

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 30/06/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

**MODELAGEM, SIMULAÇÃO E AJUSTE DE CONDIÇÕES
OPERACIONAIS DA ETAPA DE CRESCIMENTO CELULAR DO
BIOPROCESSO INDUSTRIAL DE PRODUÇÃO DE FARNESENO**

FABIANO ANTONIO DE SOUZA

ORIENTADOR: PROF. DR SAMUEL CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA

Araraquara-SP

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

MODELAGEM, SIMULAÇÃO E AJUSTE DE CONDIÇÕES
OPERACIONAIS DA ETAPA DE CRESCIMENTO CELULAR DO
BIOPROCESSO INDUSTRIAL DE PRODUÇÃO DE FARNESENO

FABIANO ANTONIO DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr Samuel Conceição de Oliveira

Araraquara-SP

2020

S729m Souza, Fabiano Antonio de.
Modelagem, simulação e ajuste de condições operacionais da etapa de crescimento celular do bioprocessamento industrial de produção de farneseno / Fabiano Antonio de Souza. – Araraquara: [S.n.], 2020.
70 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Samuel Conceição de Oliveira.

1. Modelagem matemática. 2. Simulação. 3. Bioprocessamento. 4. Farneseno. 5. Escala industrial. I. Oliveira, Samuel Conceição de, orient. II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MODELAGEM, SIMULAÇÃO E AJUSTE DE CONDIÇÕES OPERACIONAIS DA ETAPA DE CRESCIMENTO CELULAR DO BIOPROCESSO INDUSTRIAL DE PRODUÇÃO DE FARNESENO

AUTOR: FABIANO ANTONIO DE SOUZA

ORIENTADOR: SAMUEL CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SAMUEL CONCEIÇÃO DE OLIVEIRA

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. FELIX MONTEIRO PEREIRA

Departamento de Engenharia Química / Escola de Engenharia de Lorena - USP

Prof. Dr. RONDINELLI DONIZETTI HERCULANO

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Araraquara, 30 de junho de 2020

*Dedico este trabalho, com muito amor e
gratidão, à minha família.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que em sua infinita sabedoria colocou força em meu coração para vencer essa etapa de minha vida.

Agradeço à minha família e meus amigos por todo o carinho, amor e força. Sou grato, especialmente, à minha esposa, grande parceira e incentivadora e a Lara minha filha por dividir seu tempo.

Agradeço ao meu time de processos e ao Renato Lopes, por me conceder o tempo e confiança durante o período de estudo.

Agradeço a todos os professores do PPG-EBB (Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos), especialmente ao Prof. Dr. Samuel Conceição de Oliveira pela orientação deste trabalho. Obrigado por compartilhar sua sabedoria, o seu tempo e sua experiência.

RESUMO

SOUZA, F. A. **Modelagem, simulação e ajuste de condições operacionais da etapa de crescimento celular do bioprocesso industrial de produção de farneseno.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Araraquara, 2020.

Atualmente um número crescente de indústrias tem utilizado bioprocessos para converter açúcares em diferentes produtos. Baseando-se na demanda de bioprodutos é imprescindível atingir elevados volumes de produção e nesse contexto, quaisquer perdas ou atrasos impactam negativamente na produtividade do bioprocessos. Desde que a identificação e o controle dos parâmetros de fermentação dependentes de escala são fundamentais para alcançar uma operação de alto desempenho em escala industrial, a otimização das variáveis intervenientes no processo de fermentação torna-se uma tarefa necessária que pode ser facilitada pelo uso de técnicas de modelagem e simulação de processos. Neste sentido, objetivou-se neste estudo modelar, simular e ajustar as condições operacionais da segunda fase da etapa de multiplicação celular do bioprocessos industrial de produção de farneseno. Baseado numa abordagem não segregada e não estruturada das células microbianas, o modelo matemático proposto consistiu de duas equações diferenciais ordinárias representativas dos balanços de massa de células e substrato no *IF (Initial Fermenter)*. Para a integração numérica das equações diferenciais utilizou-se o método de Runge-Kutta-Gill de 4^ª ordem e para o ajuste dos parâmetros cinéticos do modelo, utilizou-se o método dos mínimos quadrados em conjunto com o algoritmo de Marquardt. Os resultados obtidos mostraram que o modelo matemático proposto descreveu satisfatoriamente a tendência de comportamento das variáveis de estado modeladas (concentração de substrato e densidade ótica) para dois conjuntos de bateladas realizadas em pressões de 1.0 e 0.5 bar aplicadas no IF, validando o modelo para estudos de simulação, otimização e controle do bioprocessos. A partir de simulações levando em conta vários aspectos do bioprocessos tais como tamanho do inóculo, suplementação do meio de cultura com substratos melhoradores do crescimento, possibilidade de ocorrência de fenômenos de inibição e modo de cultivo (batelada ou batelada alimentada), foi possível ajustar as condições operacionais da etapa de crescimento celular no *IF* visando atingir os valores alvos de densidade ótica e de tempo de crescimento celular especificados para esta etapa do bioprocessos industrial de produção de farneseno.

Palavras-chave: Modelagem matemática; Simulação; Bioprocessos; Farneseno; Escala industrial.

ABSTRACT

SOUZA, F. A. **Modeling, simulation and adjustment of operational conditions of the cell growth stage of the industrial bioprocess of farnesene production** (Master in Biomaterials and Bioprocess Engineering) - School of Pharmaceutical Sciences, Araraquara, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, 2020.

Currently, an increasing number of industries have used bioprocesses to convert sugars into different products. Based on the demand for bioproducts, it is essential to achieve high production volumes and, in this context, any losses or delays have a negative impact on the productivity of the bioprocess. Since the identification and control of scale-dependent fermentation parameters are essential to achieve a high-performance operation at an industrial level, the optimization of the intervening variables in the fermentation process becomes a necessary task that can be facilitated by the use of process modeling and simulation techniques. In this sense, the objective of this study was to model, simulate and adjust the operational conditions of the second phase of the cell multiplication stage of the industrial bioprocess for producing farnesene. Based on a non-segregated and unstructured approach to microbial cells, the proposed mathematical model consisted of two ordinary differential equations representative of cell mass and substrate balances in the IF (Initial Fermenter). For the numerical integration of the differential equations, the 4th-order Runge-Kutta-Gill method was used and for the adjustment of the model's kinetic parameters, the least squares method was used together with the Marquardt algorithm. The results obtained showed that the proposed mathematical model satisfactorily described the behavioral trend of the modeled state variables (substrate concentration and optical density) for two sets of batches performed at pressures of 1.0 and 0.5 bar applied in the IF, validating the model for studies of simulation, optimization and control of the bioprocess. From simulations taking into account various aspects of the bioprocess such as inoculum size, supplementation of the culture medium with growth enhancing substrates, the possibility of occurrence of inhibition phenomena and cultivation mode (batch or batch fed), it was possible to adjust the operational conditions of the cell growth stage in the IF aiming to reach the target values of optical density and cell growth time specified for this stage of the industrial bioprocess of farnesene production.

Keywords: Mathematical modeling; Simulation; Bioprocess; Farnesene; Industrial scale

LISTA DE SÍMBOLOS

μ	Velocidade específica de crescimento celular
μ_{max}	Velocidade específica máxima de crescimento celular
r_x	Velocidade volumétrica de crescimento celular
r_p	Velocidade volumétrica de formação de produto
r_s	Velocidade volumétrica de consumo do substrato
K_s	Constante de saturação de Monod
K_i	Constante de inibição pelo substrato
X	Concentração de microrganismos num instante t
X_m	Máxima concentração de biomassa na qual cessa o crescimento celular
Y_i	Rendimento de reação do processo biológico “ i ”
$Y_{X/S}$	Rendimento em massa celular
$Y_{P/S}$	Rendimento em produto
S	Concentração de substrato num instante t
P	Concentração de produto num instante t
P_m	Máxima concentração de produto na qual cessa o crescimento celular
M	Expoente do termo de inibição pela biomassa
N	Expoente do termo de inibição pelo produto
F	Vazão volumétrica da corrente de alimentação de substrato
V_p	Volume de processamento no reator
S_e	Concentração de substrato na corrente de alimentação

1. INTRODUÇÃO

Atualmente um número crescente de indústrias tem utilizado bioprocessos para converter açúcares em diferentes produtos. Em comparação com os processos químicos de produção, os bioprocessos possuem requisitos de energia e custos ambientais relativamente baixos, reduzida geração de resíduos e potencial para obtenção de produtos biodegradáveis, usando matérias-primas renováveis como a cana de açúcar (ROCHA *et al.*, 2013).

Um bioprocessos é um processo que, geralmente, libera energia, podendo ocorrer na presença ou ausência de oxigênio, a partir de um conjunto de reações enzimáticas, por meio das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples pela ação de microrganismos. O cultivo de microrganismos se desenvolve nos chamados biorreatores, equipamentos nos quais há a manipulação de parâmetros físicos, como temperatura, pH, entre outros, de forma a regular a biocatálise.

No caso estudado neste trabalho, o bioprocessos ocorre de forma asséptica, garantindo a destruição de microrganismos patogênicos e deteriorantes que são maléficos para o processo de obtenção do farneseno.

O farneseno é um hidrocarboneto a partir do qual é possível obter, por via química, vários produtos com aplicações em diversos setores. A síntese química do farneseno apresenta-se economicamente inviável devido ao alto custo e ao baixo rendimento das etapas de reação, o que fez a via fermentativa tornar-se uma alternativa bastante vantajosa para a síntese desse bioproduto, pois utiliza matéria prima de fonte renovável (xarope de cana de açúcar), sendo também ambientalmente atrativa.

Assim como em todos os bioprocessos utilizados industrialmente, o desenvolvimento do processo de produção de farneseno envolveu uma etapa prévia de ampliação de escala. Yang (2010) *apud* Crater e Lievens (2018), afirmam que o baixo desempenho de algumas fermentações em grande escala está na maioria das vezes relacionado ao aumento de escala. Isso porque não se pode garantir que, ao passar de uma escala para outra, o microrganismo agirá sobre o substrato nas mesmas condições que levaram o bioprocessos ao melhor desempenho na escala anterior.

O bioprocesso de produção de farneseno ocorre em duas etapas, sendo a primeira, a etapa de multiplicação e acumulação de células e a segunda, a etapa de produção de farneseno propriamente dita. A etapa de multiplicação celular é subdividida em três fases (A, B e C). O presente estudo está relacionado à fase C a qual influencia diretamente na fase de produção do farneseno, uma vez que atualmente, não estão sendo atingidos os valores alvos determinados para esta fase em escala industrial, o que tem acarretado perdas significativas de volumes de produção.

Sabendo-se que a identificação e o controle dos parâmetros de fermentação dependentes da escala são fundamentais para alcançar uma operação de alto desempenho, o ajuste desses fatores torna-se uma tarefa imprescindível para que os valores alvos sejam atingidos em escala industrial.

Neste sentido, objetiva-se no presente trabalho ajustar, por meio de modelagem e simulação, as condições operacionais para que os valores alvo determinados em escala de bancada para a segunda fase da etapa de multiplicação celular do processo de produção de farneseno sejam atingidos em escala industrial.

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, as seguintes conclusões podem ser feitas:

- O modelo matemático fenomenológico, não segregado e não estruturado proposto, descreveu satisfatoriamente os dados experimentais da etapa de crescimento microbiano durante o bioprocessamento industrial de produção de farneseno, validando sua utilização para estudos de simulação, otimização e controle do bioprocessamento;
- De acordo com as simulações realizadas, é possível atingir, pelo aumento da concentração do inóculo, os valores alvos de densidade ótica, tempo de cultivo e conversão de substrato pretendidos para a etapa de crescimento microbiano no *IF*;
- A suplementação do meio de cultura com substratos melhoradores mostrou-se viável tecnicamente para incrementar o crescimento microbiano no *IF* e assim atender às especificações do processo quanto aos parâmetros de desempenho desejados. Entretanto, a implementação prática desta alternativa deve ser precedida por uma análise econômica visando avaliar o custo/benefício;
- A atenuação de possíveis efeitos de inibição favorece o crescimento celular e permite que os valores alvos sejam atingidos no *IF*. Contudo, a análise de estratégias para atenuar estes efeitos inibitórios requer a comprovação experimental das inibições sofridas pelos microrganismos e o desenvolvimento de modelos matemáticos mais abrangentes que incluam a descrição das inibições;
- A operação do *IF* em modo *fed-batch* da forma como foi simulada não resultou em incremento do crescimento microbiano, apresentando desempenho muito inferior ao do modo batelada, com pouca formação de células e grande acúmulo de substrato no reator;
- A implementação isolada ou combinada das alternativas que se mostraram tecnicamente viáveis para a resolução do problema pode se reverter em economicidade e aumento do volume de produção do bioprocessamento;
- As técnicas de modelagem e simulação empregadas neste trabalho mostraram-se ferramentas adequadas para a análise e a otimização do bioprocessamento industrial de produção de farneseno, com baixíssimo custo de investimento, rapidez, segurança e sem a necessidade de realização de testes na própria planta industrial.

7. REFERÊNCIAS

- ALTERTHUMM, F. Elementos de microbiologia. *In: BORZANI, w. et al. (editor). Biotecnologia Industrial: fundamentos.* São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v.1, p. 13-17.
- ALVARADO, C. S. M. *Estudo e implementação de métodos de validação de modelos matemáticos aplicados no desenvolvimento de sistemas de controle de processos industriais.* Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2017.
- AMYRIS. *MegaBio: An integrated process for production of farnesene, a versatile platform chemical, from domestic lignocellulosic feedstock.* DOE Bioenergy Technologies Office (BETO) 2019 Project Peer Review. Biochemical Conversion Session; Quinn Mitrovich, 2019.
- ANDREWS, J. F. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrate. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 10, p. 707-723, 1968.
- ANDRIETTA, S.R. *Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua em escala industrial.* Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) -Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas,1994.
- BADINO JUNIOR, A. C. B; SCHMIDELL, W.; Variação de Escala. *In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (editors). Biotecnologia Industrial.* São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, Cap. 15, p. 333-353.
- BAYLEY, J.E.; OLLIS, D.F. *Biochemical engineering fundamentals.* 2nd. ed. New York: McGraw Hill, 1986.
- BLANCH, H. W.; CLARK, D. S. *Biochemical Engineering.* Boca Raton: CRC Press, 1997.
- BORGES, P.C.S. *Otimização dinâmica da fermentação alcoólica no processo em batelada alimentada.* Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.
- CARBULONI, R. *Detecção, diagnóstico e proposta de soluções baseadas em modelos matemáticos para falhas na etapa de propagação do inóculo do bioprocesso industrial de produção de farneseno.* Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 2020.
- CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Fermentação descontínua. *In: BORZANI, W. et al. (editor). Biotecnologia Industrial.* São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v.2, p.193-204.

CRATER, J.; LIEVENSE, J. Scale-up of Industrial Microbial Processes. *FEMS microbiology letters*. v. 365, n. 13, 2018. DOI 10.1093/femsle/fny138.

CROW, S. Sterilization processes. Meeting the demands of today's health care. *Technology Nursing Clinics of North America*, v. 28, p. 687–95, 1933.

CONSTANTINIDES, A.; MOSTOUFI, N. *Numerical methods for chemical engineers with MATLAB applications*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall PTR, 1999

CORNISH-BOWDEN, A. *Fundamentals of enzyme kinetics*. 4th.ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, 2013.

CULLER, S. A bioengineering platform to industrialize biotechnology. *Chemical Engineering Progress*, v. 112, n. 9, p. 42-51, 2016.

DAMASO, M. C. T; COURI, S. *Fermentação*. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s4737dnfr3b.html. Acesso em: 10 maio 2019.

DOBRE, T. G.; MARCANO, J. G. S. *Chemical Engineering: Modeling, Simulation and Similitude*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, 2007.

DORAN, P. M. *Bioprocess Engineering Principles*. 2nd. ed. New York: Academic Press, 2013.

DUTTA, R. *Fundamentals of Biochemical Engineering*. Nueva Delhi, India: Ane Books Índia, 2008.

FACCIOTTI, M. C. R. Fermentação contínua. In: BORZANI, W. *et al.* (editor). *Biotecnologia Industrial*. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, p. 223-246.

FROMENT G. F.; BISCHOFF K. B.; DE WILDE J. *Chemical Reactor Analysis and Design*. 3rd. ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2010. 900 p

FOGLER, H.S. *Elements of chemical reaction engineering*. 2nd. ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall International, 1992.

GLOBAL FARNESENE MARKET 2019 *Report*. Disponível em: <https://www.marketwatch.com/press-release/farnesene-market-size-share-2019-global-industry-overview->. Acesso em: 10 nov. 2019.

HAYNES W. Tukey's Test. In: DUBITZKY W.; WOLKENHAUER O.; CHO KH.; YOKOTA H. (editors) *Encyclopedia of Systems Biology*. New York, NY: Springer, 2013.

HISS, H. Cinética de Processos Fermentativos. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (editors). *Biotecnologia Industrial*. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, Cap. 6, p. 93-121.

LEE, J. M.; POLLARD, J. F.; COULMAN, G. A. Ethanol fermentation with cell recycling: computer simulation. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 25, n. 2, p. 497-511, 1983.

LEROUGE, S. Introduction to sterilization: definitions and challenges. In: LEROUGE, S.; SIMMONS, A. *Sterilisation of Biomaterials and Medical Devices*. Waltham, MA: Woodhead Publishing, 2012. p. 1-19.

MONOD, J. The growth of bacterial culture. *Annual Review of Microbiology*, Paio Alto, v.3, p.371-394, 1949.

MORIYA, T.; MÓDENA, J. L. P. Assepsia e antisepsia: técnicas de esterilização. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, p. 265-273, 2008.

NILSEN, J.; VILLADSEN, J.; LIDÉN, G. *Bioreaction engineering principles*. 2nd. ed. New York, N.Y.: Kluwer Academic, 2003.

NOORMAN H.J.; HEIJNEN J.J. Biochemical engineering's grand adventure. *Chemical Engineering Science*. v. 170, p. 677-693, 2017. DOI 170:677-93.

PINTO, J. C.; LAGE, P. L. C. *Métodos numéricos em problemas de Engenharia Química*. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2001.

PORTO, L. M. *Modelagem de processo industrial de fermentação alcoólica contínua com reatores de mistura ligados em série*. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

RICHARDS, J.W. *Introduction to Industrial Sterilization*. London: Academic Press, 1968. p. 173.

RAMIREZ, W. F. *Computational methods for process simulation*. Stoneham: Butterworth Publishers, 1989.

RECH, R. *Bioengenharia para engenharia química*. Porto Alegre: UFRGS, 2009.76 p.

RICHARD, H. Enzimologia e Biocatálise. In: SCRIBAN, R. (editor). *Biotecnologia*. São Paulo: Editora Manole, 1985. p.179-207.

ROCHA, M.; MENDES, R.; ROCHA, O.; ROCHA, I.; FERREIRA, E. C. Optimization of fed-batch fermentation processes with bio-inspired algorithms. *Expert Systems with applications*, v. 41, n. 5, p. 2186-2195, 2014. ISSN 0957-4174.

RODRIGUES, M. F. A.; PRADELLA, J. G.C; URENHA, L.C. Esterilização do equipamento. *In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (editors). Biotecnologia Industrial. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, Cap. 3, p. 19-38.*

SARAIVA, A. S.B. *Avaliação de Riscos, Qualificação de Equipamentos de Esterilização, Despirogenização e Produção.* Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Bioquímica) - Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade nova de Lisboa. Lisboa, p. 26-30, 2016.

SCHMIDELL, W.; BONOMI, A. Modelagem Matemática e Simulação de Processos Fermentativos. *In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (editors). Biotecnologia Industrial. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, Cap. 7, p. 123-178.*

SCHMIDELL, W.; FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e Processos Fermentativos. *In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. (editors). Biotecnologia Industrial. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 2, Cap. 8, p. 179-192.*

SIGLER, K.; HOFER, M. Mechanism of acid extrusion in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1071, p. 375-391, 1991.

SMITH, H.L; WALTMAN, P. *The theory of the chemostat: dynamics of microbial competition.* Cambridge: University Press, 1995.

SCHWAAB, M.; PINTO, J. C. *Análise de Dados Experimentais I: Fundamentos de Estatística e Estimação de Parâmetros.* Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2007.

TOSETTO, G. M. *Influência da matéria-prima no comportamento cinético de levedura na produção de etanol.* Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

TSAO, G.T.; HANSON, T.P. Extended Monod equation for batch cultures with multiple exponential phases. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 23, p. 1591–1598, 1975.

VERHULST, P. F. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement. *Correspondance mathématique et physique*, v. 10, p. 113-121, 1838.

VIEGAS, M.C. *Desenvolvimento de um reator da bancada de leito fluidizado para produção de etanol utilizando linhagens de leveduras flocculantes.* Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

VOLESKY, V. B.; VOTRUBA, J. *Modeling and Optimization of Fermentation Processes.* Amsterdam: Elsevier, 1992.

WESTFALL, P. J.; GARDNER, T. S. Industrial fermentation of renewable diesel fuels. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 22, n. 3, p. 344-350, 2011.