empregado o simulador de processos *Environment for Modeling, Simulation and Optimization* (EMSO). O *software* é um simulador de processos nacional, livre e gratuito para ensino e pesquisa com linguagem computacional orientada a objetos. O simulador, que é modular orientado a equações, apresenta como característica a checagem automática da consistência das unidades de medida, graus de liberdade e consistência das condições iniciais, além de oferecer uma biblioteca de modelos livre e de código aberto (Soares; Secchi, 2003; Soares, 2007). Uma característica importante do simulador é o *plug-in* VRTerm (Alsoc, 2010), constituído por um banco de dados termodinâmicos que permite a utilização e aplicação de diferentes modelos termodinâmicos.

O *software*, gratuito e online, Visual-Paradigm (2002) foi utilizado para a construção dos diagramas de fluxo de processos (PFD, em inglês *Process Flowchart Diagram*).

4.3 MODELAGEM MATEMÁTICA

4.3.1 Modelagem computacional

Os modelos utilizados na simulação da planta de produção do biocatalisador são compostos por modelos matemáticos que utilizam balanços de massa e energia, balanço estequiométrico, relações termodinâmicas, relações constitutivas e parâmetros de processos (tais como conversão, concentração, produtividade e eficiência) para a representação das operações unitárias utilizadas na produção do biocatalisador heterogêneo.

4.3.2 Lista de componentes

A lista de componentes considerados na implementação do processo de produção do biocatalisador heterogêneo está ilustrada na Tabela 3. Nas simulações, os componentes são representados por números indexados. Esta lista foi definida com base nos componentes empregados no processo desenvolvido pelo grupo de pesquisa em “Tecnologia Enzimática e Bioprocessos” da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Embora seja o primeiro trabalho do grupo de pesquisa, focado na modelagem e simulação de uma planta de produção de biocatalisadores heterogêneos para a síntese de FOS, é importante manter a padronização dos

componentes usados neste trabalho com os componentes reportados nos trabalhos de Cunha *et al.* (2019), Dias *et al.* (2022), Garcia *et al.* (2021), e Ribeiro *et al.* (2023).

Tabela 3 - Componentes usados na simulação do processo de produção do biocatalisador heterogêneo.

Componentes	Número indexado	Componentes	Número indexado
Sacarose	1	Esponja de poliuretano (EPU)	12
Água	2	NaOH	13
Biomassa	3	Glutaraldeído 25 % (v v ⁻¹)	14
Glicose	4	Tampão tris-acetato	15
Frutose	5	Ácido acético	16
Extrato de levedura	6	NaBH ₄ 10 % (v v ⁻¹)	17
NaNO ₃	7	O ₂	18
KH ₂ PO ₄	8	N ₂	19
MgSO ₄ .7H ₂ O	9	CO ₂	20
MnCl ₂ .H ₂ O	10	Ácido clorídrico	21
FeSO ₄	11	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Foram estudados dois cenários distintos, cuja representação do processo ocorreu na presença (cenário A) e ausência (cenário B) da unidade de reticulação do biocatalisador heterogêneo, dispostos nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

Os parâmetros de entrada do processo global com seus respectivos valores e referências de todos os equipamentos utilizados em ambos os cenários estão dispostos na tabela 4

4.4.1 Cenário (A) – Fluxograma PFD com a unidade de reticulação

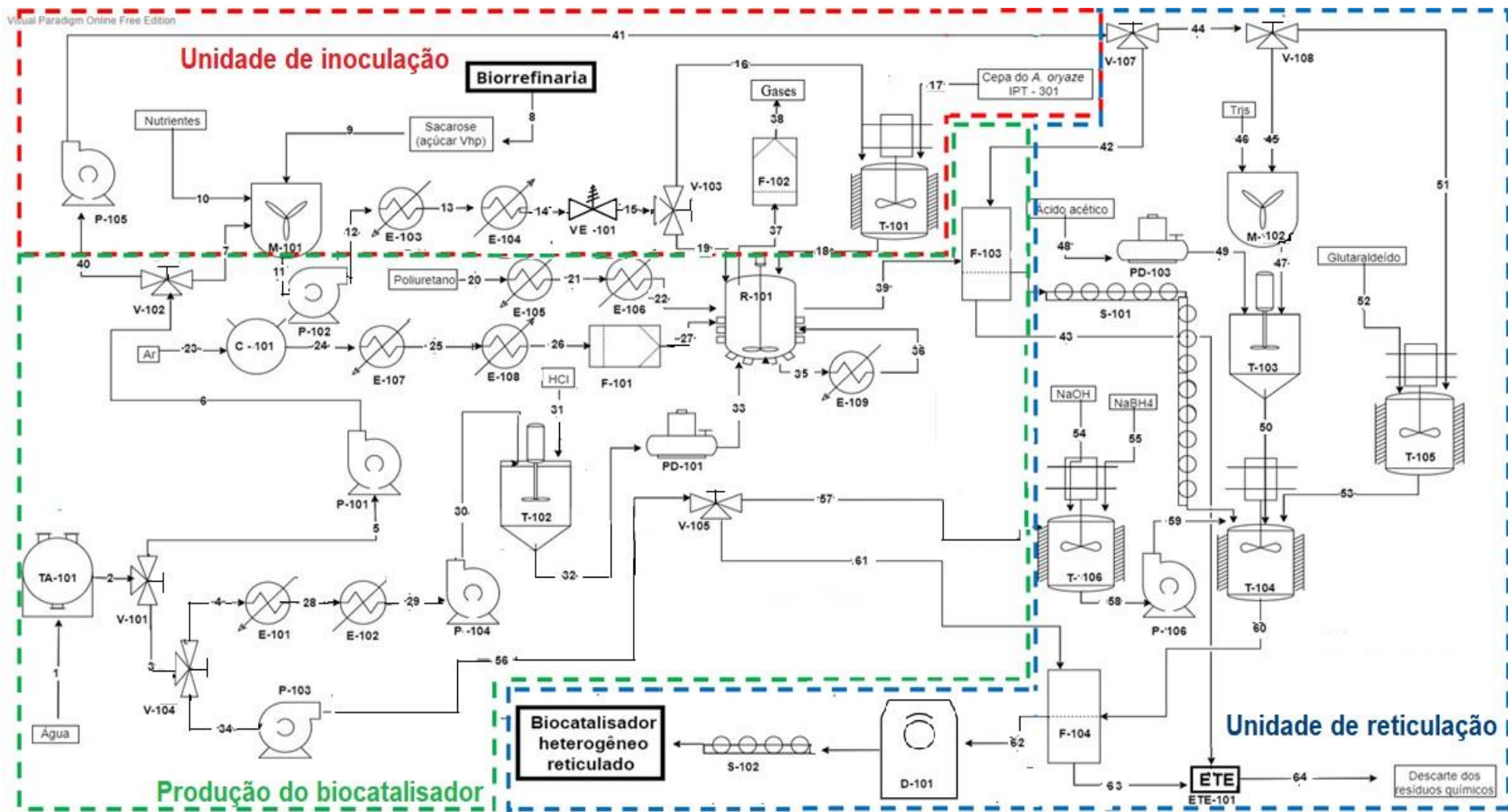
A modelagem e simulação foi baseada no processo desenvolvido pelo grupo de pesquisa e nos dados experimentais obtidos em laboratório. A descrição do processo (Figura 6) se inicia no tanque de armazenamento (TA-101), quando a água é enviada para a unidade de preparo do meio de cultura (M-101). O preparo do meio de cultura ocorre em um misturador adiabático envolvendo água, sacarose VHP 15% (m v⁻¹) e nutrientes essenciais para o crescimento microbiano (extrato de levedura 0,5 % m v⁻¹, NaNO₃ 0,5 % m v⁻¹, KH₂PO₄ 0,2 % m v⁻¹, MgSO₄.7H₂O 0,05 % m v⁻¹,

$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,03 % m v⁻¹ e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,001 % m v⁻¹) (Cunha *et al.*, 2019). O meio de cultura é transportado por uma bomba (P-102) a uma pressão de 2 atm e, então, é esterilizado (E-103) a 120°C e 2 atm. Em seguida, o meio de cultura é resfriado (E-104) de forma isobárica até 30°C e, posteriormente, sua pressão é reduzida para 1 atm na válvula de expansão (VE -101). A corrente do meio de cultura é então dividida em duas correntes: 80 % (v v⁻¹) é transportado até o biorreator (R-101) e 20 % (v v⁻¹) é conduzido para o tanque de inoculação de esporos do fungo *A. oryzae* IPT-301 (T-101).

O material de suporte para a imobilização das células microbianas, com atividade enzimática, é constituído por cubos de EPU com arestas de 1 cm. As EPUs são previamente esterilizadas nos trocadores de calor (E-105) e (E-106) (aquecidas até a temperatura 120°C a 1 atm e, posteriormente, resfriadas isobaricamente até 30°C). Em seguida, as EPUs são conduzidas ao biorreator (R-101). Ar atmosférico é filtrado (F-101), comprimido (C-101), esterilizado (E-107 e E-108) e, em seguida, também transportado ao biorreator (R-101).

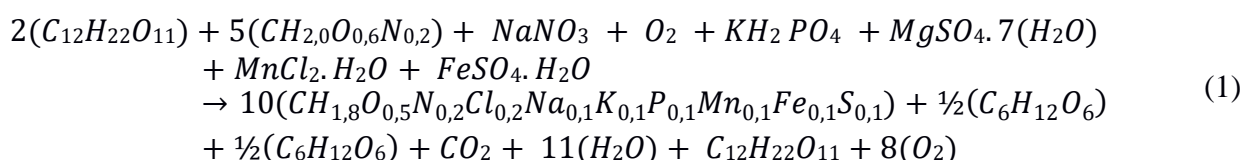
A reação metabólica (Equação 1), referente ao crescimento microbiano (células fúngicas com atividade enzimática), ocorre no biorreator (R-101) por um período de 32 horas, com velocidade de agitação de 400 rpm e aeração de 0,75 v.v.m (volume de ar por volume de líquido por minuto) (Maiorano *et al.*, 2020). O biorreator é operado isotermicamente a 30 °C com auxílio do trocador de calor (E-109). O meio de cultura é mantido em pH 5,5 mediante a adição de ácido clorídrico (PD-101) na concentração de $4,44 \times 10^{-1}$ g/L (Garcia *et al.*, 2021; Gonçalves *et al.*, 2020;). Para isso, a válvula (V-104) distribui água esterilizada para o tanque (T-102), local em que a solução ácida é preparada. Durante o cultivo microbiano, é liberado gás carbônico que, antes de ser eliminado para o ambiente, passa pelo filtro (F-102), para garantir que esse gás seja eliminado de forma correta, minimizando os efeitos de contaminação e poluição atmosférica. É importante ressaltar que não foi simulada uma estação de tratamento de efluentes. Além disso, é importante ressaltar que a Equação 1 foi calculado e balanceado de acordo com Doran, (2013).

Figura 6 - Fluxograma do processo de produção do biocatalisador heterogêneo reticulado.



TA-101 – Tanque de armazenamento de água	E-104 – Resfriador	F-101 – Filtro de ar	V-106 – Válvula de três vias	P-102 – Bomba	T-104 – Tanque de mistura
E-101 – Aquecedor	V-103 – Válvula de três vias	V-104 – Válvula de três vias	T-102 – Tanque de mistura	V-107 – Válvula de três vias	T-105 – Tanque de mistura
E-102 – Resfriador	T-101 – Tanque de mistura	P-103 – Bomba	R-101 – Reator	S-101 – Esteira de transporte	T-106 – Tanque de mistura
V-101 – Válvula de três vias	E-105 – Aquecedor	M-102 – Misturador	E-109 – Aquecedor	V-108 – Válvula de três vias	P-105 – Bomba
P-101 – Bomba	E-106 – Resfriador	PD-101 – Bomba dosadora	F-102 – Filtro de gases	PD-103 – Bomba dosadora	F-103 – Filtro
V-102 – Válvula de três vias	C-101 – Compressor de ar	P-104 – Bomba	F-103 – Filtro	T-103 – Tanque de mistura	S-102 – Esteira de transporte
M-101 – Misturador	E-107 – Aquecedor	V-105 – Válvula de três vias	D-101 – Secador	ETE-101 – Estação de tratamento de efluentes	
E-103 – Aquecedor	E-108 – Resfriador	P-106 – Bomba	VE-101 – Válvula de expansão		

Fonte: Elaborado pelo autor.



A unidade de reticulação, presente no processo de produção do biocatalisador heterogêneo, está representada no fluxograma PFD (Figura 6). A reticulação do biocatalisador se inicia pela mistura, em água, dos reagentes glutaraldeído 25 % (v v⁻¹) e tris-hidroxi(metil)amino metano (TRIS) nos tanques (T-105) e (M-102), respectivamente. Por sua vez, alimenta-se na solução de TRIS (tanque T-103), por meio da bomba (PD-103), uma corrente de ácido acético glacial para correção e controle do pH da solução. Ambas as soluções (glutaraldeído e TRIS), previamente preparadas, são transportadas para o tanque (T-104), dando-se início ao processo de reticulação do biocatalisador heterogêneo, conduzido por 45 minutos, à 25 °C, pH 7,9 e com velocidade de agitação de 200 rpm (Garcia *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2023). Após esse período, uma corrente de solução aquosa de borohidreto de sódio 10 % (m v⁻¹), previamente preparada no tanque de mistura (T-106), é transportada pela bomba (P-106) até o tanque (T-104) para interrupção da reação de reticulação, etapa está com duração de 30 minutos (Garcia *et al.*, 2021).

Ao término do processo de reticulação, o biocatalisador heterogêneo é filtrado (F-104) mediante lavagem da torta com água e, em seguida, o biocatalisador reticulado com 80% de umidade é transportado até o secador rotativo (D-101) que opera a 40 °C para evitar a desnaturação térmica do biocatalisador. Após a secagem, o biocatalisador é transportado por uma esteira de sólidos (S-102) para armazenamento. O permeado, oriundo do processo de lavagem do produto, é conduzido à estação de tratamento de efluentes (ETE-101) para descarte.

4.4.2 Cenário (B) – Fluxograma PFD sem a unidade de reticulação

O cenário B (Figura 7) inicia-se no tanque TA-101, quando a água é enviada para a unidade de preparo do meio de cultura (M-101). O preparo do meio de cultura ocorre em um misturador adiabático envolvendo água estéril, sacarose VHP 15% (m v⁻¹) e nutrientes essenciais para o crescimento microbiano (extrato de levedura 0,5 % m v⁻¹, NaNO₃ 0,5 % m v⁻¹, KH₂PO₄ 0,2 % m v⁻¹, MgSO₄·7H₂O 0,05 % m v⁻¹, MnCl₂·4H₂O 0,03 % m v⁻¹ e FeSO₄·7H₂O 0,001 % m v⁻¹) (Cunha *et al.*, 2019). O meio de cultura é transportado por uma bomba (P-102) a 2 atm e, então, é esterilizado (E-103) até a

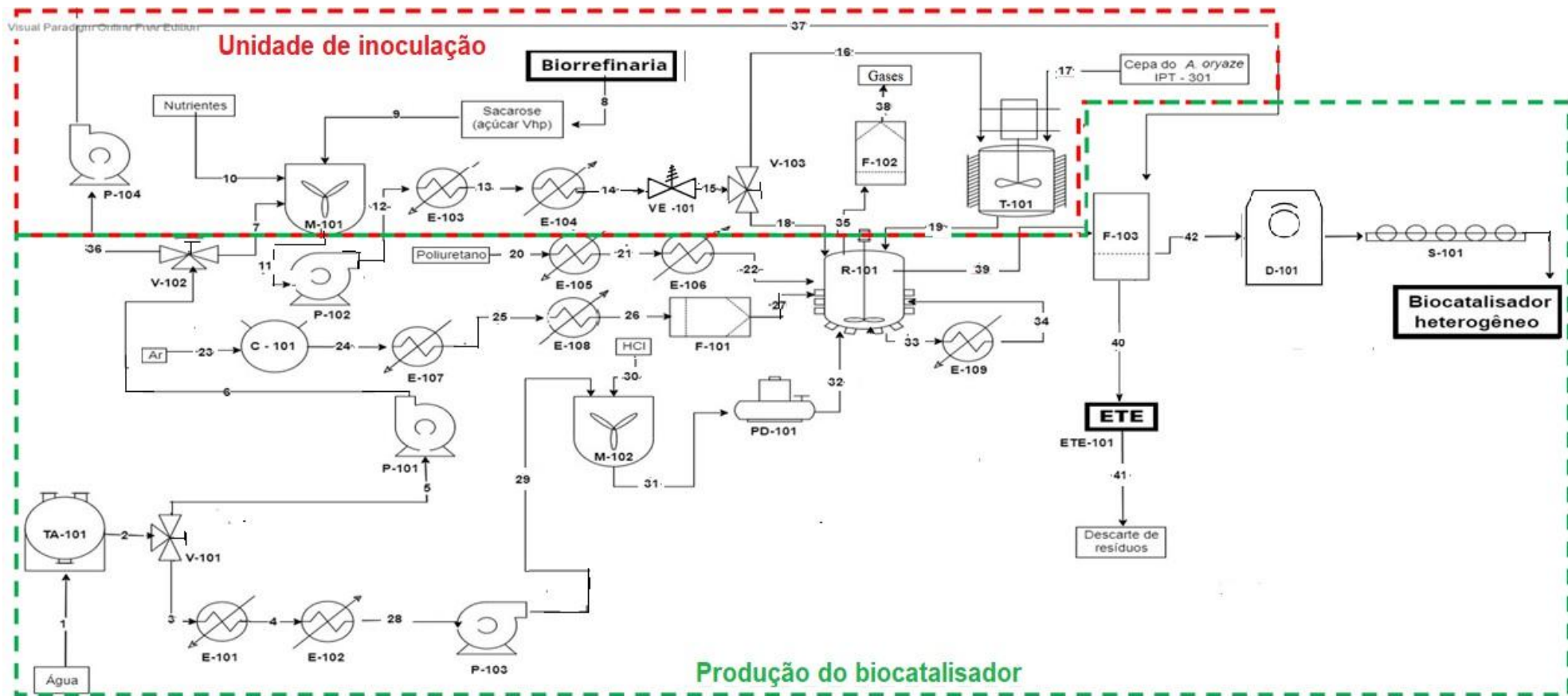
temperatura de 120°C a 2 atm e, em seguida, resfriado (E-104) de forma isobárica até 30°C. Posteriormente, sua pressão é reduzida para 1 atm na válvula de expansão (VE-101). A corrente do meio de cultura é então dividida em duas correntes: 80 % (v v⁻¹) é transportada até o biorreator R-101 e 20 % (v v⁻¹) é conduzida para o tanque de inoculação de esporos do fungo *A. oryzae* IPT-301(T-101).

O material de suporte para a imobilização das células microbianas é constituído por cubos de EPU com arestas de 1 cm. As EPU são previamente esterilizadas nos trocadores de calor E-105 e E-106 (aquecidas até a temperatura 120°C a 2 atm e, posteriormente, resfriadas isobaricamente até 30°C). Em seguida, as EPU são conduzidas ao biorreator R-101. Ar atmosférico é filtrado (F-101), comprimido (C-101), esterelizado (E-107 e E-108) e, em seguida, também transportado ao biorreator (R-101).

A reação metabólica (Equação 1), referente ao crescimento microbiano (biomassa catalítica), ocorre no biorreator (R-101) por um período de 32 horas, com velocidade de agitação de 400 rpm e aeração de 0,75 v.v.m (volume de ar por volume de líquido por minuto) (Maiorano *et al.*, 2020). O biorreator é operado isotermicamente a 30 °C com o auxílio do trocador de calor (E-109). O meio de cultura é mantido em pH 5,5 mediante a adição de ácido clorídrico (PD-101) na concentração de 4,44 x 10⁻¹ g/L (Garcia *et al.*, 2021; Gonçalves *et al.*, 2020). Para isso, a válvula (V-104) distribui água esterilizada para o tanque (T-102) em que é preparado a solução ácida. Durante o processo de cultivo microbiano, é liberado gás carbônico que, antes de ser eliminado para o ambiente, passa pelo filtro (F-102) visando eliminá-lo de forma correta para minimização dos efeitos de contaminação e poluição atmosférica.

Ao término do cultivo microbiano, o biocatalisador heterogêneo é filtrado (F-103) mediante lavagem da torta com água e, em seguida, é transportado com 80% de umidade ao secador rotativo (D-101), operado a 40 °C. Após a secagem, o biocatalisador é transportado por uma esteira de sólidos (S-101) para armazenamento e posterior utilização. O permeado, oriundo do processo de lavagem do produto, é conduzido à estação de tratamento de efluentes (ETE-101) para descarte.

Figura 7 - Fluxograma do processo de produção do biocatalisador heterogêneo.



TA-101 – Tanque de armazenamento de água	E-103 – Aquecedor	E-107 – Aquecedor	PD-101 – Bomba dosadora
E-101 – Aquecedor	E-104 – Resfriador	E-108 – Resfriador	P-104 – Bomba
E-102 – Resfriador	V-103 – Válvula de três vias	F-101 – Filtro de ar	T-102 – Tanque de mistura
V-101 – Válvula de três vias	T-101 – Tanque de mistura	V-104 – Válvula de três vias	E-109 – Aquecedor
P-101 – Bomba	E-105 – Aquecedor	P-102 – Bomba	F-102 – Filtro de gases
V-102 – Válvula de três vias	E-106 – Resfriador	P-103 – Bomba	S-101 – Esteira de transporte
M-101 – Misturador	C-101 – Compressor de ar	M-102 – Misturador	VE-101 – Válvula de expansão
R-101 – Reator	D-101 – Secador	ETE-101 – Estação de tratamento de efluentes	

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.3 Biorreator

O biorreator (fermentador R-101), assim como todos os equipamentos utilizados no processo, foram constituídos por aço inox 316L, material este selecionado devido a sua composição química, em termos de carbono, grande resistência à oxidação, maior durabilidade e possibilidade de uso de diversos produtos químicos para lavagem e higienização (Elmesalamy *et al.*, 2016).

Para que todo o processo ocorra em modo contínuo, mesmo tendo uma etapa em batelada, foram calculados biorreatores operando em paralelo com volume útil (volume de trabalho) de 68%.

4.5 AVALIAÇÃO ECONÔMICA

4.5.1 Parâmetros econômicos

A avaliação econômica da implantação do processo de produção do biocatalisador heterogêneo utilizou os parâmetros taxa mínima de atratividade (TMA), VPL, TIR, PMV e o tempo de retorno para a avaliação do desempenho econômico do processo.

A TMA significa a taxa mínima que o investidor lucra com outros investimentos. Portanto, ela é uma importante referência para a tomada de decisão. A TMA também é definida como a taxa a partir da qual o investidor considera que está auferindo ganhos financeiros (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

O VPL é um método de investimento que se caracteriza por levar em consideração o valor do dinheiro no tempo, ou seja, considera o valor temporal do período inicial (ano zero). Este método apresenta algumas características, como por exemplo, possibilita a aplicação a fluxos de caixa que contenham mais de uma variação de sinal (entrada e saída) e depende exclusivamente dos fluxos de caixas projetados e do custo de oportunidade do capital, não sendo afetado pelas preferências do decisor, pela rentabilidade atual da empresa, pelos métodos de contabilização da empresa ou por outros projetos autônomos (Peters; Timmerhaus; West, 2003; Zago; Weise; Hornburg, 2009).

$$VPL(X_1, X_2, \dots, X_i) = -CAPEX(X_1, X_2, \dots, X_i) + \sum_{j=1}^n \frac{CF(X_1, X_2, \dots, X_i)}{(1+r)^j} \quad (2)$$

Em que r é a taxa de desconto, n é o tempo de vida da planta, CAPEX é o custo capital, CF é o fluxo de caixa que está em função de (X_1, X_2, \dots, X_i) , que estão em função das variáveis do processo.

O método da TIR, diferentemente do VPL, não visa a avaliação da rentabilidade absoluta, mas sim, encontrar uma taxa intrínseca de rendimento. A TIR também é conhecida como taxa de desconto do fluxo de caixa. Ela é a taxa de juros obtida quando se iguala o VPL a zero. Calcula-se a TIR de maneira análoga ao cálculo do VPL como é apresentado na (Equação 3).

$$VPL(X_1, X_2, \dots, X_i) = 0 = \sum_{j=1}^n \frac{CF(X_1, X_2, \dots, X_i)}{(1+TIR)^j} - CAPEX(X_1, X_2, \dots, X_i) \quad (3)$$

Caso o valor obtido para a TIR seja superior a TMA ($TIR > TMA$), o investimento é superior ao capital investido inicialmente, ou seja, é economicamente viável. Para o caso em que a TIR é estimada igual a TMA ($TIR = TMA$), o investimento é economicamente indiferente. Para o caso em que a TIR é estimada menor que a TMA ($TIR < TMA$), o investimento não é considerado economicamente viável (Peters; Timmerhaus; West, 2003). É importante ressaltar que a principal diferença entre VPL e TIR é que o VPL é uma medida do valor monetário que um investimento deve trazer, enquanto a TIR é uma medida da taxa de retorno que um investimento deve gerar.

O PMV de um produto é o menor preço de venda que esse produto pode ter para que ele seja viável. Com relação a esse trabalho, o PMV corresponde ao preço do biocatalisador heterogêneo para que o VPL se iguale a zero a uma taxa “ r ” definida como a TMA. Dessa forma, fixa-se o VPL e retira-se a especificação do preço do produto. Além disso, o VPL e PMV considera todos os tipos de custos diretos e os indiretos, como impostos e retorno sobre o investimento (Longati, *et al.*, 2018; Longati, *et al.*, 2019).

$$VPL(r = TMA * Pi) = 0 \quad (4)$$

Por sua vez, o tempo de retorno é dado como o período decorrido desde o tempo inicial da implantação do investimento até o tempo de amortização dele, ou seja, o momento em que o fluxo de caixa acumulado se torna positivo. (Pinho et al., 2011). Além disso, o tempo de retorno representa o prazo necessário para a recuperação do capital investido. Esse indicador sugere o grau de risco do projeto, pois quanto menor o tempo de retorno, melhor é o investimento, ou seja, quanto menor o tempo de retorno, menor é o prazo para a recuperação do capital investido e, conseqüentemente, mais rápido é o ganho, como é apresentado na (Equação 5). Entretanto, o tempo de retorno possui algumas desvantagens, entre as quais, estabelecer um período de corte arbitrário, sem nenhuma base objetiva para escolher um número específico e não levar em consideração o valor do dinheiro no tempo (Gitman, 2004).

$$\text{Tempo de retorno} = \frac{\text{Desembolsos líquidos}}{\text{Entradas líquidas de caixa}} \quad (5)$$

As premissas econômicas adotadas e implantadas neste estudo para a construção do fluxo de caixa estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 - Os pressupostos econômicos utilizados.

Premissas	Valor	Referência
Vida útil da planta	25 anos	Furlan <i>et al.</i> (2016)
Horas anuais de operação	5040 horas	Conab (2018)
Taxa de depreciação (Linear, 10 anos)	10%	(Peters; Timmerhaus; West, 2003)
Tempo de inicialização	1 ano	Valor assumido
Ano base	2022	-
Taxa de câmbio	5,37 BRL/USD	Ipeadata (2022)
Taxas federais	34%	-
Taxa de câmbio euro 2011	1,39 EUR/USD	<i>Idealsoftwares</i> , (2023)
Preço do biocatalisador reticulado	420 US\$/kg	(Tufvesson <i>et al.</i> , 2011)

Preço do biocatalisador	210 US\$/kg	(Tufvesson <i>et al.</i> , 2011)
-------------------------	-------------	----------------------------------

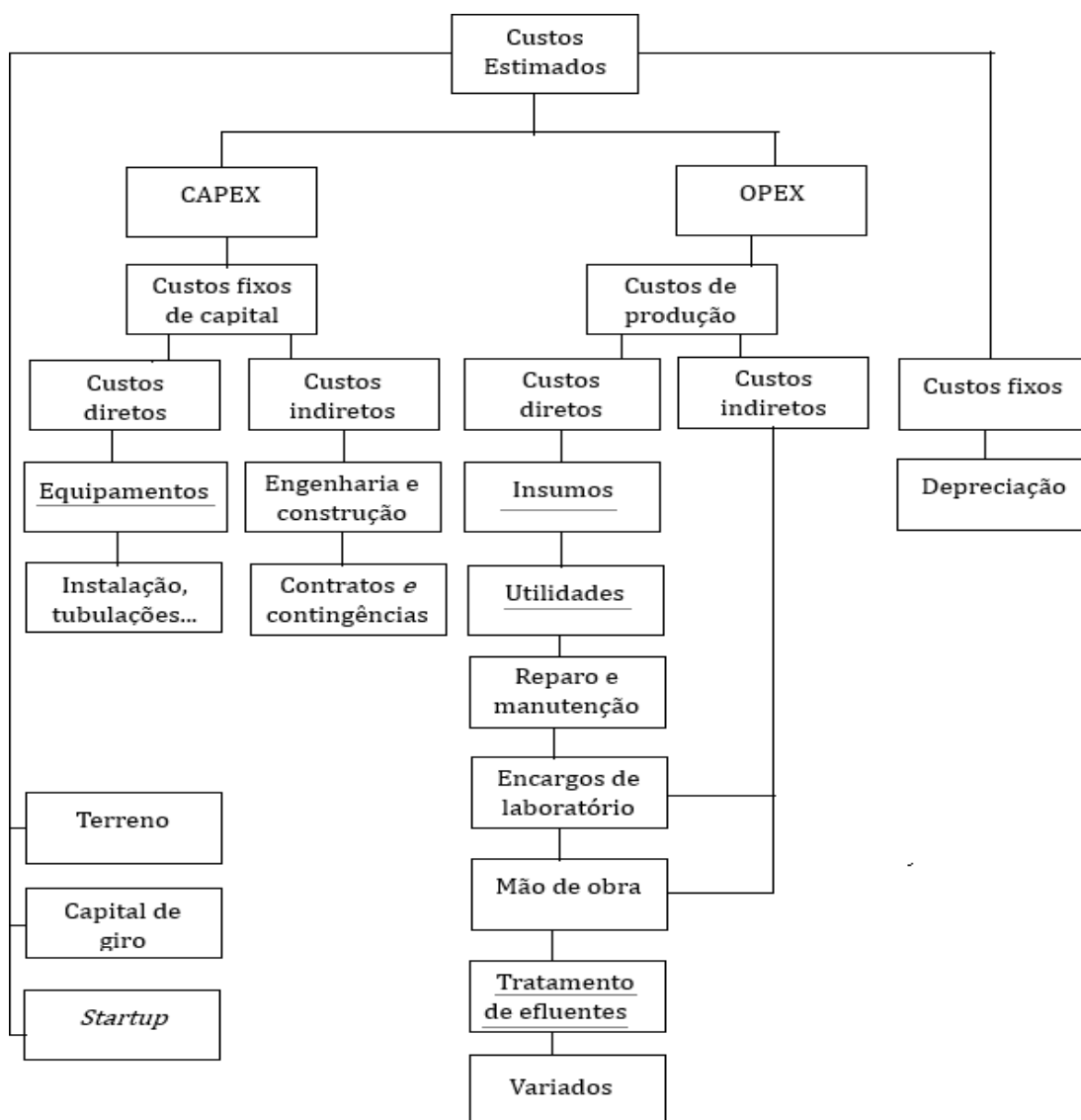
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5.2 Despesas operacionais e de capital

Para a estimativa dos parâmetros econômicos de desempenho, faz-se necessário estimar os custos operacionais (OPEX) e de capital (CAPEX) (Figura 8). O OPEX é o capital necessário para a operação da planta que corresponde a quantidade total de dinheiro investida em matéria-prima e suprimentos transportados na planta, produtos finalizados ou em processo de finalização na planta, contas a receber, dinheiro para pagamento mensal (salários, compra de matéria-prima). O OPEX foi estimado baseado em Peters; Timmerhaus; West (2003).

O CAPEX, dividido entre os custos diretos e indiretos, designa o montante de dinheiro despendido na aquisição (ou introdução de melhorias) de bens de capital de uma determinada empresa. Os custos diretos representam o capital necessário para aquisição de bens e melhorias físicas, como instrumentos, tubulações, fundações. Os custos indiretos são aqueles que não são abarcados pelos custos diretos, ou seja, os que não estão diretamente ligados ao processo de produção. Geralmente, eles estão alocados em áreas de suporte, abarcando custos como engenharia, contratos e contingências. Além disso, esses custos consistem nas despesas gerais de construção, entre outros componentes da planta que não estão relacionados diretamente com a operação do processo, como o terreno, prédios administrativos, laboratórios, tratamento de efluentes, sendo uma parte permanente da planta (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

Figura 8 - Categorias e subcategorias de estimativa de custos que são importantes para a análise de custos.



Nota: Os custos sublinhados são calculados de forma específica, entretanto os demais custos são estimados por meio de fórmulas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O OPEX é dividido em custos diretos, indiretos e fixos. Os custos operacionais diretos incluem o custo de matérias-primas, utilidades, gerenciamento de resíduos e mão de obra operacional. Os custos operacionais indiretos e fixos podem ser calculado a partir do custo de mão de obra direta e/ou investimento de capital anual (Figura 8).

A quantidade de matéria-prima utilizada no processo é obtida por meio de balanços de massa do processo. O cálculo dos custos anuais foi feito utilizando o valor

da média em valor presente dos últimos 5 anos de cada insumo. O valor de venda considerado para o biocatalisador é apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Custo das matérias-primas e insumos utilizados no processo .

Matérias-primas e insumos	Custos	Referências
Água	0,195 US\$/m ³	Elias <i>et al.</i> (2021a)
Tris(hidroximetil)amino metano - TRIS	0,30 US\$/kg	Made-in-China. (2022)
Solução de Glutaraldeído	2,40 US\$/kg	Comex Stat. (2022)
Ácido Acético	500 US\$/kg	Comex Stat (2022)
Extrato de levedura	6,65 US\$/kg	Filipović <i>et al.</i> (2022)
Borohidreto de sódio	25 US\$/kg	Made-in-China. (2022)
Hidróxido de sódio	590 US\$/t	Comex Stat. (2022)
Nitrato de sódio	0,71 US\$/kg	Comex Stat. (2022)
Sulfato de ferro heptahidratado	320 US\$/t	Made-in-China. (2022)
Fosfato de potássio	1,67 US\$/kg	Comex Stat. (2022)
Sulfato de magnésio Heptahidratado	1,52 US\$/kg	Made-in-China. (2022)
Cloreto de manganês tetrahidratado	2,43 US\$/kg	Made-in-China. (2022)
EPU	7,47 R\$/kg	Terac Forros e Isolamentos (2022)
Ácido clorídrico	0.65 US\$/kg	Comex Stat
Açúcar VHP	0,30 US\$/kg	ESALQ. (2022)
<i>A. oryzae</i> IPT-301	11,89 US\$/kg	Indiamart (2022)

Fonte: Elaborado pelo autor.

As utilidades, incluindo o custo de aquecimento e energia para esterilização e agitação, água de resfriamento e gás, foram obtidas a partir de balanços de massa e energia e os preços (Tabela 6) foram consultadas em Oliveira *et al.* (2018). É importante ressaltar que os valores de utilidades quente e fria foram consideradas no contexto da biorrefinaria.

Tabela 6 - Custo das utilidades utilizadas no processo.

Utilidades	Valor
Utilidade quente	96 US\$/ kW ano
Utilidade fria	50 US\$/ kW ano

Fonte: Oliveira *et al.* (2018).

A quantidade de mão de obra foi estimada a partir da Equação 6, consistindo no número de operadores necessários para operar a unidade de processo por turno. É fato que um único operador trabalha em média 49 semanas por ano, ou seja (3 semanas de folga para férias e licença médica), cinco turnos de 8 horas por semana ou seja, 245 turnos por operador por ano. Considerando que a planta normalmente opera 24 horas por dia, isso requer (365 dias/ano × 3 turnos/dia) 1095 turnos operacionais por ano. O número de operadores necessários para fornecer esse número de turnos é $[(1095 \text{ turnos/ano})/(245 \text{ turnos/operador/ano})]$ ou aproximadamente 4,5 operadores (Turton *et al.*, 2018).

$$\text{Número de Operadores} = (4.5 * (6.29317 \text{ Equipamento Sólido Manual}^2 + 0.23 * \text{Nenhum equipamento sólido manual})^{0.5} \quad (6)$$

em que “Número de operadores” é a quantidade de operários necessários nessa planta, “Equipamento sólido manual” é o número de etapas de processamento envolvendo o manuseio de partículas sólidas (por exemplo, transporte e distribuição, controle de tamanho de partículas e remoção de partículas) e “Nenhum equipamento sólido manual” é o número de etapas de processamento não envolvendo particulado, incluindo compressores, aquecedores, resfriadores, torres e reatores.

De acordo com Peters; Timmerhaus; West (2003), os custos com manutenção e reparos foram calculados com 3% do custo dos equipamentos. A supervisão operacional e assistência administrativa são mensuradas por meio do custo de mão de obra necessária, correspondendo a 10% desse valor. Os custos com suprimentos, como ferramentas, dispositivos de proteção, entre outros foram calculados com 10% do custo de manutenção. Os custos laboratoriais responsáveis pelos custos de ensaios laboratoriais para controle de operações e controle de qualidade foram estimados em 10% da mão de obra. Os custos de patentes ou *royalties* são os pagamentos para obter direito de produzir, usar, explorar ou comercializar um bem, representando 1% do custo total do produto.

Os custos fixos são as despesas que não são afetadas pelo volume de produção ou de vendas do processo, sendo classificados em depreciação, taxas de propriedade, seguros, financiamentos e aluguéis. A depreciação é calculada separadamente por variar de ano para ano e do método utilizado, sendo 10% do custo fixo da planta (DFC). A taxa de propriedade e seguro correspondem a 1% do DFC.

Os custos indiretos são as despesas necessárias para o funcionamento casual da planta, mas não está relacionada diretamente ao processo (não varia amplamente com mudanças na taxa de produção). Englobam os serviços médicos e hospitalares, os serviços de segurança, os planos de saúde, entre outros benefícios para o funcionário, representando 50% dos custos com mão de obra, supervisão e manutenção (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

As despesas gerais (DG) da planta são outros custos envolvidos nas operações, além dos custos de operação/manufatura, sendo divididas em custos administrativos, custos de distribuição e *marketing* e custos de pesquisa e desenvolvimento (Peters; Timmerhaus; West, 2003). Porém, é importante ressaltar que os custos de pesquisa e desenvolvimento, *marketing* e distribuição não são considerados na etapa de “*screening*”. Ao todo, representam 20% dos custos com mão de obra, supervisão e manutenção. Assim, o valor do OPEX é encontrado pelo somatório do DFC com o capital de giro (WS) e o capital para a inicialização da planta (SC). O capital de giro corresponde a 15% do valor do CAPEX, e o capital de inicialização da planta corresponde a 5% do DFC (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

Conforme descrito anteriormente, o CAPEX designa o montante de dinheiro despendido na aquisição (ou introdução de melhorias) de bens de capital de uma determinada empresa. Esse parâmetro, portanto, avalia o montante de investimentos realizados em equipamentos e instalações de forma a manter a produção de um produto ou serviço ou manter em funcionamento um negócio ou um determinado sistema (Ardalan, 2000).

Foi utilizado o *website* gratuito *Matches* visando a estimativa de custo dos equipamentos (Matches, 2014). A *Matches* fornece estimativas conceituais (ordem de grandeza) de custos de equipamentos de processo para mais de 275 tipos de equipamentos usados na indústria química e metalúrgica (Matches, 2014). Outro método de estimar o valor de um equipamento é utilizar dados de uma planta similar com capacidade diferente, cujos dados de custo são ajustados em relação a diferença de capacidade (Equação 7).

$$C_a = C_b \left(\frac{A_a}{A_b} \right)^n \quad (7)$$

em que C_a é o custo de aquisição do equipamento desejado, A_a é o fator relacionado à dimensão do equipamento que se deseja estimar o custo, A_b é o fator relacionado a dimensão do equipamento base, “n” é o expoente de custo, e C_b é referente ao custo de equipamento conhecido (Turton *et al.* 2012).

Além disso, na projeção dos custos de equipamento realizada no *Matches*, permite-se escolher o tipo de material e o dimensionamento do equipamento, porém o custo obtido é para o ano de 2014. Ressalta-se ainda que foi utilizado o *índice Chemical Engineering Plant Cost Index (CEPCI)*, com o uso da Equação (8) para ajustar os valores de acordo com o ano de 2022.

$$C_{\text{presente}} = C_{\text{passado}} \left(\frac{I_{\text{presente}}}{I_{\text{passado}}} \right) \quad (8)$$

em que C_{presente} é o custo de aquisição do equipamento no presente, I_{presente} é o índice de custo no presente, I_{passado} é o índice de custo na data do custo base, e C_{passado} é o custo de aquisição do equipamento base. O índice utilizado para atualizar o custo capital para a construção de uma biorrefinaria foi o CEPCI (*Chemical Plant Cost Indexes*).

O CEPCI tem se caracterizado como uma ferramenta importante para profissionais da indústria de processos químicos que utiliza números adimensionais empregados para atualizar o custo de capital necessário de construção de plantas de processo de uma data passada para uma época posterior, após mudanças no valor do dinheiro devido à inflação e deflação (Chemengonline, 2023).

O fator de localização (Equação 9) foi considerado para ajustar os custos dos equipamentos, uma vez que estes foram determinados para uma planta construída na costa do golfo nos Estados Unidos da América (EUA). O fator de localização para o Brasil foi considerado como 1,14 (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

$$C_A = C_{\text{USGC}} * L_{FA} \quad (9)$$

em que C_A é o custo do equipamento na nova localidade, C_{USGC} é o custo do equipamento que é exportado da costa do golfo nos EUA e L_{FA} é o fator de localização (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

Os custos de instalação, prédios, tubulações, sistemas elétricos, serviços e facilidades, obras civis e instrumentação e controle, são apresentados como porcentagens dos fatores de custo para o cálculo desses parâmetros (Tabela 7). Estes percentuais devem ser multiplicados sobre os custos de aquisição dos equipamentos calculados (Peters; Timmerhaus; West, 2003).

Tabela 7 - Custos em relação aos processos de sólidos e fluidos.

Custos	Porcentagem de custo (%)
Instalação	39
Serviços e facilidades	55
Prédios	.29
Instrumentação e controle	26
Tubulações	31
Sistemas elétricos	10
Obras civis	12
Isolamento	3

Fonte: Peters; Timmerhaus; West, (2003); Harrison *et al*, (2015).

Com o custo dos equipamentos, suas instalações e tubulações etc. é obtido o valor de custo direto total da planta (TPDC). O custo total da planta (TPC) é composto pelo TPDC, custo do terreno e custo total indireto da planta (TPIC). Sendo o custo do terreno 15% do custo fixo direto (DFC). O custo total indireto (TPIC) é mensurado por meio dos custos de engenharia e construção, que representam respectivamente 17,5% do TPDC e 15% do custo direto fixo (DFC). O valor do custo direto fixo (DFC) é o resultado da soma do TPC com os custos de contingência e empreiteira, ou seja, todos os custos diretos e indiretos de capital da planta. Os custos de contingência e empreiteira representam 10% do DFC. Então, o valor do CAPEX é obtido por meio do somatório do DFC com o capital de giro (WS) e o capital para a inicialização da planta (SC), onde o capital de giro corresponde a 15% do valor do CAPEX, e o capital de inicialização da planta corresponde a 5% do DFC (Peters; Timmerhaus; West, 2003). Além disso, é importante ressaltar o valor de sucata, que é o valor dos componentes individuais de um ativo físico quando o próprio ativo é considerado inutilizável. Os componentes individuais, conhecidos como sucata, valem alguma coisa se puderem ser utilizados para outros usos. Às vezes, os materiais de sucata podem ser usados

como estão e outras vezes devem ser processados antes de serem reutilizados. O valor de sucata considerado representa 10% do DFC (Deskera, 2023).

4.6 ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

A Análise de Sensibilidade é uma ferramenta essencial na avaliação de modelos matemáticos. Por meio do seu estudo, pode-se definir como a incerteza da resposta de um modelo pode ser dividida entre as diferentes fontes de incerteza dos dados de entrada e parâmetros do modelo (Elias *et al.*, 2021). Assim, a análise de sensibilidade é realizada para eliminar as variáveis menos influentes e, determinar quais as variáveis com maior impacto na métrica econômica do processo. Além disso, a análise de sensibilidade permite identificar as variáveis críticas no processo de projeção e determinação dos fluxos de caixa, de modo que se possa avaliar o projeto considerando diversas hipóteses sobre o comportamento dessas variáveis.

O uso da análise de sensibilidade pode ser bastante abrangente, na avaliação dos efeitos das variáveis locais nas respostas globais do processo e otimização do desempenho econômico do processo, ou comparação de diferentes configurações de processo (Elias *et al.*, 2020; Elias *et al.*, 2021b).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VARIÁVEIS DE PROCESSOS

Os resultados obtidos na simulação são comparáveis aos resultados experimentais (Tabela 9) para a produção do biocatalisador heterogêneo. As diferenças nas variáveis de processo ocorrem, devido principalmente ao fato de que o biorreator foi modelado utilizando o balanço estequiométrico da reação e não dados experimentais e modelos cinéticos. Adicionalmente, conforme pode ser observado, a concentração do biocatalisador aumentou no reator, indicando o crescimento e a produção de células microbianas a partir do uso da sacarose VHP como substrato e fonte de carbono. É importante ressaltar que as variáveis de processo da simulação corroboram com os valores do grupo de pesquisa (Tabela 8).

As variáveis de processo dos Cenários A e B são semelhantes devido a ambos os processos serem balanceados com a reação estequiométrica da equação 1.

Tabela 8 - Comparação das variáveis de processo obtidos na simulação e no experimental e na literatura.

Parâmetros do processo	Simulação	Experimental ^a
Concentração final sacarose (kg/m ³)	9,896	-
Concentração de frutose (kg/m ³)	9,137	-
Concentração de glicose (kg/m ³)	1,235	-
Concentração do biocatalisador (kg/m ³)	90	92,8
Produtividade (kg/m ³ .h)	2,812	2,9
Rendimento de produto/substrato (kg/kg)	0,586	0,60
Rendimento global de produto/substrato (kg/kg)	0,583	-
Concentração global do biocatalisador (kg/m ³)	89,67	-

^a Resultados calculados com os dados experimentais do grupo de pesquisa

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 BALANÇOS DE MASSA E ENERGIA

Os balanços de massa de massa foram realizados baseados na reação estequiométrica. Os balanços de massa dos cenários A (Tabelas 9 é balanço para o processo antes da unidade de reticulação e Tabela 10 é o balanço para a unidade de reticulação) e B (Tabela 11) são apresentados para a produção de biocatalisador, anexa a uma biorrefinaria brasileira de cana-de-açúcar, que produz açúcar, etanol e eletricidade. Para a produção de 2,6 kg/h do biocatalisador (produção anual de 22,680 toneladas) são necessários 4,5 kg/h de sacarose VHP, substrato do processo e principal insumo consumido pelo microrganismo como fonte de carbono. Essa quantidade de açúcar VHP representa um desvio de 1,5% na produção de açúcar da biorrefinaria considerada no caso base.

Conforme pode ser visto no balanço de massa de ambos os cenários (Tabelas 9 e 11), todo o inóculo é utilizado para o crescimento celular do fungo *A. oryzae* IPT-301, o EPU se mantém constante durante todo o processo, uma vez que é um material inerte utilizado como suporte de imobilização devido a sua área superficial, permeabilidade, facilidade do transporte de massa e espaço para o crescimento das células microbianas (De ory *et al.*, 2006). Além disso, para ambos os cenários avaliados o consumo de nutrientes é praticamente todo consumido, por fazer-se necessário no cultivo para o crescimento do microrganismo em meio de cultura sintético. Adicionalmente, ar atmosférico é utilizado em excesso, pois de acordo com Maiorano *et al.* (2020), essa é a quantidade que apresentou o maior crescimento celular. Glicose, frutose, CO₂ e água estão presentes ao final do processo em maior quantidade, pois são gerados na reação (Equação 1). O HCl, utilizado em quantidades mínimas para a manutenção do pH 5,5 do meio de cultura, manteve-se constante na simulação. Por fim, é importante mencionar que foram utilizados 17,507 kg/h de água na lavagem do biocatalisador. É importante ressaltar que a lavagem do biocatalisador ocorre para remoção de qualquer impureza ou resíduo da reação.

Tabela 9 – Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos do cenário A.

Equipamentos	Código no flowsheet	Sacarose (kg/h)	H₂O (kg/h)	Nutrientes (kg/h)	EPU (kg/h)	Biomassa (kg/h)	Frutose e glicose (kg/h)	HCl (kg/h)	Ar (kg/h)	CO₂ (kg/h)	Total (kg/h)
Misturador	Saída M-101	4,500	23,625	1,875	0	0	0	0	0	0	30,009
Trocador de Calor	E-103-104	4,500	23,625	1,875	0	0	0	0	0	0	30,009
Válvula divisora	Entrada V-103	4,5	23,625	1,875	0	0	0	0	0	0	30,009
Válvula divisora	Saída 1 V-103	0,9	4,725	0,375	0	0	0	0	0	0	6,000
Válvula divisora	Saída 2 V-103	3,6	18,900	1,875	0	0	0	0	0	0	24,009
Tanque de inoculação	Entrada 1 T-101	0,9	4,725	0,375	0	0	0	0	0	0	6,000
Tanque de inoculação	Entrada 2 T-101	0	0,603	0	0	0,031	0	0	0	0	0,633
Tanque de inoculação	Saída T-101	0,9	5,330	0,375	0	0,031	0	0	0	0	6,633
Compressor	C-101	0	0	0	0	0	0	0	23,200	0	23,200
Bomba dosadora	PD-101	0	0,110	0	0	0	0	0,006	0	0	0,116
Biorreator	Entradas R-101	4,500	24,360	1,875	0,164	0,031	0	0,006	23,200	0	54,136
Biorreator	Gases R-101	0	0	0	0	0	0	0	22,307	2,560	24,867
Biorreator	Saída R-101	0,290	26,189	0,003	0,164	2,638	0,301	0,006	0	0	29,316
Filtro	F-102	0	0	0	0	0	0	0	22,307	2,560	24,867
Bomba	P-102	0	17,507	0	0	0	0	0	0	0	17,507
Filtro	Entrada 1 F-103	0,290	26,189	0,003	0,164	2,638	0,301	0,006	0	0	29,315
Filtro	Entrada 2 F-103	0	17,507	0	0	0	0	0	0	0	17,507
Filtro	Saída 1 F-103	0,290	30,505	0,003	0	0,012	0,301	0,006	0	0	31,117
Filtro	Saída 2 F-103	0	13,141	0	0,164	2,325	0	0	0	0	15,930
ETE	ETE-101	0,290	30,505	0,003	0	0,012	0,301	0,006	0	0	31,117
Esteira de transporte	S-101	0	13,141	0	0,164	2,625	0	0	0	0	15,930

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 11 consiste na reticulação do biocatalisador heterogêneo, sequência do balanço de massa apresentado no cenário A (Tabela 10), com o acréscimo dos insumos utilizados para a unidade de reticulação. Para isso, foram utilizados 0,479 kg/h de solução tampão de Tris acetato (para manter o pH em 7.5), 0,666 kg/h de uma solução de 75% de glutaraldeído, 0,729 kg/h de uma solução de borohidreto de sódio e 0,002 kg/h hidróxido de sódio para parar a reticulação. Após a obtenção de um biocatalisador reticulado com 80% de umidade, foram utilizados no secador D-101 294,476 kg/h de ar para a remoção da umidade presente no biocatalisador. Após a secagem total do produto foram obtidos 2,776 kg/h de biocatalisador seco.

O processo de reticulação do biocatalisador heterogêneo produzido confere aos biocatalisadores vantagens funcionais, tais como a obtenção de um biocatalisador heterogêneo rígido e de maior resistência perante os agentes desnaturantes (calor, solventes orgânicos e pH extremos), além de minimizar o fenômeno de dessorção da enzima micelial, melhorar a adesão da célula ao suporte de imobilização e possibilitar o seu uso em diferentes configurações de reatores (Mendes *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2017).

Tabela 4 – Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos da unidade de reticulação.

Equipamentos	Código no flowsheet	Biocatalisador (kg/h)	EPU (kg/h)	H ₂ O (kg/h)	Glutaraldeído (kg/h)	Ar (kg/h)	Tris (kg/h)	Ácido acético (kg/h)	NaBH ₄ (kg/h)	NaOH (kg/h)	Total (kg/h)
Misturador	Saída M-103	0	0	2,369	0	0	0,479	0	0	0	2,849
Tanque de mistura	Entrada 1 T-103	0	0	2,369	0	0	0,479	0	0	0	2,849
Tanque de mistura	Entrada 2 T-103	0	0	0	0	0	0	0,009	0	0	0,009
Tanque de mistura	Entrada 1 T-105	0	0	2,690	0	0	0	0	0	0	2,690
Tanque de mistura	Entrada 2 T-105	0	0	0	0,666	0	0	0	0	0	0,666
Tanque de mistura	Saída T-105	0	0	2,690	0,666	0	0	0	0	0	2,556
Tanque de mistura	Reticulação T-104	2,625	0,164	18,200	0,666	0	0,479	0,009	0	0	22,143
Tanque de mistura	Entrada 1 T-106	0	0	7,289	0	0	0	0	0	0	7,289
Tanque de mistura	Entrada 2 T-106	0	0	0	0	0	0	0	0	0,003	0,003
Tanque de mistura	Entrada 3 T-106	0	0	0	0	0	0	0	0,729	0	0,729
Tanque de mistura	Saída T-106	0	0	7,289	0	0	0	0	0,729	0,003	8,021
Tanque de mistura	Parar a reticulação T-104	2,625	0,164	25,489	0,666	0	0,479	0,009	0,729	0,003	30,164
Filtro	Entrada 1 F-104	2,625	0,164	25,488	0,666	0	0,479	0,009	0,729	0,003	30,164
Filtro	Entrada 2 F-104	0	0	14,156	0	0	0	0	0	0	14,156
Filtro	Saída 1 F-104	0,012	0	27,889	0,666	0	0,479	0,009	0,729	0,002	29,787
Filtro	Saída 2 F-104	2,613	0,164	11,756	0	0	0	0	0	0	14,532
ETE	ETE-101	0,012	0	27,889	0,666	0	0,479	0,009	0,729	0,002	29,787
Secador	Entrada de ar D-101	0	0	0	0	263,153	0	0	0	0	263,153
Secador	Entrada D-101	2,612	0,164	11,756	0	0	0	0	0	0	14,532
Secador	Saída de vapor D-101	0	0	11,756	0	263,153	0	0	0	0	294,476
Secador	Saída D-101	2,612	0,164	0	0	0	0	0	0	0	2,776
Esteira	S-102	2,612	0,164	0	0	0	0	0	0	0	2,776

Fonte: Elaborado pelo autor

Os balanços de massa do cenário B (Tabela 11) são semelhantes aos resultados obtidos do cenário A (Tabela 9) após o cultivo microbiano, entretanto o cenário B não tem a unidade de reticulação, e então após lavagem da torta do biocatalisador com 80% de umidade, foi realizado a secagem com 295,861 kg/h de ar e obteve 308,162 kg/h de vapor e obteve-se 2,789 kg/h de biocatalisador. A proposta de produção do biocatalisador sem reticular se deve ao fato de que alguns estudos apontam que a reticulação não é necessária para a produção de biocatalisadores visando a síntese de FOS.

Barbosa (2022), avaliou as concentrações de sacarose acima de 400 g L⁻¹; o mesmo ocorre ao se avaliar a concentração de FOS em conjunto com a variação da concentração de sacarose no meio reacional. Para a concentração de 480,2 g L⁻¹ de substrato, foram obtidas as concentrações de FOS iguais a 144,2 g L⁻¹ e 132,5 g L⁻¹, para as células integras imobilizadas em EPU e imobilizadas/reticuladas, respectivamente. Isso mostra que a reticulação talvez, não seja necessária na produção destes biocatalisadores, pois as concentrações de ambos os casos são próximas (Barbosa, 2022). Entretanto, o biocatalisador reticulado se saiu melhor nos testes de pH, temperatura e estabilidade operacional, portanto a reticulação ainda é fundamental para obtenção de um biocatalisador mais robusto.

No cenário B foram gerados 48.9% a menos de resíduos que no cenário A. Isto ocorre devido a unidade reticulação empregar maior quantidade de produtos químicos em maior quantidade de etapas, o que gera maior quantidade de resíduos. Além disso, é importante ressaltar que a quantidade de biocatalisadores produzidos nos dois cenários é diferente, uma vez que a unidade de reticulação apresenta etapas a mais.

Tabela 5 - Vazão mássica de entrada e saída dos equipamentos do cenário B.

Equipamentos	Código no <i>flowsheet</i>	Sacarose (kg/h)	H ₂ O (kg/h)	Nutrientes (kg/h)	EPU (kg/h)	<i>A. oryzae</i> (kg/h)	Frutose e glicose (kg/h)	HCl (kg/h)	Ar (kg/h)	CO ₂ (kg/h)	Total (kg/h)
Misturador	Saída M-101	4,500	23,625	1,875	0	0	0	0	0	0	30,009
Válvula divisora	Entrada V-103	4,5	23,625	1,875	0	0	0	0	0	0	30,009
Válvula divisora	Saída 1 V-103	0,9	4,725	0,375	0	0	0	0	0	0	6,000
Válvula divisora	Saída 2 V-103	3,6	18,900	1,875	0	0	0	0	0	0	24,009
Tanque de inoculação	Entrada 1 T-101	0,9	4,725	0,375	0	0	0	0	0	0	6,000
Tanque de inoculação	Entrada 2 T-101	0	0,603	0	0	0,031	0	0	0	0	0,633
Tanque de inoculação	Saída T-101	0,9	5,330	0,375	0	0,031	0	0	0	0	6,633
Compressor	C-101	0	0	0	0	0	0	0	23,200	0	23,200
Bomba dosadora	PD-101	0	0,110	0	0	0	0	0,006	0	0	0,116
Biorreator	Entradas R-101	4,500	24,360	1,875	0,164	0,031	0	0,006	23,200	0	54,136
Biorreator	Gases R-101	0	0	0	0	0	0	0	22,307	2,560	24,820
Biorreator	Saída R-101	0,290	26,189	0,003	0,164	2,638	0,301	0,006	0	0	29,316
Filtro	Entrada 1 F-103	0,290	26,189	0,003	0,164	2,638	0,301	0,006	0	0	29,315
Filtro	Entrada 2 F-103	0	17,507	0	0	0	0	0	0	0	17,507
Filtro	Saída 1 F-103	0,290	30,505	0,003	0	0,012	0,301	0,006	0	0	31,117
Filtro	Saída 2 F-103	0	13,141	0	0,164	2,625	0	0	0	0	15,930
ETE	ETE-101	0,290	30,505	0,003	0	0,012	0,301	0,006	0	0	31,117
Secador	Entrada de ar			0	0	0	0	0	316,045	0	316,045
	D-101	0	0								
Secador	Entrada D-101	0	13,141	0	0,164	2,625	0	0	0	0	15,930
Secador	Saída de D-101	0	13,141	0	0	0	0	0	316,045	0	329,186
Secador	Saída D-101	0	0	0	0,164	2,625	0	0	0	0	2,789
Esteira de transporte	S-101	0	0	0	0,164	2,625	0	0	0	0	2,789

Fonte: Elaborado pelo autor.

As utilidades utilizadas no processo (Tabela 12), quentes e frias, foram consideradas dentro do contexto de biorrefinaria, ou seja, essas utilidades são produzidas internamente, visto que a biorrefinaria é autossuficiente em energia. O consumo de utilidades quentes foi estimado como 6,298 kW e 6,167 kW nos cenários A e B, respectivamente. Em ambos os casos, a maior demanda energética é nas etapas referentes à parte *upstream* do processo, que utiliza energia para agitação e para esterilização. A maior demanda energética anual é do cenário A (31,741 MW) em comparação ao cenário B (31,081 MW). Os trocadores de calor utilizados para esterelizar os insumos foram os principais responsáveis pelo consumo de utilidades quentes em ambos os processos, sendo responsáveis por 46% do consumo energético de utilidade quente no cenário A e 33% no cenário B.

De acordo com o caso base apresentado a integração da produção de biocatalisador visando a síntese do FOS na biorrefinaria poderia ser factível, uma vez que a quantidade de energia necessária para todo o processo em ambos os cenários é menor que a energia excedente de uma biorrefinaria de tamanho médio.

Com relação ao consumo de utilidades frias, o consumo foi estimado igual para os ambos cenários com o valor de 90,809 kg/h, isto ocorre porque a unidade de reticulação não tem nenhuma etapa de resfriamento. O maior consumo de utilidades frias foi na etapa *upstream* para ter a temperatura do meio de cultura em 30°C, após o aquecimento.

Tabela 6 - Quantidade das utilidades usadas nos processos avaliados

Utilidades	Cenário A	Cenário B
Utilidade quente anual (MW)	31,741	31,081
Utilidade quente (kW)	6,298	6,167
<i>Upstream</i>	3,121	3,121
Cultivo	1,356	1,356
<i>Downstream</i>	1,821	1,690
Utilidade fria anual (t)	457,677	457,677

Utilidade fria (kg/h)	90,809	90,809
<i>Upstream</i>	90,304	90,304
Cultivo	0,505	0,505
<i>Downstream</i>	0	0

MW - Megawatt
kW- Quilowatt
t - Toneladas

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 AVALIAÇÃO ECONÔMICA

Os resultados dos balanços de massa e energia foram utilizados como base para estimar o tamanho dos equipamentos. O CAPEX estimado está apresentado na Tabela 13. É importante ressaltar que o custo mais elevado é na etapa do cultivo devido ao uso de múltiplos biorreatores que operam em batelada, e transformam o processo em contínuo.

Tabela 7 - Custo de capital do cenário A e B da produção do biocatalisador heterogêneo.

	Cenário A(M\$)	Cenário B(M\$)
Equipamentos		
<i>Upstream</i>	0,346	0,346
Cultivo	2,908	2,908
<i>Downstream</i>	0,791	0,303
Total	4,045	3,557
Instalação	1,578	1,387
Prédios	1,173	1,032
Instrumentação e controle	1,052	0,925
Tubulações	1,254	1,103

Sistemas elétricos	0,405	0,356
Isolamento	0,121	0,107
TPDC^a	9,627	8,467
Engenharia	1,685	1,481
Construção	2,310	2,030
TPIC^b	3,995	3,511
Terreno	0,231	0,203
TPC^c	13,853	12,182
Contingências	1,539	1,353
DFC^d	15,392	13,535
Capital de giro	2,852	2,508
Capital de inicialização	0,769	0,677
CAPEX^e	19,013	16,720

M - Milhões

^aTPDC – Custo direto total da planta, representa a soma dos equipamentos, instalação, prédios, instrumentação e controle, tubulações, sistemas elétricos e isolamento.

^bTPIC - Custo indireto total da planta, representa a soma de engenharia e construção.

^cTPC - Custo total da planta, representa a soma do TPDC, TPIC e terreno.

^dDFC - Custo fixo da planta, representa a soma do TPC e contingências.

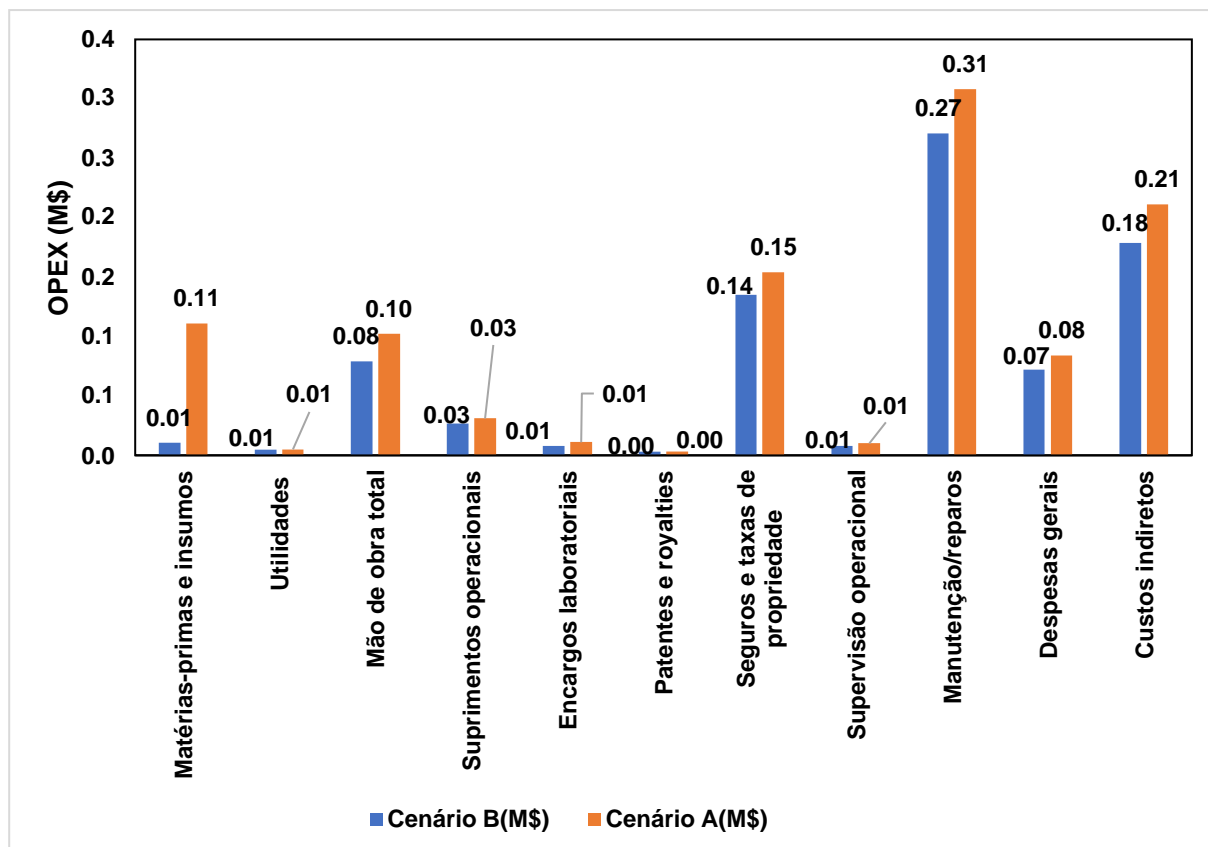
^eCAPEX == Custo de capital total da planta, representa a soma do DFC, capital de giro e capital de inicialização.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme esperado, o CAPEX do cenário A é maior que o CAPEX do cenário B em função do investimento nos equipamentos da unidade de reticulação do biocatalisador. Além disso, como há maior quantidade de equipamentos necessários no cenário A, todos os custos operacionais atrelados a eles, de forma direta ou indireta (como mão-de-obra, manutenção e reparos, supervisão operacional, suprimentos, depreciação, despesas gerais, entre outros custos) também aumentaram proporcionalmente (\$ 234 mil dólares).

As estimativas relacionadas ao OPEX são apresentadas na Figuras 8.

Figura 9 - Custo de operacional do cenário A e B da produção do biocatalisador heterogêneo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme mencionado previamente, o cenário A, em que há a unidade de reticulação, tem um custo operacional anual superior ao cenário B. A diferença representa 234 mil dólares. O aumento do OPEX é principalmente em função das etapas do processo relacionadas a reticulação do biocatalisador, que resultaram em maior consumo de insumos e matérias-primas (principalmente os insumos de alto valor comercial como tris-acetato, glutaraldeído e borohidreto de sódio), utilidades quente e mão de obra (pois a adição da unidade de reticulação aumenta o custo com 2 colaboradores a mais por turno, que gera um gasto de aproximadamente 71 mil dólares anuais).

Os principais custos operacionais são manutenção e reparos, custos indiretos

e seguros e taxas de propriedade. Conforme pode ser visto, os custos relacionados a matéria-prima e insumos são consideravelmente inferiores no cenário B quando comparados a estes mesmos custos no cenário A (representam 9% do cenário A) . Isso acontece porque foi considerado que o preço da sacarose VHP é nulo, uma vez que ela produzida internamente e representa uma parcela desprezível da produção total de açúcar da planta (1,5%). Além disso, o cenário B tem um consumo superior de insumos devido as etapas do processo referentes a reticulação do biocatalisador. Esses são resultados alinhados com o balanço de massa apresentado na Tabela 11.

Os critérios de avaliação de desempenho econômico VPL, PMV, TIR e tempo de retorno do processo de produção do biocatalisador foram avaliados (Tabela 14).

Tabela 8 - Avaliação econômica dos cenários.

Parâmetros econômicos	Cenário A	Cenário B
CAPEX(M\$)	19,013	16,720
OPEX(M\$)	1,030	0,796
VPL (M\$)	-1,145	-11,017
TIR (%)	8.336	0,005
PMV (US\$/kg)	437.285	376,296
Preço de venda do biocatalisador (US\$/kg)	420	210
Receita (M\$)	85,557	2,778
Tempo de retorno (anos)	8,315	17,896

Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme esperado o desempenho econômico do cenário B foi inferior ao cenário A, uma vez que a mesma quantidade de biocatalisador é semelhante em ambos os cenários e o cenário B tem o preço de venda, com a metade do valor do cenário A. Apesar do cenário A ter um desempenho econômico superior ao cenário B,

ainda assim tem um desempenho econômico negativo (VPL de -1,145 e TIR igual a 8.336%, valor inferior a TMA considerada igual a 11%) e, portanto, é inviável.

O PMV, que representa o preço do biocatalisador que torna o VPL igual a zero a uma TMA de 11%, no cenário A foi estimado como 437.285 US\$/kg, valor maior que o preço de venda do biocatalisador considerado como 420 US\$/kg (valor convertido de euro para dólar de acordo com os dados de Tufvesson *et al.*, 2011). Esses resultados apontam que as propostas de produção de biocatalisador sem reticulação anexa a uma biorrefinaria de cana-de-açúcar estão próximas de serem uma opção economicamente atraente para variar o portfólio dessas indústrias brasileiras.

O PMV do biocatalisador do cenário B foi determinado como 376,296 US\$/kg, valor superior ao preço de venda considerado como 210 US\$/kg. Assim, um aumento (de 55,81%) no preço de venda do biocatalisador seria suficiente para tornar o processo simulado no cenário B viável. Esta é uma hipótese razoável, visto que o biocatalisador tem um alto valor comercial e não é produzido nacionalmente para comercialização. É importante mencionar que foi utilizado como base um valor de venda do biocatalisador não reticulado como a metade do valor de venda do biocatalisador reticulado, uma vez que a reticulação confere ao produto robustez.

O biocatalisador reticulado não é igual ao biocatalisador não reticulado, pois a reticulação possibilita a obtenção de um biocatalisador heterogêneo mais rígido e de maior resistência perante os agentes desnaturantes (calor, solventes orgânicos e pH extremos), além de minimizar o fenômeno de dessorção da enzima micelial, melhorar a adesão da célula ao suporte e possibilitar o seu uso em diferentes configurações de reatores (Mendes *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2017). Além disso, Barbosa (2022), desenvolveram ensaios de estabilidade operacional que mostraram que as células imobilizadas e imobilizadas e reticuladas retiveram cerca de 50,23% e 60,90% da atividade de transfrutoseilação, respectivamente, após 12 ciclos reacionais consecutivos em batelada, e devido a isso o PMV do biocatalisador reticulado pode ser considerado maior que o biocatalisador não reticulado.

Outro fator que faz com que o custo do biocatalisador reticulado seja o dobro do biocatalisador não reticulado, é o estudo realizado por Garcia *et al.* (2021) que

avaliou as atividades das células imobilizadas e reticuladas que apresentaram atividade acima dos 90% em todos os 12 ciclos reacionais, entretanto as células imobilizadas a partir do 6 ciclo reacional sua atividade é menor que 80%, chegando há 50% de atividade no 12º ciclo.

Estes resultados são comparáveis com outros encontrados na literatura (Tufvesson *et al.*, 2011; Vanková *et al.* 2007). Vanková *et al.* (2007) encontraram o PMV de 570 €/kg em 2007 para o processo da produção de FTase imobilizada. Entretanto, mais de 97% dos custos de matéria-prima foram atribuídos ao custo da resina para imobilização. Além disso o processo teve um custo total de capital de 4,1 milhões de euros, e os custos operacionais foram de 705200 €. A partir, desse estudo é possível perceber, como a escolha dessa resina específica como material de suporte aumento os custos do processo.

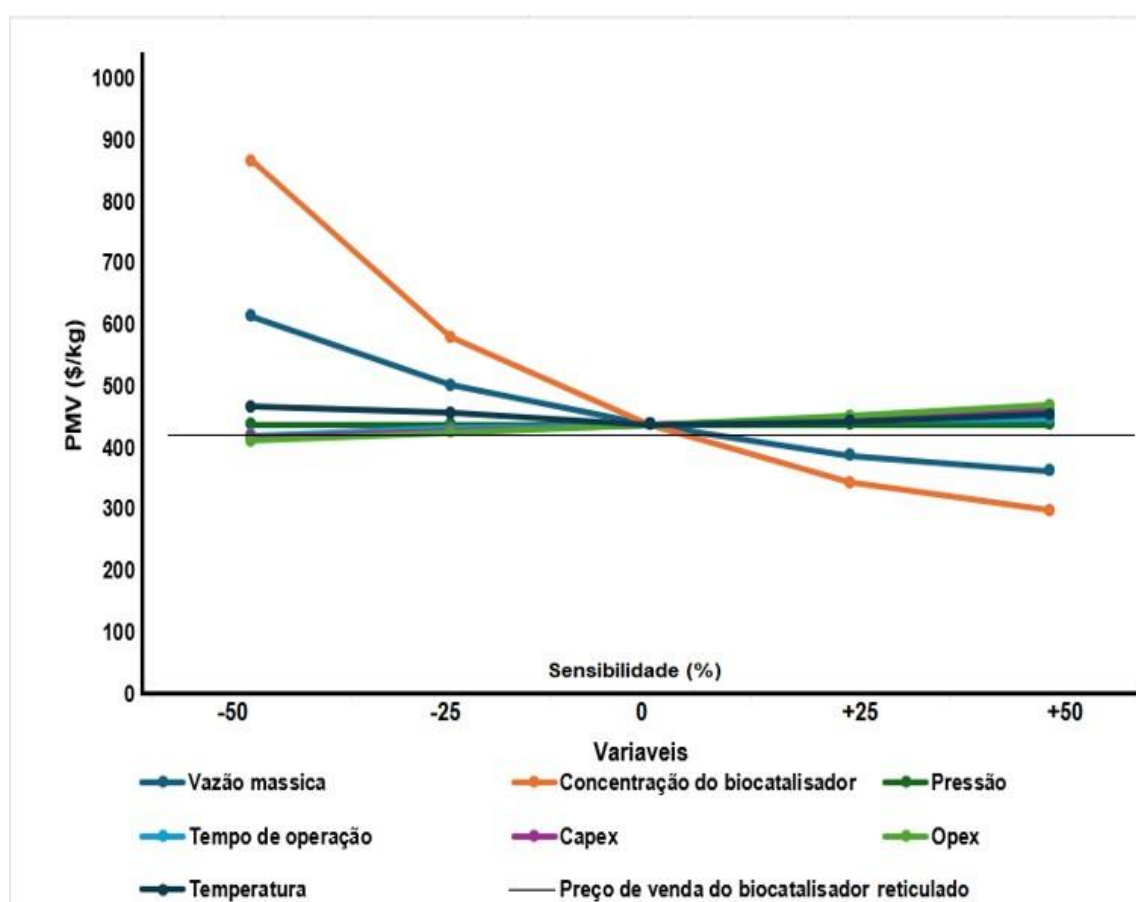
Tufvesson *et al.*, 2011 apresentaram faixas de custo de produção de biocatalisadores de acordo com a sua pureza. Os custos para as diferentes formas do biocatalisador foram de 35-350 €/kg peso de célula seca para toda a célula, 250-2500 €/kg para a enzima isolada bruta e 100-1000 €/kg para o biocatalisador imobilizado. Isto ocorre devido as diferentes demandas de mercado de produtos farmacêuticos e a granel, a grande diferença nos requisitos de produtividade entre a célula inteira e a enzima bruta e principalmente à diferença na concentração de células das preparações.

Analisando pelo ponto de vista econômico do processo proposto neste estudo, a produção de biocatalisador reticulado apresenta um custo de operação e de investimento mais elevado quando comparado ao biocatalisador sem reticulação, o que é esperado devido a adição da unidade de reticulação. Então, embora a reticulação seja uma técnica promissora para melhorar a qualidade e desempenho do biocatalisador, a sua produção ainda necessita de melhorias processuais para adquirir um aumento nas receitas e diminuição de custos e despesas do processo, dessa forma, tornar-se uma unidade industrial economicamente viável. Entretanto, com o uso da reticulação se obtém um biocatalisador com maior atividade enzimática e devido a isso possui um preço de venda mais elevado.

5.4 ANÁLISE DE SENSIBILIDADE

De forma geral, a análise de sensibilidade é apresentada para avaliar o impacto das incertezas associadas com a avaliação econômica e estabelecer sua robustez para investimento na tomando de decisão. Foi realizado a análise de sensibilidade dos cenários A e B em relação à do tempo de operação, CAPEX, OPEX, vazão mássica de sacarose, concentração do biocatalisador, pressão e temperatura, para investigar como a variação dessas variáveis afeta o desempenho econômico representado pelo VPL. Variou-se de -50% a + 50% (Figuras 10 e 11).

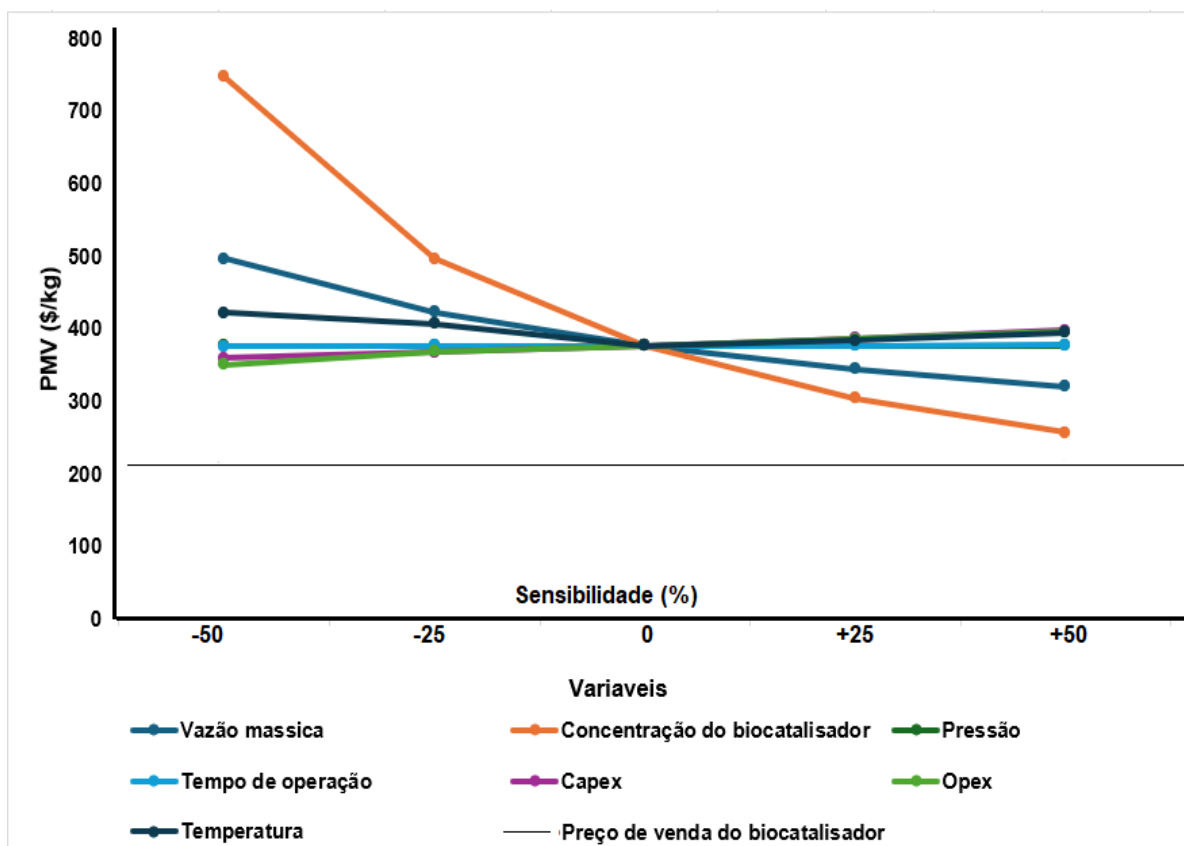
Figura 10 - PMV em função da variação do tempo de operação , CAPEX, OPEX, vazão mássica, concentração do biocatalisador, pressão e temperatura para o cenário A.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Com exceção da pressão todas as variáveis influenciam na viabilidade econômica do processo representado pelo cenário A (Figura 10), com destaque para as variáveis de concentração do biocatalisador e vazão mássica de sacarose, que são as variáveis que influenciam de forma mais significativa. Uma variação de aumento de 3% na concentração do biocatalisador ou um aumento de 5% na vazão de sacarose processada seria suficiente para tornar o processo viável. A influência da sacarose processada avalia os ganhos da economia de escala, uma vez que quando há expansão na capacidade de produção de uma empresa ou indústria, provoca-se um aumento na quantidade total produzida sem um aumento proporcional no custo de produção. Diante disso, o custo médio do produto tende a ser menor com o aumento da produção (Carrer; Souza Filho, 2016). Ao aumentar e diminuir temperatura não melhora o desempenho do processo pois já ocorre na melhor temperatura. Assim, ao aumentar a escala de produção também o VPL do cenário A se tornou positivo. Entretanto, essa é uma produção alta para a demanda do mercado nacional de biocatalisador visando a produção de FOS, sendo a exportação uma alternativa factível. No caso do tempo de operação, CAPEX e OPEX, uma variação de -50 respectivamente, seriam suficientes para obter um PMV menor que o estipulado 420 \$/kg.

Figura 11 - PMV em função da variação do tempo de operação , CAPEX, OPEX, vazão mássica, concentração do biocatalisador, pressão e temperatura para o cenário B.

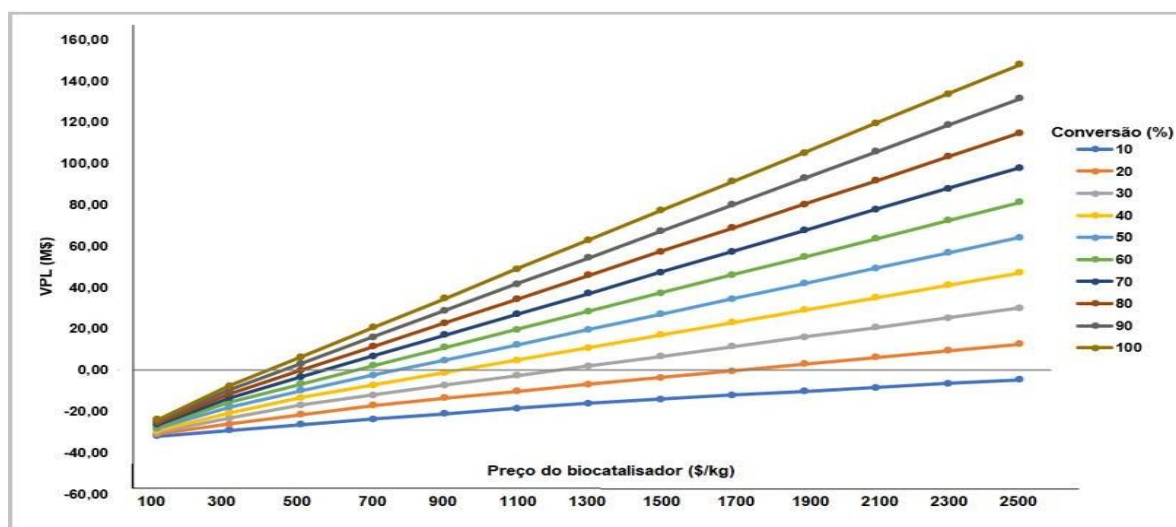


Fonte: Elaborado pelo autor.

No cenário B (Figura 11), nenhuma das alterações realizadas nas variáveis obteve um PMV igual ou menor que o preço estipulado de 210 \$/kg. Comparando os cenários A e B, o cenário A está mais próximo da viabilidade econômica, isto ocorre devido ao biocatalisador reticulado ter maior atividade enzimática que o biocatalisador não reticulado.

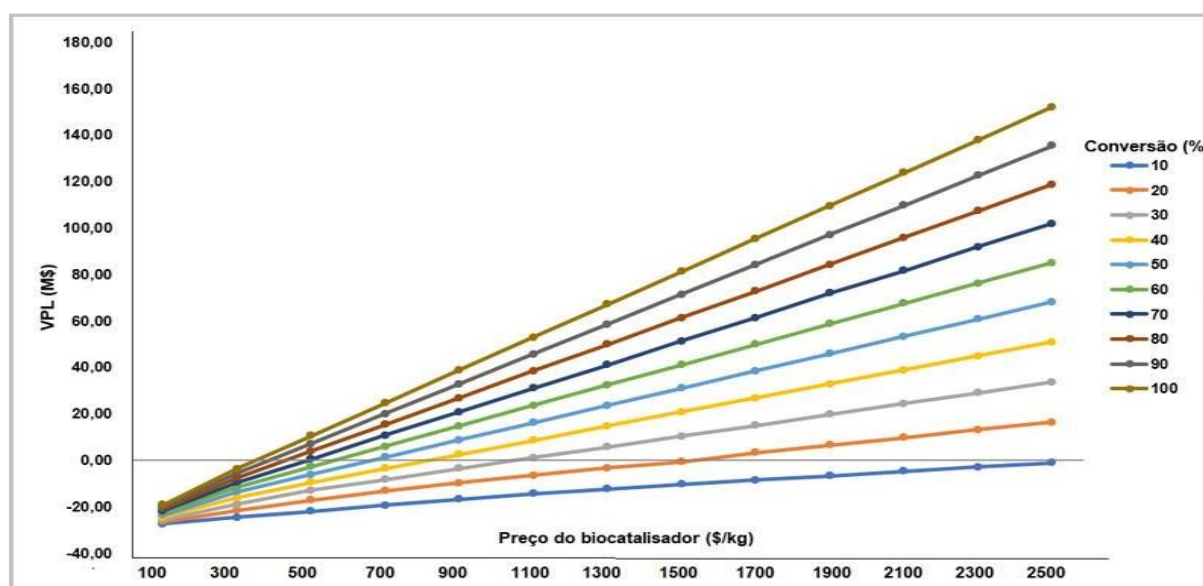
Também foram realizadas análises de sensibilidade de ambos os cenários, para avaliar como a variação em 10% até 100% na conversão e a variação de acordo com os dados de Tufvesson *et al.* (2011) de 100 até 2500 US\$/kg no preço de venda do biocatalisador afetam o desempenho econômico representado pelo VPL (Figuras 12 e 13).

Figura 12 - VPL em função da variação da conversão (de 10% até 100%) e da variação do preço de venda do biocatalisador (de 100 US\$/kg até 2500 US\$/kg) do cenário A.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13 - VPL em função da variação da conversão (de 10% até 100%) e da variação do preço de venda do biocatalisador (de 100 US\$/kg até 2500 US\$/kg) do cenário B.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O cenário B teve um preço de venda de 210 US\$/kg, e com este preço de venda, nem mesmo com a conversão de 100% é suficiente para que o VPL seja igual ou superior a zero. Para o cenário A, ao adotar um preço de venda de 420 US\$/kg obtém-se um desempenho econômico positivo somente com a conversão de 97,29%. É importante ressaltar que o cenário A é economicamente viável com este preço de venda, desde que as conversões sejam superiores a 97,29%.

Nota-se também que conversões baixas, como 10%, nem mesmo aumentos expressivos nos preços de venda do biocatalisador (2500 US\$/kg) são suficientes para tornar o processo atrativo do ponto de vista econômico. Percebe-se que, conforme esperado, para maiores conversões, são necessários menores preços de venda do biocatalisador para se obter um VPL positivo. Esses resultados indicam que o desenvolvimento do processo é ainda crucial para implementar esses processos em larga escala de forma viável.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho propôs a síntese, modelagem, simulação e ATE da produção de um biocatalisador heterogêneo a partir da imobilização de células de *A. oryzae* IPT-301, com atividade enzimática, em cubos de EPU. Com os resultados obtidos neste trabalho, pôde-se concluir que:

O valor obtido de produtividade, expresso em massa por unidade de volume por hora, foi de 2,8 kg/m³ h em 32 horas de processo fermentativo;

Foi possível modelar e simular plantas virtual com capacidade de produção de 2,7 kg/h de biocatalisadores a partir do cultivo, imobilização e imobilização/reticulação, concomitantes, de células de *A. oryzae* IPT-301 utilizando 4,5 kg/h de sacarose VHP como substrato;

Os parâmetros simulados do processo, principalmente os de desempenho (rendimento e conversão) corroboraram com os valores experimentais obtidos em laboratório e da literatura;

A maior demanda anual de utilidade quente é do cenário A (31,741 MW) em comparação ao cenário B (31,081 MW), entretanto a demanda de utilidade fria é mesma para ambos os cenários, devido a unidade de reticulação não ter nenhuma etapa de resfriamento;

O cenário A tem um desempenho econômico negativo (VPL de -1,145 milhões e TIR inferior ao valor inferior a TMA considerada igual a 11%) e, portanto, inviável;

O cenário B tem menores investimentos em CAPEX e OPEX, quando comparado ao cenário A, porém também foi considerado economicamente inviável, devido ao seu biocatalisador ter atividade menor que o biocatalisador do cenário A e, portanto, seu preço de venda é menor;

No cenário o PMV é mais sensível em relação a variação da concentração do biocatalisador e a vazão mássica de sacarose que com uma pequena variação se obteve preços menores que o estipulado 420 \$/kg. Entretanto, no cenário B o PMV não se tornou menor ou igual ao preço de venda do biocatalisador com nenhuma das alterações realizadas.

O cenário B teve um preço de venda de 210 US\$/kg, e com este preço de venda, nem mesmo com a conversão de 100% foi obtido o VPL igual zero. Entretanto, o cenário A com o preço de venda de 420 US\$/kg obteve o VPL igual zero somente com a conversão de 97,29%;

Em ambos os cenários com uma conversão de 10% nem mesmo com o preço de venda de 2500 US\$/kg não tornou o VPL positivo, entretanto a partir de 20% de conversão é possível obter VPL positivo dentro da faixa de preço. Além disso, é importante ressaltar que quanto maior a conversão menor será o preço de venda que forneça um VPL positivo.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para continuidade desse trabalho, são propostas as seguintes sugestões:

- Ampliar a modelagem e simulação do processo de produção do biocatalisador, considerando também a produção de FOS;
- Incluir a recuperação e tratamento dos resíduos gerados no processo;
- Integrar a produção do biocatalisador e da produção de FOS na biorrefinaria;
- Realizar a análise de ciclo de vida para quantificação de impactos ambientais presentes associados ao processo.

REFERÊNCIAS

ABSOLUTE REPORTS. 2021. Disponível em: <https://www.absolutereports.com/global-fructooligosaccharide-fos-sales-market-17387945> Acesso em: Maio de 2021.

ACOSTA, O. B. G.; ARRIAGA, S.; BARRIOS, V. A. E.; FLORES, S. C.; CAMARILLO, A. A. Performance of innovative PU-foam na natural fiber-base composites for the biofiltration of a mixture of volatile organic compounds by a fungal biofilm. **Journal of Hazardous Materials**, 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. 2019.

ALSOC 2010. Disponível em: <http://www.enq.ufrgs.br/trac/alsoc/wiki/EMSO>>. Acesso em: Maio de 2021.

ANDRADES, D., GRAEBIN, N.G., KADOWAKI, M.K., AYUB, M.A.Z., FERNANDEZ-LAFUENTE, R., RODRIGUES, R.C., Immobilization and stabilization of different β -glucosidases using the glutaraldehyde chemistry: optimal protocol depends on the enzyme. **Int J Biol Macromol** v. 129, p. 672-678, 2019.

ANTOŠOVÁ, M.; POLAKOVIČ, M. Fructosyltransferases: the enzymes catalyzing production of fructooligosaccharides. **Chemical Papers**, v. 55, n. 6, p. 350-358, 2001.

ARAÚJO, et al., Enhancement of fructosyltransferase stability by immobilization on polyhydroxybutyrate and glutaraldehyde-activated polyhydroxybutyrate for fructooligosaccharides production. **J Chem Technol Biotechnol** p. 1-12, 2022.

ARAÚJO, I. M. **Imobilização de frutossiltransferase extracelular de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em polihidroxiburita e sua caracterização bioquímica para a produção de frutooligosacarídeos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFAL, Poços de Caldas, 2021.

BADGUJAR, K. C.; BHANAGE, B. M. Investigation of deactivation thermodynamics of lipase immobilized on polymeric carrier. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, n. 5, p. 741-757, 2017.

BARBOSA, Geraldo Nazareno de Oliveira. **Produção de frutossiltransferase por *Rhodotorula sp.*** 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2007.397430>. Acesso em: 15 jan. 2022.

BARBOSA, Nathália Romani. **imobilização de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em esponja de poliuretano para a produção enzimática de fruto-oligossacarídeos.** 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFAL, Poços de Caldas, 2022. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2319>. Acesso em: 15 mai. 2023.

BARBOSA O, TORRES R, ORTIZ C, FERNANDEZ-LAFUENTE R. Versatility of glutaraldehyde to immobilize lipases: Effect of the immobilization protocol on the properties of lipase B from *Candida antarctica*. **Process Biochem.** v. 47, p. 1220-1227, 2012.

BRENDA. **Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig. 2018.** Disponível em: <<http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=2.4.1.9>>.

BUDZIANOWSKI, W.M. Postawa K. High-value low-volume bioproducts coupled to bioenergies with potential to enhance business development of sustainable biorefineries. **Appl Energy** v. 184, p. 1432-46, 2017.

BVC - Biorrefinaria Virtual de Cana; CTBE - LABORATÓRIO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO BIOETANOL. **Simulações Aspen Plus.** 2016.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J. B. A. Uso de células e enzimas imobilizadas em processos biotecnológicos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.36, p.48-57, 2006.

CARRER, M. J., & SOUZA FILHO, H. M. Economias de Escala e Eficiência Econômica na Produção de Laranja no Estado de São Paulo ,. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 54(1), p. 51-70, 2016.

CASTRO, C.C. et al. Screening and selection of potential carriers to immobilize *Aureobasidium pullulans* cells for fructo-oligosaccharides production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 118,p. 82-90, 2017.

CASTRO, Cristina Cordeiro; NOBRE, Clarisse; DUPREZ, Marie Eve; DE WEIRELD, Guy; HANTSON, Anne-Lise; Screening and selection of potential carriers to immobilize *Aureobasidium pullulans* cells for fructo-oligosaccharides production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 118, p. 82-90, 2017.

CASTRO, R. J. S.; SATO, H.H. Protease from *Aspergillus oryzae*: Biochemical characterization and application as a potential biocatalyst for production of protein hydrolases with antioxidant activities. **Journal of Food Processing**, v. 2014, 2014.

CGEE. Estudo sobre as possibilidades e impactos da produção de grandes quantidades de etanol visando à substituição parcial de gasolina no mundo. **2005**. Relatório final, Centro de Gestão e Estudos Estratégicos CGEE-Nipe/Unicamp, dezembro de 2005.

CHMENGONLINE. **CEPCI** - Disponível em: < <https://www.chemengonline.com/pci-home>>. Acesso em: 1 jun. 2023.

CHOUKADE, R., KANGO, N. Production, properties, and applications of fructosyltransferase: a current appraisal, **Critical Reviews in Biotechnology**, (2021).

COMEXSTAT. **Exportação de Ácido clorídrico. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/70586>>Acesso em: 11 out. 2022

COMEXSTAT. **Exportação de Fosfato de potássio. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/69287>>. Acesso em: 11 out. 2022.

COMEXSTAT. **Importação de Ácido acético. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/69276>>. Acesso em: 10 out. 2022.

COMEXSTAT. **Importação de Glutaraldeído. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/69272>>. Acesso em: 11 out. 2022.

COMEXSTAT. **Importação de Hidróxido de sódio. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/69287>>. Acesso em: 11 out. 2022.

COMEXSTAT. **Importação de Nitrato de sódio. 2022** - Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/69291>>. Acesso em: 25 out. 2022.

CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/14173-12-levantamento-safra-2019-20>> Acesso em Mar. 2022.

CORCUERA, M. A.; D'ARLAS, B. F.; ARBELAIZ, A.; MARIETA, C.; MONDRAGON, I.; ECEIZA, A. Microstruture and properties of polyurethanes derived from castor oil. **Polymer Degradation an Stability**, v. 95, p. 2175-2184, 2010.

COURTIN, C. M., SWENNEN, K., VERJANS, P., DELCOUR, J. A. Heat and pH stability of prebiotic arabinoxylooligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides. **Food Chemistry**, v. 112, p. 831-837, 2009.

COSTA, G. T., ABREU, G. C., GUIMARÃES, A. B. B; VASCONCELOS, P. R. L., GUIMARÃES, S B. Fructooligosaccharide effects on serum cholesterol levels. An overview. **Acta Cirúrgica Brasileira, Brasil**, v. 5, n. 30, p. 366-370, abr. 2015

COSTA, M. C. V. **Simulação e análise do efeito da variação de parâmetros sobre a perda de carga e transferência de calor em trocadores de calor casco e tubo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Instituto de Ciência e Tecnologia, UFPE, Pernambuco, 2016.

CRUZ, J. et al. Optimized preparation of CALB-CLEAs by response surface methodology: The necessity to employ a feeder to have an effective crosslinking. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 80, p. 7-14, 2012.

CUERVO-FERNÁNDEZ, R. et al. Screening of β -fructofuranosidase-producing microorganisms and effect of pH and temperature on enzymatic rate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, p. 87, 2007.

CUNHA, Josivan de Sousa. **Produção e caracterização da enzima frutossiltransferase de *Aspergillus oryzae* IPT-301 visando a obtenção de frutooligosacarídeos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFAL, Poços de Caldas, 2017. Disponível em: <https://btd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1022>. Acesso em: 10 jan. 2021.

CUNHA, J.S., OTTONI, C.A., MORALES, S.A.V., SILVA, E.S., MAIORANO, A.E., PERNA, R.F. Synthesis and characterization of fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* IPT-301 for high fructooligosaccharides production. **Braz J Chem Eng**. v. 36, p. 657-658, 2019.

DACEWICZ E, GRZYBOWSKA-PIETRAS J. Espumas de poliuretano para tratamento de esgoto doméstico. **Materiais**; 14(4):933. <https://doi.org/10.3390/ma14040933>, 2021.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M.D.G.; SOLDI, V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. **Química Nova**. v. 27, n. 4, p. 623-30, 2004.

DAMODARAN, S., Protein: denaturation, in Handbook of Food Science, **Technology and Engineering**, p. 1-14, 2005.

DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema** 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 2010

DE ORY, I.; ROMERO, L. E.; CANTERO, D. Optimization of immobilization conditions for vinegar production. Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for *Acetobacter acet.* **Process Biochemistry**, v. 39, p. 547-555, 2004.

DE ORY, I., CABRERA, G. M., BLANDINO, A., Immobilization of Cells on Polyurethane Foam. In: Guisan, J. M. (Ed.) *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells*, **Humana Press Inc.**, p. 357-365, 2006.

DESKERA 2023. Disponível em: < <https://www.deskera.com/blog/scrap-value/>> Acesso em: 25 de nov de 2023.

DETOFOL, M. R., OLIVEIRA, E. A., VARGAS, C. E. B., SOARES, A. B. J., SOARES, M. B. A., MAUGERI, F. Modeling and simulation of fructooligosaccharides synthesis in a batch basket reactor. **Journal of biotechnology**, v.210, p.44-51, 2015.

DIAS, G. S et al., Study on the transfructosylation activity of *Aspergillus oryzae* IPT-301 cells in a packed bed reactor aiming at fructooligosaccharide production, **Chem Technology and Biotechnology**, v. 97, p. 2904-2911, 2022.

DIAS, M.A.; LACERDA, I.C.A.; PIMENTEL, P.F.; DE CASTRO, H. F.; ROSA, C.A. Removal of heavy metals by an *Aspergillus terreus* strain immobilized in a polyurethane matrix. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, p. 1-5, 2001.

DIAS, M.O.S., CUNHA, M.P., JESUS, C.D.F., ROCHA, G.J.M., PRADELLA, J.G.C., ROSSELL, C.E.V., MACIEL FILHO, R., BONOMI, A.. Second generation ethanol in Brazil: Can it compete with electricity production? *Bioresour. Technol.* 102, 8964-8971, 2011

DIAS, M.O.S., JUNQUEIRA, T. L., ROSSELL, C.E.V., MACIEL FILHO, R., BONOMI, A. Evaluation of process configurations for second generation integrated with first generation bioethanol production from sugarcane. *Fuel Process. Technol.* 109, 84-89, 2013

DIAS, M.O.S., JUNQUEIRA, T.L., CAVALETT, O., CUNHA, M.P., JESUS, C.D.F., ROSSELL, C.E.V., MACIEL FILHO, R., BONOMI, A. Integrated versus stand-alone second-generation ethanol production from sugarcane bagasse and trash. *Bioresour. Technol.* 103, 152-161, 2012.

DOMINGUEZ, A. L., RODRIGUES, L.R., LIMA, N. M., TEIXEIRA, J. A. An overview of the recent developments on Fructooligosaccharide production and applications. **Food Bioproc Tech** 7(2):324-337, 2014.

DOGBE, E.S., MANDEGARI, M., GÖRGENS, J.F. Revitalizing the sugarcane industry by adding value to A-molasses in biorefineries. *Biofuels, Bioprod. Biorefining*, v. 14, p. 1089-1104, 2020.

DOGBE, E. S, MANDEGARI, M., GÖRGENS, J. F. Using the aggregated system exergoeconomic methodology as a comparative tool for the cost-effectiveness of the sugarcane biorefinery options. **Journal of Cleaner Production**, 319, 2021.

DORAN, P. M. **Bioprocess Engineering Principles**, 2nd Edition, Academic Press, Waltham, 2013.

DORTA C. et al. Sugarcane molasses and yeast powder used in the fructooligosaccharides production by *Aspergillus japonicus*-FCL 119T and *Aspergillus niger* ATCC 20611. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 33, n. 12, p. 1003-1009, 2006.

DWEVEDI, A. Enzyme Immobilization: advances in industry, agriculture, medicine, and the environment. Switzerland: **Springer International Publishing**. p. 132, 2016.

ELIAS, Andrew Milli. **Contribuições da Engenharia de Sistemas em Bioprocessos à transição para a economia neutra em carbono: Análise tecno-econômica-ambiental de biorrefinarias**. 2020. Tese (Doutorado em Engenharia Química) — São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2020. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/12763/Tese_Andrew_Milli.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 10 fev. 2022.

ELIAS, A. M., LONGATI, A.A., ELLAMLA, H.R., FURLAN, F.F., RIBEIRO, M.P.A., MARCELINO, P.R.F., dos SANTOS, J.C., da SILVA, S.S., GIORDANO, R.C. Techno-Economic-Environmental Analysis of Sophorolipid Biosurfactant Production

from Sugarcane Bagasse. **Ind. Eng. Chem. Res.** 60, 9833-985, 2021

ELIAS, A. M. et al. Retro-techno-economic-environmental analysis improves the operation efficiency of 1G-2G bioethanol and bioelectricity facilities. **Applied Energy**, v. 282, 15 jan. 2021a.

ELIAS, A. M. et al. Techno-Economic-Environmental Analysis of Sophorolipid Biosurfactant Production from Sugarcane Bagasse. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 60, n. 27, p. 9833-9850, 14 jul. 2021b.

ELMESALAMY, A.; ABDOLVAND, H.; WALSH, J. N.; FRANCIS, J. A.; SUDER, Wojciech; WILLIAMS, Stewart; LI, L. Measurement and modelling of the residual stresses in autogenous and narrow gap laser welded AISI grade 316L stainless steel plates. **International Journal of Pressure Vessels and Piping, Elsevier**, v. 147, p. 64-78, 2016.

EMBRAPA. Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira. Brasília, DF: Embrapa, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/visao/o-futuro-da-agricultura-brasileira>. Acesso em: 28 set. 2023.

EPE (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA). **Balço Energético Nacional - BEN 2018** Empresa de Pesquisa Energética. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-315/EPE,%202018%20-%20Compila%C3%A7%C3%A3o%20de%20Correla%C3%A7%C3%B5es%20de%20Custo%20de%20Equipamentos.pdf>>. 2020.

ESALQ. **Indicador Mensal de Açúcar VHP**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/agroenergia/arquivos-precos/008PREOMDIODOACARVHPPARAEXPORTAONOESTADODESOPAULO_07062022.pdf>. Acesso em: 9 set. 2022.

FARIA, L.L. et al. Biochemical characterization of extracellular fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* IPT-301 immobilized on silica gel for the production of fructooligosaccharides. **Biotechnology letters**, v.43, p.43-59, 2021.

FLORES-MALTOS, D.A.; MUSSATTO, S.I.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C., RODRÍGUEZ- HERRERA, R., TEIXEIRA, J.A., AGUILAR, C.N. Biotechnological production and application of fructooligosaccharides. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.36, p.259-267, 2014.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R. et al. Versatility of glutaraldehyde to immobilize lipases: effect of the immobilization protocol on the properties of lipase B from *Candida antarctica*. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 8, p. 1220-1227, 2012.

FIGUEROA-GONZÁLEZ, I., QUIJANO, G., RAMÍREZ, G., CRUZ-GUERRERO, A. Probiotics and prebiotics-perspectives and challenges. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 1341-1348, 2011.

FILIPOVIĆ, V. et al. Acceptability of bread supplemented with yeast extract to consumers. **Acta agriculturae Serbica**, v. 27, n. 53, p. 3-7, 2022.

FORTES, R. C., MUNIZ, L. B. Efeitos da suplementação dietética com frutooligossacarídeos e inulina no organismo humano: Estudo baseado em evidências. **Ciência & Saúde**, v. 20, p. 241-252, 2009.

FROST & SULLIVAN, **Strategic Analysis of the European Human Food and Beverage Prebiotics Markets**. Frost & Sullivan, London (2008).

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 287-291, 2002.

FURLAN, F. F. et al. Process Alternatives for Second Generation Ethanol Production from Sugarcane Bagasse. Em: **Computer Aided Chemical Engineering**. [s.l.] Elsevier B.V. v. 37p. 1349-1354, 2015.

FURLAN, Felipe Fernando. **Metodologia para guiar o desenvolvimento e implementação industrial de novas tecnologias unindo engenharia econômica e Engenharia de (bio)processos e sistemas: Aplicação à produção de etanol de segunda geração**. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/7404>. Acesso em: 1 abr. 2021.

FURLAN, F.F. et al. Retrotechno-economic analysis: using (bio)process systems engineering tools to attain process target values. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v. 55, p. 9865-9872, 2016.

GARCIA, R.L. et al. Glutaraldehyde-crosslinked cells from *Aspergillus oryzae* IPT-301 for high transfructosylation activity: optimization of the immobilization variables, characterization and operational stability. **Braz. J. Chem. Eng.** 38, 273-285, 2021.

GANAIÉ, M. A.; LATEEF, A.; GUPTA, U. S. Enzymatic trends of fructooligosaccharides production by microorganisms. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, n. 4, p. 2143-2159, 2014.

GANAIÉ, M. A. et al. Immobilization of fructosyltransferase by chitosan and alginate for efficient production of fructooligosaccharides. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 5, p. 840-844, 2014.

GHAZI, I. et al. Immobilisation of fructosyltransferase from *Aspergillus aculeatus* on epoxy-activated Sepabeads EC for the synthesis of fructo-oligosaccharides. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 35, n. 1-3, p. 19-27, 2005.

GITMAN, Lawrence J. **Princípios de administração financeira**. São Paulo: Addison Wesley, 2004.

GONÇALVES, M.C.P., MORALES, S.A.V., SILVA, E.S., MAIORANO, A.E., PERNA, R.F., KIECKBUSCH, T.G. Entrapment of glutaraldehyde-crosslinked cells from *Aspergillus oryzae* IPT-301 in calcium alginate for high transfructosylation activity. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2020.

GONZALEZ-TOMAS, L., COLL-MARQUÉS, J., COSTELL, E. Viscoelasticity of inulin-starch-based dairy systems. Influence of inulin average chain length. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1372-1380, 2008.

GRANDVIEWRESEARCH, Disponível em: <
<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/fructooligosaccharides-market/toc> ≥ 2022.

GUISAN, J.M. Immobilization of Enzymes and Cells. **Humana Press**, 3 ed, New York, 2013

HAMA, S., YAMA, H., KAIEDA, M., ODA, M., KONDO, A., FUKUDA, H., Effect of fatty acid membrane composition on whole-cell biocatalysts for biodiesel-fuel production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 21, p. 155-160, 2004.

HARRISON, R. G., PAUL W. T., SCOTT R. R., PETRIDES P. D. Analytical Methods and Bench Scale Preparative Bioseparations. **Bioseparations Science and Engineering**. Oxford University Press, 2015.

HAYASHI, S. et al. Production of a fructosyl-transferring enzyme by *Aureobasidium* sp. ATCC 20524. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 5, p. 395-400, 1990.

HIDAKA, H. et al Effect of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. **Bifidobacteria Microflora**, v.5 p.37-50. 1986.

HOLM-NIELSEN J. B; EHIMEN, E. A. Bioenergy production from roadside grass: A case study of the feasibility of using roadside grass for biogas production in Denmark," *Resources, Conservation & Recycling*, **Elsevier**, vol. 93, p 124-133, 2014.

HORN, S. J., M. et al. Comparative studies of chitinases A, B and C from *Serratia marcescens*, **Biocatal. Biotransfor**, v. 24, p. 39-53, 2006.

HUANG, M. P. et al. Highly Efficient Synthesis of Fructooligosaccharides by Extracellular Fructooligosaccharide-Producing Enzymes and Immobilized Cells of *Aspergillus aculeatus* M105 and Purification and Biochemical Characterization of a Fructosyltransferase from the Fungus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 33, p. 6425-6432, 2016.

IDEALSOFTWARES. Valor de câmbio do euro em 2011 - Disponível em: <<http://idealsoftwares.com.br/indices/euro2011.html>>. Acesso em: 25 out. 2023.

INDIA MART. Custo da cepa de A. Oryzae - Disponível em: <<https://www.indiamart.com/proddetail/aspergillus-oryzae-16449857588.html>> Acesso em: 30 out. 2022

JITONNOM, J., KETUDAT-CAIRNS, J.R., HANNONGBUA S. QM/MM modeling of the hydrolysis and transfructosylation reactions of fructosyltransferase from *Aspergillus japonicas*, an enzyme that produces prebiotic fructooligosaccharide. **J. Mol. Graph. Model.** 79:175-184, 2018

JUNG, K.H. et al. Mathematical model for enzymatic production of fructooligosaccharides from sucrose. **Enzyme and Microbial Technology**, v.11, p. 491-494, 1989.

JUNQUEIRA, T. L. et al. Techno-economic analysis and climate change impacts of sugarcane biorefineries considering different time horizons. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2017.

KAUSHIVA, B. D; MCCARTNEY, S. R.; ROSSMY, G. R.; WILKES, G. L. Surfactant level influences on structure and properties of flexible slabstock polyurethane foams. **Polymer**, v. 41, p. 285-310, 2000.

KILONZO, P. MARGARITIS, A BERGOUGNOU, M Effects of nuface treatment and process parameters on immobilization of recombinant yeast cells by adsorption to fibrous matrices. **Bioresource Technology**, v 102. p 3662-3672, 2011.

KIM, B.W. et al. Production of a novel transfructosylating enzyme from *Bacillus macerans* EG-6. **Bioprocess Engineering**, v.23, p.11-16, 2000.

KOURKOUTAS, Y.; BEKATOROU, A.; BANAT, I. M.; MARCHANT, R.; KOUTINAS, A. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: **A review. Food Microbiology**, v. 21, n. 4, p. 377-397, 2004

KOUTINAS, A. A., CHATZIFRAGKOU, A., KOPSAHELIS, N., PAPANIKOLAOU, S., & KOOKOS, I. K. *Design and techno-economic evaluation of microbial oil production as a renewable resource for biodiesel and oleochemical production. Fuel*, 116, 566–577. doi:10.1016/j.fuel.2013.08.045. 2014.

KRAJEWSKA, B. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. **Enzyme Microbial and Technology**, v. 35, n. 2-3, p. 126-139, 2004.

KUMAR, D. et al. Covalent immobilization of organic solvent tolerant lipase on aluminum oxide pellets and its potential application in esterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 87, p. 51-61, 2013.

KURAKAKE, M.; ONOUE, T.; KOMAKI, T. Effect of pH on transfructosylation and hydrolysis by β -fructofuranosidase from *Aspergillus oryzae*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 45, p. 236-239, 1996.

LAN, Q.; HAUGSTAD, G. Characterization of polymer morphology in polyurethane foams using atomic force microscopy. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 121, p. 2644-2651, 2011.

LEGIER, V., COMEAU, L. C., Continuous synthesis of esters by cell-bound fungal lipases in an organic solvent. ***Applied Microbiology and Biotechnology***, v. 37, p. 732-736, 1992.

L'HOCINE, L. et al. Purification and partial characterization of fructosyltransferase and invertase from *Aspergillus niger* AS0023. ***Journal of Biotechnology***, v. 81, n. 1, p. 73-84, 2000.

L'HOMME, C., PUIGSERVER, A., BIAGINI, A. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. ***Food Chemistry***, v. 82, p. 533-537, 2003.

LI, W., ZHANG, J., YU, C., LI, Q., DONG, F., WANG, G., GU, G., & GUO, Z. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. ***Carbohydrate Polymers***, v. 121, p. 315-319, 2015.

LINGYUN, W., JIANHUA, W., XIAODONG, Z., DA, T., YALIN, Y., CHENGGANG, C., TIANHUA, F., FAN, Z. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. ***Journal of Food Engineering***, v. 79, p. 1087-1093, 2007.

LOBO, A. R., COLLI, C., FILISETTI, T. M. C. C. Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. ***Nutrition Research***, v. 26, p. 413-420. 2006.

LONGATI, Andreza Aparecida. **Implementação de unidade de processo para geração de energia empregando vinhaça e integração na biorrefinaria de produção de etanol**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Química) — São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/10856>. Acesso em: 21 abr. 2021.

LONGATI, A. A. et al. Defining research and development process targets through retrotechno-economic analysis: The sugarcane biorefinery case. ***Bioresource Technology***, v. 263, n. February, p. 1-9, 2018a.

LONGATI, A. A. et al. Biogas Production from Anaerobic Digestion of Vinasse in Sugarcane Biorefinery: A Techno-economic and Environmental Analysis. ***Waste and Biomass Valorization***, v. 11, n. 9, p. 4573-4591, 2019.

LONGATI, A., LINO, A.R.A., GIORDANO, R.C., FURLAN, F.F., CRUZ, A.J.G., 2019. Biogas Production from Anaerobic Digestion of Vinasse in Sugarcane Biorefinery: A Techno economic and Environmental Analysis. **Waste and Biomass Valorization**.

LONG, K. et al. In situ crosslinking of *Aspergillus flavus* lipase: improvement of activity, stability and properties. **Biotechnology Letters**, v. 18, n. 10, p. 1169-1174, 1996.

LORENZONI, A. S. G., AYDOS, L. F., KLEIN, M. P., RODRIGUES, R. C., HERTZ, P. F. Fructooligosaccharides synthesis by highly stable immobilized β -fructofuranosidase from *Aspergillus aculeatus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 193-197. 2014

LORENZONI, A. S. G.; AYDOS, L. F.; KLEIN, M. P.; AYUB, M. A. Z.; RODRIGUES, R. C.; HERTZ, P. F. Continuous production of fructooligosaccharides and invert sugar by chitosan immobilized enzymes: Comparison between in fluidized and packed bed reactors. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 111, p. 51-55, 2015

KLEIN, B. C., DE MESQUITA SAMPAIO, I. L., MANTELATTO, P. E., FILHO, R. M., & BONOMI, A. Beyond ethanol, sugar, and electricity: a critical review of product diversification in Brazilian sugarcane mills. *Biofuels*, **Bioproducts and Biorefining**. doi:10.1002/bbb.1969. (2019).

MADE IN CHINA. **Custo do Cloreto de manganês Tetraidratado** - Disponível em: <https://pt.made-in-china.com/co_samreal/product_Manganese-Chloride-Tetrahydrate-CAS-13446-34-9-Mncl2-4-H2O-_roueheeng.html> Acesso em: 11 out. 2022

MADE IN CHINA. **Custo do NaBH₄** - Disponível em: <https://pt.made-in-china.com/co_f6a3c5969a36b56c/product_Sodium-Borohydride-Nabh4-Powder-Industrial-Grade-98-0-CAS-16940-66-2_uogyesgnoy.html> Acesso em: 11 out. 2022

MADE IN CHINA. **Custo do Sulfato de ferro hidratado** - Disponível em: <https://pt.made-in-china.com/co_jk-ingredients/product_Ferrous-Sulphate-Heptahydrate-CAS-No-7782-63-0_rrrnugssg.html> Acesso em: 11 out. 2022

MADE IN CHINA. **Custo do Sulfato de manganês heptahidratado** - Disponível em: <https://pt.made-in-china.com/co_hnkingway/product_Magnesium-Sulphate-

Heptahydrate-AGRI-CAS-No-10034-99-8_uoiryenyeg.html> Acesso em: 11 out. 2022

MADE IN CHINA. **Custo do TRIS** - Disponível em: <https://pt.made-in-china.com/co_fyland/product_High-Quality-Tris-Hydrochloride_hohhgnyng.html> Acesso em: 11 out. 2022

MAIORANO, A.E., SILVA, E.S., PERNA, R.F. *et al.* Effect of agitation speed and aeration rate on fructosyltransferase production of *Aspergillus oryzae* IPT-301 in stirred tank bioreactor. **Biotechnol Lett** v. 42, 2619-2629 (2020).

MARTINEZ, C. O. *et al.* Effective Immobilization of *Agrobacterium sp.* IFO 13140 Cells in LoofaSponge for Curdlan Biosynthesis. **Molecules**, v 20, p 7957-7973, 2015.

MARTINS, G. N., URETA, M. M., TYMCZYSZYN, E. E., CASTILHO, P. C., & GOMEZ-ZAVAGLIA, A. *Technological Aspects of the Production of Fructo and Galacto-Oligosaccharides. Enzymatic Synthesis and Hydrolysis.* **Frontiers in Nutrition**, 6. doi:10.3389/fnut.2019.00078 . (2019)

MATCHE. Custo dos Equipamentos - Disponível em: < <https://www.matche.com/>> Acesso em: 11 out. 2022.

MATEO, C. *et al.* Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 6, p. 1451-1463, 2007.

MATERIAIS.GELSONLUZ. Calor específico do aço Disponível em: < <https://www.materiais.gelsonluz.com/2018/09/calor-especifico-do-aco.html>> Acesso em: 11 out. 2022

MARANGONI, A. G. **Enzyme kinetics: a modern approach.** Wiley, New Jersey. 2003.

MENDES, A.A. *et al.* Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831-40, 2011

MEYER, D., BAYARRI, S., TÁRREGA, A., COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881-1890, 2011.

MIGNEAULT, I. et al. Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. **BioTechniques**, v. 37, n. 5, p. 790-802, 2004b.

MORDORINTELLIGENCE. Global nutraceuticals market - growth, trends and forecasts (2017 -2022). Mordor Intelligence. Abril de 2017. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-nutraceuticalsmarketindustry?gclid=CjsKDwjw6qnJBRDpoonDwLSeZhkAlpTR8Lv0J0UzcsFD-TDSowPYe15clf211hTNGZ5NW-D1GLKGgJKzPD_BwE>. Acesso em 20 de maio de 2017.

MORRIS, C., MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v. 133, p. 237-248, 2012.

MUKHOPADHYAY, R.; CHATTERJEE, S.; CHATTERJEE, B. P.; BANERJEE, P. C.; GUHA, A. K. Production of gluconic acid from whey by free and immobilized *Aspergillus niger*. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 3, p. 299-303, 2005.

MUSSATTO, S. I., MANCIHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 587-597, 2007.

MUSSATTO, S. I.; AGUILAR, C. N.; RODRIGUES, L. R.; TEIXEIRA, J. A. Colonization of *Aspergillus japonicus* on synthetic materials and application to the production of fructooligosaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 6, p. 795-800, 2009.

MUSSATTO, S. I.; AGUILAR, C. N.; MARINHA, M. I.; JORGE, R. C.; FERREIRA E. C. Economic analysis and environmental impact assessment of three different fermentation processes for fructooligosaccharides production. **Bioresource Technology**, v. 198, n. 1, p. 673-681, 2015.

NAJADA, A. R. AL. et al. Immobilisation of α -amylase on activated amidrazone acrylic: a new approach for the enhancement of enzyme stability and reusability. **Scientific Reports**, v.9, 2019.

NINESS, K. R. Inulin and oligoductose: What are they? **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1402-1406, 1999.

NOBRE, C., ALVES, E.G.F., FERNANDES, F.A.N., BRITO, E.S., RODRIGUES, S., TEIXEIRA, J.A., RODRIGUES, L.R., Production of fructo-oligosaccharides by *Aspergillus ibericus* and their chemical characterization. **LWT Food Sci Technol**, v. 89, p. 58-64, 2018.

NOVACANA, 2022. Produtos biorrefinaria - Disponível em: <<https://www.novacana.com/noticias/usinas-brasileiras-produziram-34-94-kwh-tonelada-cana-moida-2019-20-210720>> Acesso em: 11 JUN. 2023

NOVACANA, 2023. **Produtos biorrefinaria** - Disponível em: <<https://www.novacana.com/noticias/producao-cana-de-acucar-brasil-e-mundo/>> Acesso em: 11 JUN. 2023

OH, Y.S.; MAENG, J.; KIM, J. Use of microorganism-immobilized polyurethane foams to absorb and degrade oil on water surface. **Microbiology Biotechnology**, v. 54, pg 418 – 423, 2000.

OLIVEIRA, Elizama. Aguiar. **Imobilização da enzima frutossiltransferase extracelular de *Rhodotorula sp.* e aplicação na produção de frutooligossacarídeos**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1604425>. Acesso em: 30 abr. 2021.

OLIVEIRA, R. M. M.; NUNES, M. T. A. S.; SOUSA, R. M. S. DE. Pré-Tratamento Químico E Caracterização Do Bagaço Da Cana: Uma Perspectiva Para Produção De Etanol a Partir De Resíduos Agroindustriais / Chemical Pre-Treatment and Characterization of Sugarcane Bagasse: a Perspective for Ethanol Production From Agroindus. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 87865-87879, 2020.

ORDÓNEZ, J. A., RODRÍGUEZ, M. I. C., ÁLVAREZ, L. F., SANZ, M. L. G., MINGUILLÓN, G. D. G. F., PERALES, L. H., CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de alimentos**. Porto Alegre: Artmed. 2005

OTTONI, C.A.; CUERVO-FERNÁNDEZ, R.; PICCOLI, R. M.; MOREIRA, R.; GUILARTE- MARESMA, B.; SABINO DA SILVA, E.; RODRIGUES, M. F. A.; MAIORANO, A. E. Media optimization for β -fructofuranosidase production by *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, ed. 1, p.49-59, 2012.

PASSOS, L.M.L.; PARK, Y.K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v.33, p.385-390, 2003.

PERNA, R. F. et al. Effects of Triton X-100 and PEG on the Catalytic Properties and Thermal Stability of Lipase from Free and Immobilized on Glyoxyl-Agarose. **The Open Biochemistry Journal**, v. 11, p. 66-76, 2017.

PERNA, R. F.; CUNHA, J. S.; GONÇALVES, M. C. P.; BASSO, R. C.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E. Microbial Fructosyltransferase: Production by Submerged Fermentation and Evaluation of pH and Temperature Effects on Transfructosylation and Hydrolytic Enzymatic Activities. **International Journal of Engineering Research & Science**, v. 4, Issue-3, 2018.

GREEN, D. W; PERRY, R. H. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. New York :McGraw-Hill, 2008.

PETERS, M.; TIMMERHAUS, K.; WEST, R. **Plant Design and Economics for Chemical Engineers**. 5. ed. New York NY: McGraw-Hill Education, 2003.

PINHO, B. R. B. et al. A aplicação de métodos de análise de investimentos para mensuração de ganhos em iniciativas de melhorias de processos. In: ENEGEP, 31., 2011, Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte, 2011.

QIN ZHANG; LO, C.M.; JU, L.K., Cell immobilization with polyurethane foam for retaining *Trichoderma reesei* cells during foam fractionation for cellulase collection, **Applied Biochemistry and Biotechnology**, p. 156, p. 442-453, 2009.

RAMOS, C. S. Novos coquetéis enzimáticos podem reduzir os custos de produção de forma expressiva. Disponível em: Acesso em: 19 set. 2022.

RIBEIRO, B.M.; SANDRE JÚNIOR, L.R.; DIAS, G.S.; XAVIER, M.C.A.; ALMEIDA, A.F.; SILVA, E.S.; MAIORANO, A.E.; PERNA, R.F.; MORALES, S.A.V. Crosslinked whole cells for the sucrose transfructosylation reaction in a continuous reactor. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, v. 29, p. 15, 2023.

RICHARSTALIN.WIXSITE. **Propriedades térmicas do poliuretano**. Disponível em: <https://richarstalin.wixsite.com/escalartearquitetur/post/el-poliuretano>. Acesso em: 14 de novembro de 2023.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: A review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 103-148. 1993

RODRIGUES, Lorryne Martins. **Secadores rotatórios**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Uberlândia. Universidade Federal de Uberlândia. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/24971>. Acesso em: 20 nov. 2023.

ROGALSKI, J.; SZSZODRAK, J.; JANUSZ, G. Manganese peroxidase production in submerged cultures by free and immobilized mycelia of *Nematoloma frowardii*. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 469-476, 2006.

ROMERO, C. M, PERA, L. M, OLIVARO, C., VAZQUEZ, A., BAIGORI, M. D, Tailoring chain length selectivity of a solvent-tolerant lipase activity from *Aspergillus niger* MYA 135 by submerged fermentation. **Fuel Processing Technology**. v. 98, p. 23-29, 2012.

RUEDA, N. et al. Reversible immobilization of lipases on octyl-glutamic agarose beads: a mixed adsorption that reinforces enzyme immobilization. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 128, p. 10-18, 2016.

SANGEETHA, P.T.; RAMESH, M. N.; PRAPULLA, S. G. Fructooligosaccharide production using fructosyl transferase obtained from recycling culture of *Aspergillus oryzae* CFR 202. **Process Biochem**, v. 40, n. 3-4, p. 1085-1088, 2005.

SANGEETHA, P. T., RAMESH, M. N., PRAPULLA, S. G. Maximization of fructooligosaccharide production by two stage continuous process and its scale up. **Journal of Food Engineering**, v. 68, p. 57-64, 2005.

SANTOS, C.; TAVARES, F. Nuseed e GranBio anunciam acordo de cooperação global de longo prazo para acelerar P&D de cana-energia e expansão global. Disponível em: . Acesso em: 25 nov. 2023.

ŠEDO VÁ, M., ILLEOVÁ, V., ANTOŠOVÁ, M. et al. Production of fructosyltransferase in mechanically stirred and air-lift bioreactors. **Chem. Pap.** v. 68, p. 1639-1648, 2014.

SCHUEPP, C., KERMASHA, S., MICHALSKI, M. C, MORIN, A., Production, partial purification and characterization of lipases from *Pseudomonas fragi* CRDA 037 **Process Biochemistry**, v. 32, p. 225-232, 1997.

SHELDON, R.A. Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance. **Advances in Synthesis and Catalysis**, v. 349, p. 1289-1307, 2007.

SHIOMI, N., ABE, T., KIKUCHI, H., ARITSUKA, T., TAKATA, Y., FUKUSHI, E., FUKUSHI, Y., KAWABATA, J., UENO, K., ONODERA, S. Structural analysis of novel kestose isomers isolated from sugar beet molasses. **Carbohydrate Research**, v. 424, p. 1-7, 2016.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering**. 2. ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 2002.

SILVA, A. S. S., HAAS, P., SARTORI, N. T., ANTON, A. A., FRANCISCO, A. Frutoligossacarídeos: Fibras alimentares ativas. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 25, p. 295-304, 2007.

SILVA, M. B. P. O. et al. Effect of temperature, pH and storage time on the stability of an extracellular fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* IPT-301. **Brazilian Journal of Food Technology**, 24, 2021.

SINGH, R. S., SINGH, R. P. Production of fructooligosaccharides from inulin by endoinulinases and their prebiotic potential. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, p. 435-450, 2010.

SINGH, R. S., SINGH, R. P., KENNEDY, J. F. Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 565-572. 2016.

SOARES, Márcio Steinmetz. **Síntese e caracterização de esponjas de poliuretano para imobilização de células e aplicação na síntese de biodiesel**. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, USP, Lorena, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.97.2012.tde-02102013-115013>. Acesso em: 11 abr. 2022.

SOARES, R. P. **EMSO Manual**. [s.l.] ALSOC, 2007.

SOARES RP, & SECCHI AR, EMSO: A new environment for modelling, simulation and optimisation. **Comput. Aided Chem. Eng.**, v. 14, p. 947-952, 2003.

SOCCOL, C. R.; FRANÇA, L. R.; RESENDE, R. R. **Biotecnologia aplicada à agro&indústria: fundamentos e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2016.

SOUZA, Livia Tereza de Andrade; VERÍSSIMO, L.A.A; PESSELA, J.B.C.; SANTORO, M.M. RESENDE, R.R.; MENDES, A.A. Imobilização enzimática: princípios fundamentais e tipos de suporte. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. São Paulo: Blücher Editora, v. 4, c. 15, p. 529-568. 2017.

TÁRREGA, A., TORRES, F. D., COSTELL, E. Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. **Journal of Food Engineering**. v. 104, p. 356-363, 2011.

TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAUWITZ, J. Analysis, synthesis, and design of chemical processes. 4th. ed. [s.l. Prentice Hall, 2012.

UFSCAR (DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA). Modelagem e Simulação de Biorrefinarias de Produção de etanol 1G e 2G. São Carlos: [s.n.]. 2016.

VAŇKOVÁ, K., ANTOŠOVÁ, M., & POLAKOVIČ, M. Design and economics of industrial production of fructosyltransferase. **Chemical Papers**, v, 59, 441-448, 2005.

VAŇKOVÁ, K.; Onderková, Z.; Antošová, M.; Polakovič, M. Design and economics of industrial production of fructooligosaccharides. **Chemical Papers**, v. 62, n. 4, p. 375-381, 2008.

VARESCHE, MB; ZAIAT, M.; VIEIRA, LGT; VAZOLLER, RF; FORESTI, E. Colonização microbiana de matrizes de espuma de poliuretano em reator anaeróbio de lodo imobilizado de fluxo horizontal. **Aplic. Microbiol. Biotecnologia**, v. 48, p. 534-538, 1997.

VISUAL-PARADIGMA. **Elaboração dos PFD's** - Disponível em: < <https://www.visual-paradigm.com/>>. Acesso em: 25 jun. 2021.

VORAGEN, A. G. J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 328-335, 1998.

XIAO, M., MATHEW, S., OBBARD, J. P., A newly isolated fungal strain used as whole-cell biocatalyst for biodiesel production from palm oil. **Global Change Biology Bioenergy**, v. 2, p. 45-51, 2010.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides: occurrence, preparation and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v.19, p.107-117, 1996.

ZAGO, A. P. P. PINTO, K. C. R. **Custo de oportunidade: polêmicas e provocações**. IX Congresso internacional de custos. Florianópolis-SC. 2005.

ZAMBELLI, P. TAMBORINI, L. CAZZAMALLI, S.; PINTO, A.; ARIOLI, S.; BALZARETTI, S.; PLOU, F. J.; FERNANDEZ-ARROJO, L.; MOLINARI, F.; CONTI, P. ROMANO, D. An efficient continuous flow process for the synthesis of a non-conventional mixture of fructooligosaccharides. **Food Chemistry**, v. 190, p. 607-613, 2016.

ZAKRZEWSKA, M. E., BOGEL-ŁUKASIK, E., BOGEL-ŁUKASIK, R. Solubility of carbohydrates in ionic liquids. **Energy & Fuels**, v. 24, 2^a ed., p. 737-745. 2010

ZENG, Xinan; ZHOU, Kang; LIU, Dongmei; BRENNAN, Charles S.; BRENNAN, Margaret Anne; ZHOU, Jinsong; YU, Shujuan; Preparation of fructooligosaccharides using *Aspergillus niger* 6640 whole-cell as catalyst for bio-transformation. **LWT Food Science and Technology**, v.65, p.1072-1079, 2016

ZHANG, J. *et al.* Enhancing fructooligosaccharides production by genetic improvement of the industrial fungus *Aspergillus niger* ATCC 2061. **Journal of Biotechnology**, v. 249, p. 25-33, 2017.

ZHOU, Z. *et al.* Improved activity and stability of lipase immobilized in cage-like large pores mesoporous organosilicas. **Microporous Mesoporous Mat.**, v. 154, p. 133-141, 2012.

APÊNDICE A – Modelagem matemática do processo de produção do biocatalisador

Correntes básicas

As correntes básicas são responsáveis pelas conexões, entre os diversos equipamentos no processo. As principais variáveis envolvidas são:

F_w é a vazão mássica [kg/h];

F é a vazão molar [kmol/h];

$z_w(NComp)$ Vetor de tamanho “NComp” com as frações mássicas dos compostos;

$z(NComp)$ Vetor de tamanho “NComp” com as frações molares dos compostos;

M_w Massa molar média da fase fluida [kg/kmol];

T é a temperatura [K];

P é a pressão [P].

Equações

As seguintes equações são implementadas no modelo:

Cálculo do peso molecular médio:

$$M_w = \sum_{i=1}^{Ncomp} z(i) \times M(i) \quad (A.1)$$

Conversão entre fração mássica e fração molar:

$$z_w(i) \times M_w = z(i) \times M(i) \sum_{i=1}^{Ncomp} z(i) \quad (A.2)$$

Conversão entre vazão mássica e molar:

$$F_w = F \times M_w \quad (A.3)$$

Secador

Modelo simplificado de um secador rotativo que remove 100% da umidade, baseado em Rodrigues (2019):

Variáveis

Inlet.Fw é a vazão mássica de entrada do secador [kg/h];

Outlet.Fw é a vazão mássica de saída do secador [kg/h];

Fair é a vazão mássica de ar na entrada do secador [kg/h];

Fevap é a vazão mássica de vapor na saída do secador [kg/h]

Q é energia utilizada [Kw];

Tout é a temperatura de saída do vapor [K];

Parâmetros

Cp_S é o calor específico do sólido [J/kg/K];

Cp_L é o calor específico do líquido [kJ/kg/K];

Cp_V é o calor específico do vapor [kJ/kg/K];

Cp_ar é o calor específico do ar [kJ/kg/K];

λ é o calor latente de vaporização [kJ/kg];

Tin é a temperatura de entrada do ar [K].

Equações

As seguintes equações são implementadas no modelo:

Cálculo do balanço de massa:

$$Inlet.Fw + Fair = Outlet.Fw + Fevap. \quad (A.4)$$

Balanço de massa para remoção da água:

$$Fair + Inlet.Fw * Inlet.zw(i) = Outlet.Fw * Outlet.zw(i) + Fevap. \quad (A.5)$$

Balanço de energia para retirar toda umidade:

$$Q = Outlet.Fw * (Cp_S * (Outlet.T - Inlet.T) + Inlet.zw(água) * Cp_L * (Tin - Inlet.T) + Inlet.zw(água) * \lambda + Inlet.zw(2) * Cp_V * (Tout - Tin). \quad (A.6)$$

Cálculo da temperatura de saída do vapor:

$$Fair * Cp_{ar} * (Tin - Tout) = Q \quad (A.7)$$

Cálculo da vazão mássica de ar retirado do Green; Perry. (2008):

$$Fair = 96.2 * 'kg/kg' * Outlet.Fw. \quad (A.8)$$

Cálculo da vazão mássica de vapor :

$$Fevap = Fair + Inlet.Fw * Inlet.zw(água). \quad (A.9)$$

Equilíbrio mecânico:

$$Inlet.P = Outlet.P. \quad (A.10)$$

Misturador

Modelo de um misturador simples de correntes básicas.

Considerações:

- Operação em estado estacionário;
- Sem perda de calor para o ambiente.

Variáveis

Inlet1.Fw é a corrente de vazão mássica da primeira entrada do misturador ;
 Inlet2.Fw é a corrente de vazão mássica da segunda entrada do misturador ;
 Outlet.Fw é a corrente de vazão mássica de saída do misturador.

Equações

Balanço de massa:

$$Inlet1.Fw + Inlet2.Fw = Outlet.Fw \quad (A.11)$$

Balanço de massa por componente:

$$Inlet1.Fw * Inlet1.zw + Inlet2.Fw * Inlet2.zw = Outlet.Fw * Outlet.zw \quad (A.12)$$

Equilíbrio mecânico:

$$Inlet.P = Outlet.P. \quad (A.13)$$

Temperatura de saída:

$$Outlet.T = \min(Inlet1.T, Inlet2.T) \quad (A.14)$$

Separador

Modelo de um separador simples da corrente básica. É importante ressaltar que deve especificar a fração de separação.

Considerações:

- Operação em estado estacionário;
- Sem perda de calor para o ambiente.

Variáveis

Inlet.Fw é a corrente de vazão mássica de entrada do separador ;
 Outlet1.Fw é a corrente de vazão mássica de saída do separador;
 Outlet2.Fw é a corrente de vazão mássica de saída do separador;
 frac é a fração da Inlet que vai para a Outlet1.

Equações

Balanço de massa:

$$Inlet.Fw = Outlet1.Fw + Outlet2.Fw \quad (A.15)$$

Balanço de massa por componente:

$$Inlet.Fw * Inlet.zw * frac = Outlet1.Fw * Outlet1.zw \quad (A.16)$$

Equilíbrio mecânico:

$$Inlet.P = Outlet1.P. \quad (A.17)$$

$$Inlet.P = Outlet2.P. \quad (A.18)$$

Equilíbrio Térmico:

$$Inlet.T = Outlet1.T. \quad (A.19)$$

$$Inlet.T = Outlet2.T. \quad (A.20)$$

Trocadores de calor

Modelo de um trocador de calor simplificado em que calor é fornecido ou retirado da corrente básica de energia. É importante ressaltar que deve ser especificado a temperatura de saída.

Considerações:

- Operação em estado estacionário;
- Sem perda de calor para o ambiente;
- Equilíbrio mecânico.

Parâmetros:

U Coeficiente global de transferência de calor [kJ/K/m²].

Variáveis:

InletHot.Fw é a corrente de vazão mássica quente na entrada do trocador de calor ;

OutletHot.Fw é a corrente de vazão mássica quente na saída do trocador de calor;

InletCold.Fw é a corrente de vazão mássica fria na entrada do trocador de calor ;

OutletCold.Fw é a corrente de vazão mássica fria na saída do trocador de calor;

Q é o calor trocado [kW];

Dt_{lm} é a diferença de temperatura média logarítmica [K];

Δ1 é a variação de temperatura [K];

Δ2 é a variação de temperatura [K];

Cp_{hot} é o calor específico do meio de cultura quente [kJ/kg/K];

Cp_{cold} é o calor específico do meio de cultura frio [kJ/kg/K];

A é a área de troca térmica[m²].

Cálculo dos balanços de massa:

$$InletCold.Fw = OutletCold.Fw . \quad (A.21)$$

$$InletHot.Fw = OutletHot.Fw . \quad (A.22)$$

Balanços de massa por componente:

$$InletCold.zw = OutletCold.zw . \quad (A.23)$$

$$InletHot.zw = OutletHot.zw . \quad (A.24)$$

Balanços de energia:

$$Q = InletHot.Fw * Cp_hot * (InletHot.T - OutletHot.T). \quad (A.25)$$

$$Q = InletCold.Fw * Cp_cold * (OutletCold.T - InletCold.T). \quad (A.26)$$

Cálculo da área de troca térmica:

$$Q = A * U * DTlm \quad (A.27)$$

Cálculo do $DTlm$:

$$\Delta 1 = InletHot.T - OutletCold.T. \quad (A.28)$$

$$\Delta 2 = OutletHot.T - InletCold.T. \quad (A.29)$$

$$2 * DTlm^{0.3275} = (\Delta 1^{0.3275} + \Delta 2^{0.3275}) \quad (A.30)$$

Bomba

Modelo simplificado de uma bomba, é importante ressaltar que se deve especificar a pressão da corrente de saída ou o incremento de pressão e a eficiência da bomba.

Considerações:

- Operação em estado estacionário;
- Sem perda de calor para o ambiente;
- Apenas as fases líquidas e sólidas estão presentes.

Parâmetros:

ρ é densidade média da corrente

Variáveis

Inlet.Fw é a vazão mássica de entrada da bomba [kg/h];

Outlet.Fw é a vazão mássica de saída da bomba [kg/h];

in InletW workStream;

ΔP Aumento de pressão na bomba [kPa];

η Eficiência da bomba.

Equações

As seguintes equações são implementadas no modelo:

Cálculo do balanço de massa:

$$Inlet.Fw = Outlet.Fw . \quad (A.31)$$

Balanço de massa por componente:

$$Inlet.zw(i) = Outlet.Fw . \quad (A.32)$$

Variação da pressão:

$$Outlet.P = Inlet.P + \Delta P. \quad (A.33)$$

Equilíbrio Térmico:

$$Inlet.T = Outlet.T. \quad (A.34)$$

Trabalho necessário:

$$W.Inlet.w = \frac{Inlet.Fw * \Delta P}{\eta \times \rho} \quad (A.35)$$

Filtro

Modelo de um filtro simplificado com correntes de filtrado e torta de filtro. É importante ressaltar que deve ser especificado as frações de separação das fases líquidas e sólidas.

Considerações:

- Operação em estado estacionário;
- Sem perda de calor para o ambiente;
- Equilíbrio mecânico.

Parâmetros:

NWater é a posição do componente “água” no vetor de componentes.

Variáveis:

Inlet.Fw é a vazão mássica de entrada do filtro [kg/h];

Outlet1.Fw é a vazão mássica líquida de saída do filtro [kg/h];

Outlet2.Fw é a torta retida no filtro [kg/h];

fracsol é a eficiência de separação dos sólidos solúveis;

fracwater é a eficiência de separação da água;

humidity é fração de água no lodo.

Equações

Cálculo dos balanços de massa:

$$Inlet.Fw = Outlet1.Fw + Outlet2.Fw . \quad (A.36)$$

Balanços de massa por componente:

$$Inlet.zw = Outlet1.zw + Outlet2.zw . \quad (A.37)$$

Umidade da torta de filtro:

$$Outlet2.Fw (NWater) = humidity. \quad (A.38)$$

Equilíbrio mecânico:

$$Inlet.P = Outlet1.P. \quad (A.39)$$

$$Inlet.P = Outlet2.P. \quad (A.40)$$

Equilíbrio térmico:

$$Inlet.T = Outlet1.T. \quad (A.41)$$

$$Inlet.T = Outlet2.T. \quad (A.42)$$

Se $i = NWater$ então:

$$Outlet1.Fw * Outlet1.zw = Inlet.Fw * Inlet.zw(i) * fracwater. \quad (A.43)$$

$$Outlet2.Fw * Outlet2.zw = Inlet.Fw * Inlet.zw(i) * (1 - fracwater). \quad (A.44)$$

Se não:

$$Outlet1.Fw * Outlet1.zw = Inlet.Fw * Inlet.zw(i) * fracsol. \quad (A.45)$$

$$Outlet2.Fw * Outlet2.zw = Inlet.Fw * Inlet.zw(i) * (1 - fracsol). \quad (A.46)$$

Biorreator

Modelo de um biorreator estequiométrico, baseado em Furlan (2016). A conversão das reações deve ser especificada com relação ao reagente limitante. ´

Deve-se especificar:

- A corrente de entrada;
- A conversão de cada reação, baseada nos respectivos reagentes limitantes;
- A temperatura do reator;
- O número de reações;
- A matriz estequiométrica;
- O reagente limitante da reação;
- O calor da reação;

Parâmetros:

$M(NComp)$ é a massa molar;

$NReac$ é a quantidade de reações;

$Stoic(NReac)$ é a matriz de coeficientes estequiométricos das reações;

$limit(NReac)$ é a posição do reagente limitante de cada reação no vetor de componentes;

$T_filling$ é o tempo de preenchimento do reator[h];

$T_emptying$ é o tempo de esvaziamento do reator[h];

$T_cleaning$ é o tempo de limpeza do reator[h];

$T_reaction$ é o tempo de reação[h];

$T_totalTime$ é o tempo total de uso do reator[h];

$workingVolume$ é a fração do volume trabalhado no biorreator;

ρ_cell as é densidade das células;

ρ_steel é a densidade do aço;

$\rho_reactor$ é a densidade do biorreator;

cp_steel é o calor específico do aço;

$T_sterilization$ é a temperatura de esterilização;

$NCell$ é a posição do componente “Biomassa” no vetor de componentes;

$NWater$ é a posição do componente “água” no vetor de componentes;

NCO_2 é a posição do componente “ CO_2 ” no vetor de componentes;

NN_2 é a posição do componente “ NN_2 ” no vetor de componentes;

NO_2 é a posição do componente “ NO_2 ” no vetor de componentes;

$r_reactor$ é o raio do biorreator[m];

$n_reactor$ é a quantidade de reações;

$PspecMixing$ é a potência volumétrica [kW/m^3].

Variáveis:

$Inlet.Fw$ é a vazão mássica de entrada do biorreator [kg/h];

$Outlet.Fw$ é a vazão mássica de saída do biorreator [kg/h];

Air.Fw é a vazão mássica de ar na entrada do biorreator[kg/h];

Gases.Fw é a vazão mássica de gases na saída do biorreator[kg/h];

conv é a conversão para cada reação em relação ao reagente limitante;

C_cells é a concentração mássica das células[kg/m³];

Pmixing é a energia utilizada na rotação do biorreator;

V_reactor é o volume do reator [m³].

Equações

Cálculo do balanço de massa:

$$Inlet.Fw + Air.Fw = Outlet.Fw + Gases.Fw \quad (A.47)$$

Cálculo dos balanços de massa por componente:

Se (i = NO₂) ou (i = NN₂) ou (i = NCO₂):

$$Inlet.Fw * Inlet.zw(i) + Air.Fw * Air.zw(i) + sum(r(:) * stoic(:, i)) * M(i) = Gases.Fw * Gases.zw(i) \quad (A.48)$$

$$Outlet.zw(i) = 0 \quad (A.49)$$

Se não:

$$Inlet.Fw * Inlet.zw(i) + Air.Fw * Air.zw(i) + sum(r(:) * stoic(:, i)) * M(i) = Outlet.Fw * Outlet.zw(i) \quad (A.50)$$

$$Gases.zw(i) = 0 \quad (A.51)$$

Reação:

$$r * M(limit) = (Inlet.Fw * Inlet.zw(limit) + Air.Fw * Air.zw(limit)) * conv \quad (A.52)$$

Equilíbrio mecânico:

$$Inlet.P = Outlet.P. \quad (A.53)$$

$$Air.P = Gases.P. \quad (A.54)$$

Equilíbrio térmico:

$$Inlet.T = Outlet.T. \quad (A.55)$$

$$Air.T = Gases.T. \quad (A.56)$$

Tempo total:

$$T_{totalTime} = T_{filling} + T_{emptying} + T_{cleaning} + T_{reaction} \quad (A.57)$$

Volume do reator cilíndrico equilátero:

$$V_{reactor} = \pi * r_{reactor}^2 * h \quad (A.58)$$

Massa de células :

$$M_{cells} = n_{reactor} * (T_{filling} + T_{reaction}) / T_{totalTime} * V_{reactor} * workingVolume * C_{cells} \quad (A.58)$$

Energia usada na esterilização :

$$Q_{sterilization} * T_{totalTime} = cp_{steel} * (T_{sterilization} - Inlet.T) * M_{steel} \quad (A.60)$$

Densidade mássica do reator:

$$\rho_{reactor} = \frac{C_{cells}}{0.2} + \left(\frac{1 - \frac{C_{cells}}{2}}{\rho_{cell}} \right) * 1000 * \frac{kg}{m^3} \quad (A.61)$$

Concentração das células :

$$C_{cells} = Inlet.z(NCells) * \rho_{reactor} \quad (A.62)$$

Energia utilizada na rotação do biorreator :

$$P_{mixing} * T_{totalTime} = P_{specMixing} * T_{reaction} * V_{reactor} \quad (\text{A.63})$$

APÊNDICE B - Parâmetros usados na simulação do processo de produção do biocatalisador heterogêneo

Equipamento	Variável/Parâmetro	Valor	Referência
Misturador (M-101)	Quantidade de sacarose no meio de cultura	15% (v v ⁻¹)	(Cunha <i>et al.</i> , 2019)
Trocador de calor (E-101)	Coefficiente global de troca térmica	600 kW/m ² /K	(Costa, 2016)
Trocador de calor(E-101)	Temperatura	120 °C	(Barbosa, 2022)
Trocador de calor(E-101)	Pressão	2 atm	(Barbosa, 2022).
Trocador de calor (E-102)	Coefficiente global de troca térmica	600 kW/m ² /K	(Costa, 2016)
Trocador de calor(E-102)	Temperatura	25 °C	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Trocador de calor(E-102)	Temperatura do fluido de resfriamento	10 °C	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Trocador de calor (E-102)	Pressão	2 atm	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Biorreator (R-101)	Conversão	93,2%	(Barbosa, 2022)
Biorreator (R-101)	Rotação	400 rpm	(Maiorano <i>et al.</i> , 2020)
Biorreator (R-101)	Temperatura	30 °C	(Garcia <i>et al.</i> , 2021)
Biorreator	Aeração	0,75 v.v.m	(Maiorano <i>et al.</i> , 2020)

(R-101)			
Biorreator (R-101)	Pressão	1 atm	(Dias <i>et al.</i> , 2022).
Biorreator (R-101)	Tempo de reação	32 horas	(Barbosa, 2022)
Compressor (C-101)	Pressão	1 atm	(Furlan, 2016)
Compressor (C-101)	Eficiência	65%	(Koutinas <i>et al.</i> , 2015)
Bombas (P-101- P- 104)	Eficiência	65%	(Furlan <i>et al.</i> , 2015; Palacios-Bereche <i>et al.</i> , 2013)
Filtro	Eficiência do filtro (retenção de insolúveis em base mássica)	99,5%	(BVC, 2016; UFSCar, 2016)
Filtro	Umidade do sólido (base mássica)	80,0%	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Biorreator	Calor específico do aço	0,46 kJ/kg/K	(Materiais.Gelsonluz, 2022)
Tanque de Mistura (T- 104)	Rotação	200 rpm	(Garcia <i>et al.</i> , 2021; Ribeiro <i>et al.</i> 2023)
Tanque de Mistura (T- 104)	Rotação	200 rpm	(Garcia <i>et al.</i> , 2021; Ribeiro <i>et al.</i> 2023)
Tanque de Mistura (T- 104)	Temperatura	25 °C	(Garcia <i>et al.</i> , 2021; Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)

Tanque de Mistura (T-104)	Temperatura	25 °C	(Garcia <i>et al.</i> , 2021; Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Tanque de Mistura (T-103)	pH	7,9	(Garcia <i>et al.</i> , 2021; Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Tanque de Mistura (T-104)	Tempo	45 minutos	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Tanque de Mistura (T-104)	Tempo	30 minutos	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Tanque de Mistura (T-105)	Solução aquosa de glutaraldeído	25% (v v ⁻¹)	(Garcia <i>et al.</i> , 2021)
Secador (D-101)	Umidade de entrada do biocatalisador	80%	(Ribeiro <i>et al.</i> , 2023)
Secador (D-101)	Umidade de saída do biocatalisador	0%	-
Secador (D-101)	Calor específico do solido poliuretano	1,674 kJ/kg/K	(Richarstalin.wixsite, 2018)
Secador (D-101)	Calor específico do ar	1,01 kJ/kg/K	(Rodrigues, 2019)
Secador (D-101)	Calor específico da água	4,18 kJ/kg/K	(Rodrigues, 2019)
Secador (D-101)	Calor específico do vapor	1,88 kJ/kg/K	(Rodrigues, 2019)
Secador (D-101)	Calor latente de vaporização	2256 kJ/kg	(Rodrigues, 2019)

Secador (D-101)	Pressão	1 atm	(Rodrigues, 2019)
Secador (D-101)	Temperatura de entrada do ar	40 °C	(Rodrigues, 2019)
Secador (D-101)	Temperatura de entrada do vapor	20,94 °C	(Rodrigues, 2019)