

## 15º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP - 2024

### Efeito do projeto do aspersor de ar na fragmentação de fungo filamentosos em biorreator *airlift*

LAYANE N. DIAS<sup>1</sup>, GABRIELA F. DE PAULO<sup>2</sup>, MATEUS N. ESPERANÇA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduando em Licenciatura em Química, Bolsista PIBIC, IFSP, Campus Capivari, layane.nere@aluno.ifsp.edu.br.

<sup>2</sup> Discente do curso Técnico em Química Integrado ao Ensino Médio, IFSP, Campus Capivari, p.feliciano@aluno.ifsp.edu.br.

<sup>3</sup> Professor EBTT, Orientador, IFSP, Campus Capivari, esperanza@ifsp.edu.br.

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 3.06.02.02-5 Operações Características de Processos Bioquímicos

**RESUMO:** Fungos filamentosos são responsáveis pela produção de diversos produtos de base biológica tais como enzimas, ácidos orgânicos, entre outros. A estrutura morfológica destes microrganismos torna-os suscetíveis à fragmentação por cisalhamento quando cultivados em biorreatores. Nesse sentido, o biorreator *airlift* pode ser empregado para cultivo de fungos filamentosos, por exibir boa eficiência energética para transferência de massa. Contudo, o projeto do aspersor de ar influencia o seu desempenho, uma vez que o ar é introduzido no biorreator através do aspersor. A depender da quantidade de orifícios e do seu diâmetro, pode-se observar elevada velocidade do ar através dos orifícios do aspersor de forma a afetar negativamente as células de microrganismos sensíveis ao cisalhamento que sejam submetidas a essa condição. Diante disso, o presente projeto visa avaliar o efeito do projeto do aspersor de ar de um biorreator *airlift* na fragmentação do fungo filamentosos *Aspergillus niger*. O ensaio de fragmentação realizado a 35 L/min (velocidade de ar nos orifícios igual a 123,8 m/s) promoveu uma fragmentação de 17,8% dos *pellets*. Apesar deste valor não ser desprezível, ele foi similar ao relatado na literatura em condição teoricamente menos agressiva de fragmentação.

**PALAVRAS-CHAVE:** biorreator *airlift*; aspersor de ar; fragmentação; *Aspergillus niger*.

### Effect of the air sparger design on the fragmentation of filamentous fungus in an airlift bioreactor

**ABSTRACT:** Filamentous fungi are responsible for the production of several biobased products such as enzymes, organic acids, among others. The morphological structure of these microorganisms makes them susceptible to shear fragmentation when cultivated in bioreactors. In this sense, the airlift bioreactor can be used for the cultivation of filamentous fungi, as it exhibits good energy efficiency for mass transfer. However, the design of the air sparger influences its performance, since air is introduced into the bioreactor through the sparger. Depending on the number of orifices and their diameter, high air velocity can be observed through the sparger orifices in order to negatively affect the cells of shear-sensitive microorganisms that are subjected to this condition. Therefore, this project aims to evaluate the effect of the air sparger design of an airlift bioreactor on the fragmentation of the filamentous fungus *Aspergillus niger*. The fragmentation test performed at 35 L/min (air velocity in the holes equal to 123.8 m/s) promoted a fragmentation of 17.8% of the pellets. Although this value is not negligible, it was similar to that reported in the literature under theoretically less aggressive fragmentation conditions.

**KEYWORDS:** airlift bioreactor; air sparger; fragmentation; *Aspergillus niger*.

## INTRODUÇÃO

Fungos filamentosos são microrganismos heterotróficos eucarióticos utilizados em diversos processos biotecnológicos. Uma característica importante desses microrganismos é a formação de micélio, sendo esse composto de filamentos ramificados vegetativos (hifas) com paredes celulares rígidas e espessas (SERRANO-CARREON *et al.*, 2015). A caracterização morfológica destes microrganismos exibe a divisão em dois grupos principais: *pellets* ou crescimento disperso. O crescimento disperso engloba outras formas morfológicas, como os agregados miceliais (*clumps*), hifas ramificadas e hifas isoladas. Por outro lado, os *pellets* são descritos como aglomerados esféricos estáveis compostos por uma rede ramificada de hifas. Em bioprocessos conduzidos em cultura submersa, os fungos filamentosos normalmente exibem um complexo ciclo de vida morfológica, sendo a morfologia do fungo intimamente relacionada com a produção de um determinado metabólito de interesse (KRULL *et al.*, 2013).

O biorreator *airlift* é um equipamento, que pode ser empregado em cultivos submersos, cuja agitação e homogeneização do meio reacional são realizadas exclusivamente por meio do borbulhamento de ar através de um aspersor. A conformação geométrica característica destes dispositivos tem sido extensamente analisada, buscando-se relacionar os diferentes parâmetros geométricos do equipamento com o seu desempenho em relação à transferência de massa e à hidrodinâmica. Além disso, o projeto geométrico do aspersor de ar também influencia o desempenho destes equipamentos, uma vez que a elevada velocidade do ar através dos orifícios do aspersor pode afetar de forma negativa as células de microrganismos sensíveis ao cisalhamento que sejam submetidas a essa condição. Diante disso, o presente projeto visa avaliar o efeito do projeto do aspersor de ar e na fragmentação de *pellets* do fungo filamentoso em biorreator *airlift*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de fragmentação foram realizados em biorreator *airlift* de tubos concêntricos de 5L de volume útil (Tecnal Equipamentos Científicos). O biorreator consiste em uma dorna cilíndrica de vidro conectada através de flange a uma base de aço inoxidável, na qual tem-se uma camisa térmica para controle de temperatura (Figura 2a). Além disso, o dispositivo é equipado com um tubo interno posicionado concentricamente à dorna (Figura 2b), além de um aspersor de ar tipo cruzeta localizado na base (Figura 2c). Utilizou-se um aspersor com 24 orifícios.

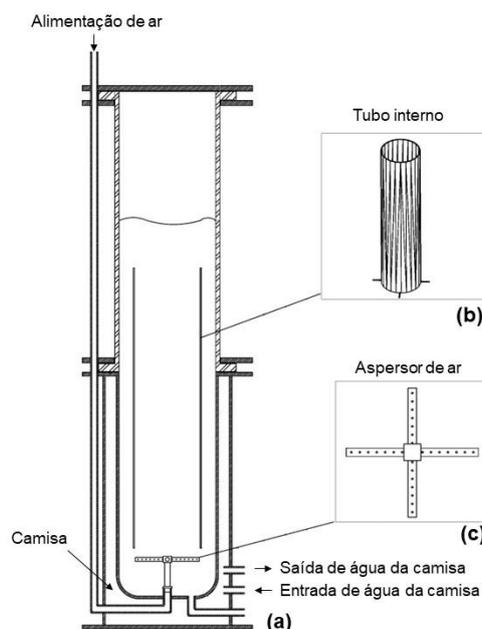


FIGURA 1. Biorreator *airlift* de tubos concêntricos: (a) esquema; (b) tubo interno; (c) aspersor de ar.

Utilizou-se o fungo filamentoso *Aspergillus niger* (*A. niger* 12) nos ensaios de fragmentação de pellets. O meio de Mandels e Sternberg (1976) com modificações de Cunha *et al.* (2015) foi empregado

para o crescimento do fungo. Tal meio consiste dos seguintes nutrientes (concentrações em g/L): glicose (10,0), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,4), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2,0), CaCl<sub>2</sub> (0,3), MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O (0,2), Tween 80 (1,0) e solução salina (1,0 mL/L). A composição da solução salina é (concentrações em mg/L): FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O (5,0), MnSO<sub>4</sub>×H<sub>2</sub>O (1,6), ZnSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O (1,4) e CoCl<sub>2</sub> (2,0). O pH do meio foi ajustado em 4,5 e o mesmo foi autoclavado a 121 °C por 20 minutos. Frascos Erlenmeyer contendo o meio de cultivo foram inoculados com suspensão de esporos de *A. niger* (concentração final de esporos de 10<sup>7</sup> esporos/mL) e mantidos sob agitação de 200 rpm por 24 h em incubadora orbital agitada a 32 °C.

Os ensaios de fragmentação foram iniciados adicionando-se 10% (v/v) da suspensão de *pellets* de *Aspergillus niger* (provenientes dos frascos Erlenmeyer) ao biorreator contendo 90% (v/v) de água destilada (meio inter) e tiveram duração de 4h. Amostras foram retiradas no início (0h) e ao final (4h) dos ensaios para análise de imagem e determinação da área projetada dos *pellets* (A) no *software* ImageJ. Para isso, imagens dos *pellets* foram obtidas utilizando-se um estereoscópio. O valor da área projetada foi calculado para cada objeto (*pellet*) e o valor médio dos *pellets* em cada amostra foi usado como resposta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de fragmentação foi realizado em uma condição de vazão volumétrica de ar (Q<sub>G</sub>) igual a 35 L/min. Considerando-se o número de orifícios no aspersor (n) e o seu tamanho (d<sub>o</sub>) (24 furos de 0,5 mm de diâmetro), determinou-se a velocidade com que o gás atravessava cada orifício utilizando-se a Equação 1.

$$v_G = \frac{4 \times Q_G}{n \times \pi \times d_o^2} \quad (1)$$

A partir da Equação 1, obteve-se um valor de velocidade igual a 123,8 m/s.

Avaliou-se as amostras de *pellets* obtidas para o tempo inicial (0h) e final (4h) de ensaio de fragmentação. As Figuras 2 e 3 apresentam imagens dos *pellets* nestas condições.

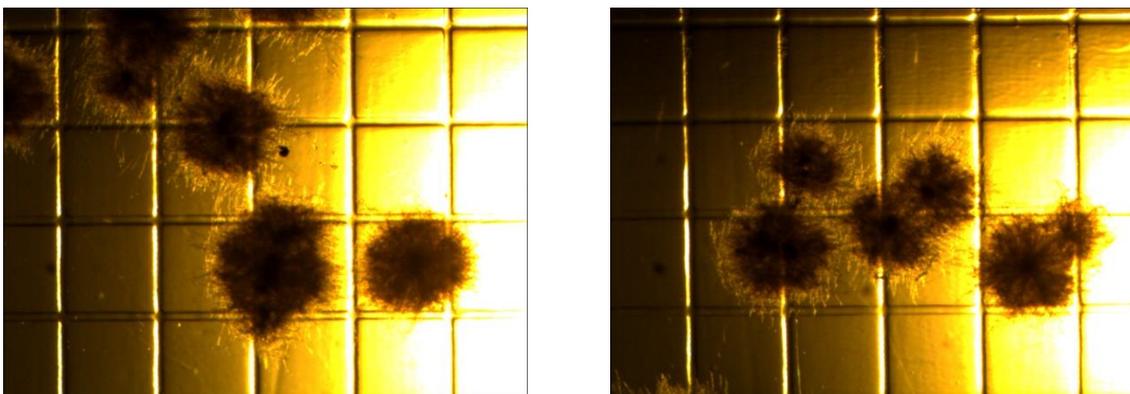


FIGURA 2. Imagens de *pellets* de *A. niger* para o ponto inicial (0h) de ensaio de fragmentação realizado em biorreator *airlift* a 35 L/min.

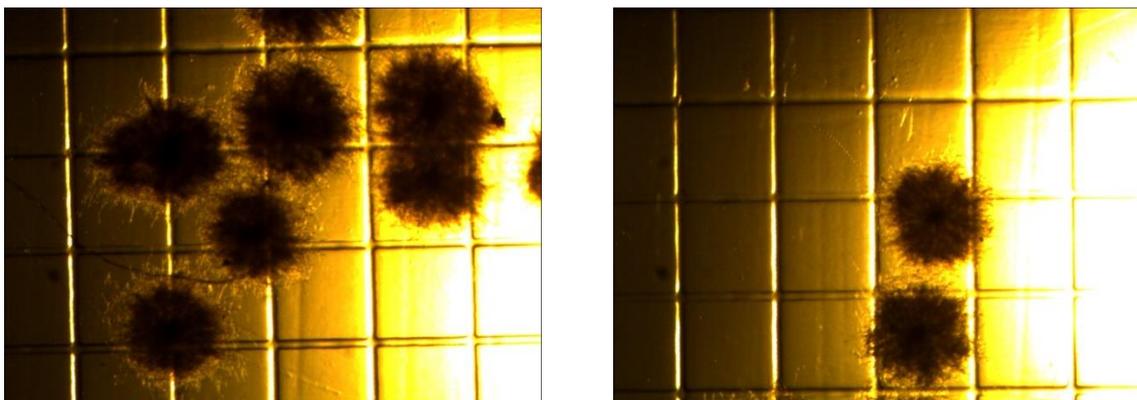


FIGURA 3. Imagens de *pellets* de *A. niger* para o ponto inicial (4h) de ensaio de fragmentação realizado em biorreator *airlift* a 35 L/min.

Analisando-se as Figuras 2 e 3, não se observou visualmente uma fragmentação dos *pellets*. Contudo, a análise de imagens indicou valores de área projetada média para os pontos inicial e final iguais a 1,400 e 1,151 mm<sup>2</sup>, respectivamente. A partir destes valores, determinou-se a redução do tamanho dos *pellets* por fragmentação (em %), conforme Equação 2:

$$\text{Fragmentação} = \left(1 - \frac{A_f}{A_0}\right) \cdot 100 \quad (2)$$

O valor de fragmentação obtido foi de 17,8%, indicando razoável fragmentação de *pellets* na condição do ensaio. Buffo e colaboradores (2020) realizaram ensaio de fragmentação de *pellets* em biorreator *airlift* equipado com aspersor de 84 orifícios. Operando o biorreator a uma vazão de 25 L/min (velocidade do ar nos orifícios igual a 25,2 m/s), os autores obtiveram uma fragmentação de *pellets* de 18%.

Dessa maneira, apesar de fragmentação observada nos ensaios do presente trabalho, essa diminuição de tamanho foi similar àquela obtida na literatura em uma condição teoricamente menos agressiva (menor velocidade de ejeção de ar pelos orifícios do aspersor).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicaram que o uso de aspersor com poucos orifícios levou a um elevado valor de velocidade de saída do ar através dos furos. O ensaio de fragmentação realizado a 35 L/min promoveu uma fragmentação de 17,8% dos *pellets*. Apesar deste valor não ser desprezível, ele foi similar ao relatado na literatura em condição teoricamente menos agressiva de fragmentação.

## CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

L.N.D. e G.F.P. procederam com a metodologia e experimentos e contribuíram com a curadoria e análise dos dados. M.N.E. realizou a conceitualização do trabalho, a administração e supervisão do projeto. L.N.D. e M.N.E. atuaram na redação do trabalho.

Todos os autores contribuíram com a revisão do trabalho e aprovaram a versão submetida.

## AGRADECIMENTOS

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

## REFERÊNCIAS

BUFFO, M.M., ESPERANÇA, M.N., BÉTTEGA, R., FARINAS, C.S., BADINO, A.C. Oxygen Transfer and Fragmentation of *Aspergillus niger* Pellets in Stirred Tank and Concentric-Duct Airlift Bioreactors. **Industrial Biotechnology**, v. 16, n. 2, 2020.

CUNHA, F.M.; ESPERANCA, M.N.; FLORENCIO, C.; VASCONCELLOS, V.M.; FARINAS, C.S.; BADINO, A.C. Three-phasic fermentation systems for enzyme production with sugarcane bagasse in stirred tank bioreactors: Effects of operational variables and cultivation method. **Biochemical Engineering Journal**, v. 97, p. 32-39, 2015.

KRULL, R.; WUCHERPFENNIG, T.; ESFANDABADI, M. E.; WALISKO, R. *et al.* Characterization and control of fungal morphology for improved production performance in biotechnology. **Journal of Biotechnology**, v. 163, n. 2, p. 112-123, 2013.

MANDELS, M.; STERNBERG, D. Recent advances in cellulase technology. **Journal of Fermentation Technology**, v. 54, n. 4, p. 267-286, 1976.

SERRANO-CARREON, L.; GALINDO, E.; ROCHA-VALADEZ, J. A.; HOLGUINSALAS, A. *et al.* Hydrodynamics, Fungal Physiology, and Morphology. In: KRULL, R. e BLEY, T. (Ed.). **Filaments in Bioprocesses**. Berlin: Springer-Verlag Berlin. v. 149, p. 55-90, 2015.