Demonstração: fator de conversão

Objetivo: demonstrar que o fator de conversão (*yield*) de um substrato S a biomassa B só pode ser expresso como a razão entre a velocidade específica de produção de biomassa μ e a velocidade específica de consumo q_S se a composição da biomassa e a energia de manutenção forem constantes ou se os efeitos de suas variações no metabolismo se compensarem exatamente. Em outras palavras, se o metabolismo estiver num estado quasi-estacionário.

Parte 1 – O fator de conversão (yield) é um tipo de velocidade

Parte 2 – O fator de conversão é a inclinação de uma função composta

Parte 3 – O fator de conversão durante crescimento “balanceado” e “desbalanceado”

Parte 3A – 1 substrato: crescimento “balanceado” (estado metabólico quasi-estacionário)

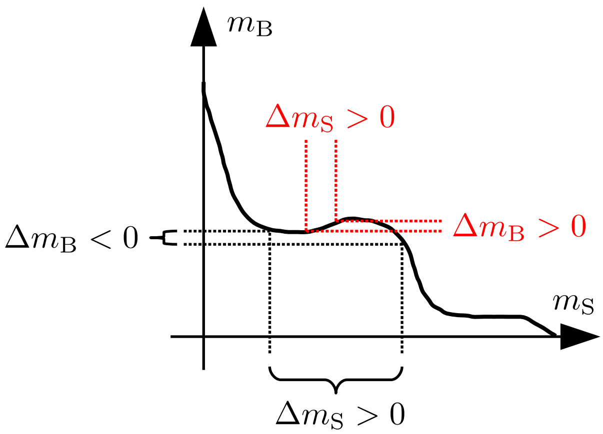
Parte 3B – 2 substratos: crescimento “desbalanceado” (estado metabólico transiente)

Dr. Rafael Augusto Theodoro Pereira de Souza Nahat

Maio/2020

Parte 1 – O fator de conversão (*yield*) é um tipo de velocidade

O fator de conversão é a variação da massa de biomassa m_{B} em função da massa do substrato m_{S}. Ele deve ser positivo quando a biomassa aumenta e o substrato diminui, isto é, quando biomassa é produzida e substrato é consumido. Mas pode ser negativo, como por exemplo o fator de conversão de etanol a biomassa de levedura: na ausência de O_2, a levedura fermenta e produz etanol, então esse fator de conversão é negativo; mas na presença de O_2, a levedura reconsome esse mesmo etanol como fonte de carbono, então esse fator é positivo. Logo, a nossa primeira tentativa de expressar o fator de conversão matematicamente precisa ter um sinal negativo:



$$Y_1 = -\frac{\Delta m_{\mathrm{B}}}{\Delta m_{\mathrm{S}}} \tag{1}$$

OBS: o sinal negativo é para que o fator de conversão seja positivo quando o substrato diminui e a biomassa aumenta (caminhamos pela curva da direita para a esquerda, ou seja, no sentido oposto ao do eixo m_S). O subscrito "1" denota que essa é a nossa primeira tentativa de definir fator de conversão.

Figura 1: Definição (1) de fator de conversão. Nesse exemplo gráfico, $\Delta m_{\mathrm{B}} < 0$ no intervalo preto, porém $\Delta m_{\mathrm{B}} > 0$ no intervalo vermelho, que está dentro do intervalo preto!

Na Figura 1, o intervalo vermelho está contido dentro do preto, então se o intervalo preto corresponde a um experimento inteiro, o vermelho corresponde a um período de tempo dentro desse experimento. Com a Equação (1), o fator de conversão entre o início e o fim desse período é negativo mas o fator de conversão global do experimento inteiro é positivo!

Para entender o que isso significa, vamos fazer uma analogia com o conceito de velocidade: o espaço (x) é análogo à massa de biomassa (m_B) e o tempo (t) é análogo à massa de substrato (m_S), então o fator de conversão (Y_1) da Equação (1) é análogo à velocidade média ($v_m = \Delta x / \Delta t$). A Figura 2 ilustra essa analogia com 5 "fotos" de um carro se deslocando na horizontal em vários instantes de tempo, e um relógio marcando o instante de tempo de cada "foto" à esquerda. O intervalo de tempo total da viagem foi dividido em 9. A Figura 3 divide o intervalo preto em 9 pedaços correspondentes (o instante t_{I} é o final do intervalo I, o t_{II} é o final do intervalo II, etc).

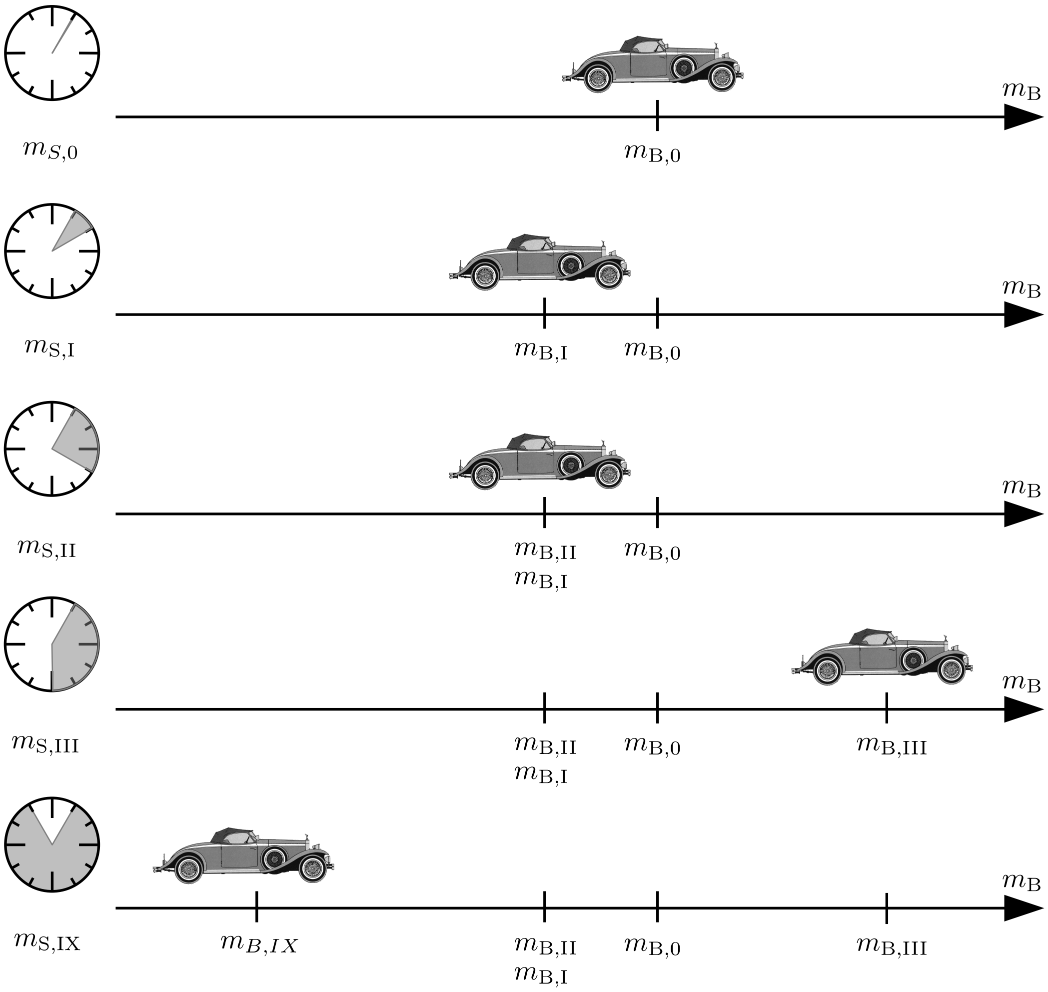


Figura 2: Analogia com viagem de carro (massa de biomassa = espaço, massa de substrato = tempo). O sinal negativo na definição do fator de conversão é que faz o carro andar de ré se o tempo aumentar (como queremos: se o substrato aumentar, a biomassa tem que diminuir).

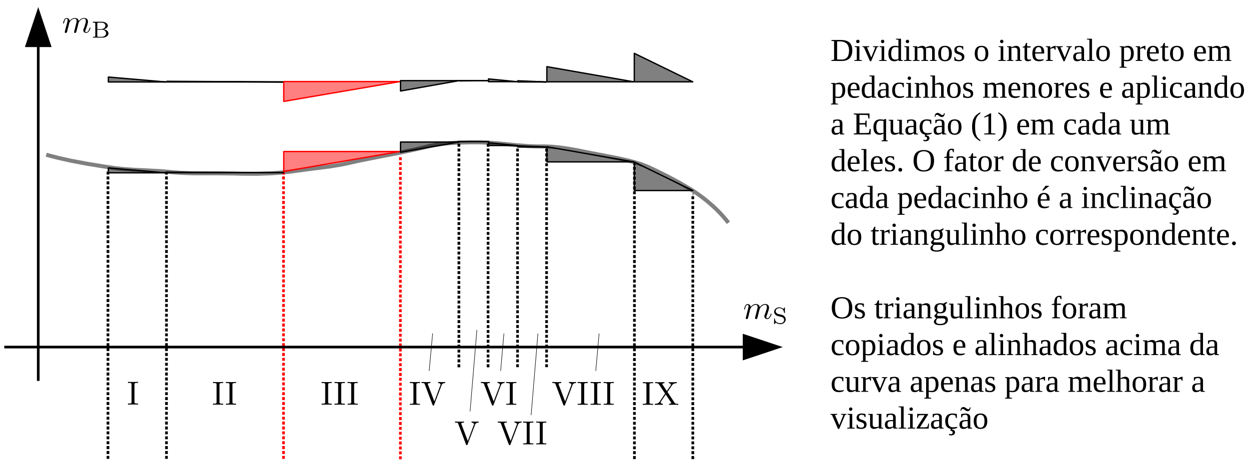


Figura 3: Zoom na Figura 1 para quebrar o intervalo preto em pedacinhos menores e aplicar a Equação (1) para cada pedacinho. O pedacinho I vai de $m_{\mathrm{S},0}$ a $m_{\mathrm{S,I}}$, o II de $m_{\mathrm{S,I}}$ a $m_{\mathrm{S,II}}$, etc.

Podemos diminuir o tamanho dos pedacinhos do intervalo preto até que cada pedacinho se aproxime de ser 1 único ponto. Assim, o número de triangulinhos tende a infinito e o tamanho dos lados de cada um tendem a zero. Para dizer “1 pedacinho = 1 ponto”, trocamos a notação de Δ para d como na Equação (2). A Equação (3) expressa o procedimento todo de diminuir os pedacinhos:

$$\frac{\Delta m_S}{\Delta m_B} \to \frac{dm_B}{dm_S} \qquad \text{Isto vale se: } \Delta m_S \to 0 \tag{2}$$

$$\frac{dm_B}{dm_S} = \lim_{\Delta m_S \to 0} \frac{m_B(m_{S,final}) - m_B(m_{S,inicial})}{m_{S,final} - m_{S,inicial}} \tag{3}$$

Agora sim podemos definir o fator de conversão:

$$Y_{\mathrm{B/S}} = -\frac{dm_B}{dm_S} = -\frac{d}{dm_S}[m_B(m_S)] \qquad \textit{Yield} \text{ instantâneo (num ponto)} \tag{4}$$

Agora, para calcular o fator de conversão global de um intervalo, usamos de novo a analogia com velocidade: o fator de conversão global de um intervalo é análogo à velocidade média de uma viagem de carro, assim como o fator de conversão instantâneo num ponto desse intervalo é análogo ao valor da velocidade numa foto do velocímetro do carro num ponto da viagem. A velocidade média da viagem inteira pode ser calculada de duas formas:

$$v_{\text{viagem}} = \frac{\Delta(\text{posição no espaço})}{\Delta(\text{posição no tempo})} = \frac{\Delta x_{total}}{\Delta t_{total}} \qquad \text{Lembrando: } x \text{ é espaço} \tag{5}$$

$$v_{\text{viagem}} = \frac{\Delta t_{\mathrm{I}} \cdot v_{\mathrm{I}} + \Delta t_{\mathrm{II}} \cdot v_{\mathrm{II}} + ...}{\Delta t_{\mathrm{I}} + \Delta t_{\mathrm{II}} + ...} \qquad \text{Intervalos de tempo I, II, III...} \tag{6}$$

A primeira forma, na Equação (5), é como fizemos até agora, seja para os intervalos inteiros como na Figura 1 ou nos pedacinhos deles como na Figura 3: nós usamos apenas os valores de espaço e tempo nas extremidades do intervalo/subintervalo (inicial e final). A Equação (6) é simplesmente a média das velocidades médias em cada pedacinho ponderada pelo intervalo de tempo correspondente a cada pedacinho. Aplicando a Equação (5) em cada trecho de estrada na Equação (6), nós voltamos para a Equação (5) aplicada à estrada inteira:

$$v_{\text{viagem}} = \frac{\cancel{\Delta t_{\mathrm{I}}} \cdot \frac{\Delta x_{\mathrm{I}}}{\cancel{\Delta t_{\mathrm{I}}}} + \cancel{\Delta t_{\mathrm{II}}} \cdot \frac{\Delta x_{\mathrm{II}}}{\cancel{\Delta t_{\mathrm{II}}}} + ...}{\Delta t_{\mathrm{I}} + \Delta t_{\mathrm{II}} + ...} = \frac{\Delta x_{\text{total}}}{\Delta t_{\text{total}}} \qquad \text{Intervalos de tempo I, II, III...} \tag{7}$$

Nós podemos reescrever a Equação (6) usando a notação de somatório:

$$\sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{IX}} a_i = a_{\mathrm{I}} + a_{\mathrm{II}} + a_{\mathrm{III}} + a_{\mathrm{IV}} + a_{\mathrm{V}} + a_{\mathrm{VI}} + a_{\mathrm{VII}} + a_{\mathrm{VIII}} + a_{\mathrm{IX}} \tag{8}$$

$$v_{\text{viagem}} = \frac{\sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{IX}} \Delta t_i \cdot v_i}{\sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{IX}} \Delta t_i} = \frac{\sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{IX}} \Delta t_i \cdot v_i}{\Delta t_{\text{total}}} \tag{9}$$

Lembrando: há apenas 9 pedacinhos, então o denominador é o Δt_{total}

$$v_{\text{viagem}} \cdot \Delta t_{\text{total}} = \sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{IX}} \Delta t_i \cdot v_i \tag{10}$$

Multiplicamos os dois lados por Δt_{total}

Agora, novamente diminuímos o tamanho dos intervalos de tempo até que cada pedacinho se aproxime de ser 1 único ponto. Assim, o número de “fotos da viagem” tende a infinito e o intervalo de tempo entre duas “fotos” consecutivas tende a zero. A única coisa que mudará na Equação (10) é o índice do último termo dentro do somatório, N, que era IX e passa a ser ∞:

$$v_{\text{viagem}} \cdot \Delta t_{\text{total}} = \sum_{i=\mathrm{I}}^{i=N\to\infty} \Delta t_i \cdot v_i \tag{11}$$

O número *N* é o número de termos dentro do somatório. Agora, novamente mudamos a notação para dizer “somar os infinitos pedacinhos pontuais do intervalo entre t_0 e t_{IX}”:

$$\sum_{i=\mathrm{I}}^{i=\mathrm{N}} \Delta t_i \cdot v_i = \int_{t_0}^{t_{\mathrm{IX}}} v(t) \cdot dt \tag{12}$$

Isto vale se: $N \to \infty$ e $\Delta t_i \to 0$ para todos os i

Substituindo a Equação (12) na Equação (10) chegamos na expressão geral da velocidade média, que vale inclusive caso ela varie continuamente durante a viagem:

$$v_{\text{viagem}} \cdot \Delta t_{\text{total}} = \int_{t_0}^{t_{\mathrm{IX}}} v(t) \cdot dt \tag{13}$$

Reescrevendo a Equação (13) em termos do espaço como função do tempo, $x(t)$, obtemos a Equação (14), mais conhecida como “teorema fundamental do cálculo”:

$$\Delta x_{\text{total}} = \int_{t_0}^{t_{\mathrm{IX}}} \frac{d}{dt}[x(t)] \cdot dt \tag{14}$$

Isto vale se: a função $x(t)$ for contínua entre t_0 e t_{IX}

O “teorema fundamental do cálculo” simplesmente diz que a integral é a operação inversa da derivada. Isso vale para qualquer função que seja contínua dentro do intervalo considerado. Agora podemos voltar às nossas variáveis originais. Vamos trocar na Equação (14):

1. “tempo” por “massa de substrato”: $t = m_{\mathrm{S}}$
2. “espaço” por “massa de biomassa”: $x(t) = m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})$

$$\begin{aligned} \Delta x_{\mathrm{total}} &= \int_{t_0}^{t_{\mathrm{IX}}} \frac{d}{dt}[x(t)] \, dt \\ \Delta m_{\mathrm{B,total}} &= \int_{m_{\mathrm{S},0}}^{m_{\mathrm{S,IX}}} \frac{d}{dm_{\mathrm{S}}}[m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})] \, dm_{\mathrm{S}} \end{aligned} \tag{15}$$

Além disso, substituir a Equação (4) na (15) é a mesma coisa que trocar “velocidade” por “fator de conversão” na Equação (13):

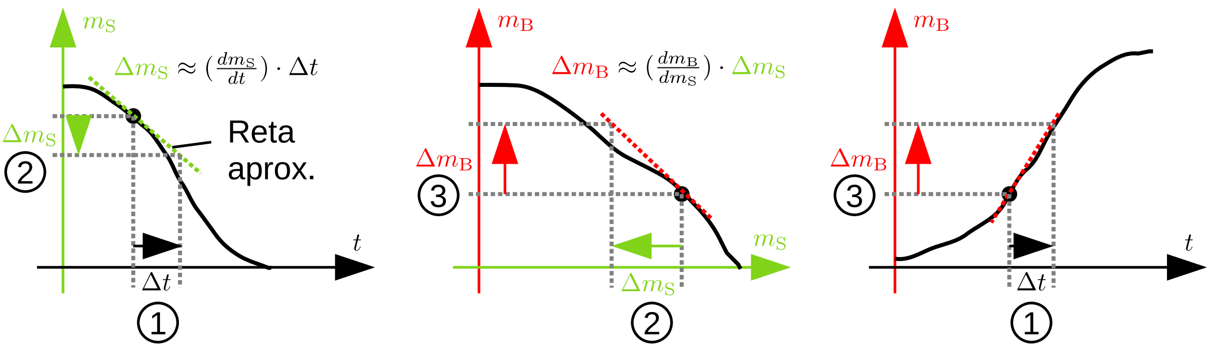
$$\begin{aligned} \Delta x_{\mathrm{total}} &= \int_{t_0}^{t_{\mathrm{IX}}} \frac{d}{dt}[x(t)] \, dt \\ \Delta m_{\mathrm{B,total}} &= \int_{m_{\mathrm{S},0}}^{m_{\mathrm{S,IX}}} \frac{d}{dm_{\mathrm{S}}}[m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})] \, dm_{\mathrm{S}} \\ \Delta m_{\mathrm{B,total}} &= \int_{m_{\mathrm{S},0}}^{m_{\mathrm{S,IX}}} -Y_{\mathrm{B/S}}(m_{\mathrm{S}}) \, dm_{\mathrm{S}} \end{aligned} \tag{16}$$

Parte 2 – O fator de conversão é a inclinação de uma função composta

Uma função de outra função é chamada “função composta”. O fator de conversão ($Y_{\mathrm{B/S}}$) é a inclinação do gráfico de massa de biomassa (m_{S}) em função da massa de substrato (m_{S}). Porém, a massa de substrato é função do tempo (t). Logo, o fator de conversão é a inclinação de uma função de outra função, isto é, a inclinação de uma função composta:

$$Y_{\mathrm{B/S}} = -\frac{d}{dm_{\mathrm{S}}}[m_{\mathrm{B}}] = -\frac{d}{dm_{\mathrm{S}}}[m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})] = -\frac{d}{dm_{\mathrm{S}}(t)}[m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}}(t))] \tag{17}$$

A Figura 4 mostra como a inclinação de m_{B} em função de t pode ser estimada graficamente a partir das inclinações de m_{B} em função de m_{S} e da inclinação de m_{S} em função de t. A variável-mãe aqui é o tempo. Um empurrãozinho no tempo (1), Δt, gera uma variaçãozinha na massa de substrato (2), Δm_{S}, que é aproximadamente igual ao empurrãozinho no tempo vezes a inclinação da função $m_{\mathrm{S}}(t)$ naquele ponto. Por sua vez, a variaçãozinha Δm_{S} gera uma variaçãozinha na massa de biomassa (3), Δm_{B}, que é aproximadamente igual a Δm_{S} vezes a inclinação da função $m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})$ no ponto correspondente ao valor de m_{S} lá do primeiro empurrãozinho no tempo.



a) Empurrãozinho no t (1) gera uma variaçãozinha na m_{S} (2)

b) a variaçãozinha na m_{S} do item a (2) gera uma variaçãozinha na m_{B} (3)

c) eliminando o passo intermediário (2), que é a variaçãozinha na m_{S}

Figura 4: Estimando a inclinação de $m_{\mathrm{B}}(t)$ através das inclinações de $m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}})$ e $m_{\mathrm{S}}(t)$

Substituindo a aproximação de Δm_{S} (2) na expressão da aproximação de Δm_{B} (3), obtemos:

$$\Delta m_{\mathrm{B}} \approx (\tfrac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}}) \cdot \Delta m_{\mathrm{S}} = (\tfrac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}}) \cdot [(\tfrac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}) \cdot \Delta t] \tag{18}$$

Dividindo os dois lados da Equação (18) por Δt, fazendo $\Delta t \to 0$ e trocando a notação Δ por d para dizer que fizemos isso, obtemos:

$$\frac{d}{dt}[m_{\mathrm{B}}(\ m_{\mathrm{S}}(t)\ )] = \left(\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}}\right) \cdot \left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right) \tag{19}$$

A Equação (19) é mais conhecida como “regra da cadeia para funções de 1 variável”. Essa notação de derivada (inclinação) que parece fração pode ser manipulada algebricamente como se fosse uma fração **apenas para esse caso de 1 variável**.

Parte 3 – O fator de conversão durante crescimento "balanceado" e "desbalanceado"

Assumindo que os únicos produtos excretados são os resíduos da obtenção de energia (ex: CO_2 ou produto de fermentação) e que o substrato S é a única fonte de energia, vamos analisar dois casos sobre a composição da biomassa e a energia de manutenção: A) são ambas constantes ou suas variações se compensam exatamente (crescimento "balanceado"); B) ambas podem variar no tempo e suas variações não se compensam (crescimento desbalanceado). Para cada um dos casos, vamos expressar a razão μ/q_{S} e depois aplicar a regra da cadeia para verificar em que condições essa razão é igual ao fator de conversão da Equação (4). As definições de μ e q são:

$$\mu = \frac{1}{m_{\mathrm{B}}}\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dt} \tag{20}$$

$$q = -\frac{1}{m_{\mathrm{B}}}\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt} \tag{21}$$

Parte 3A – 1 substrato: crescimento "balanceado" (estado metabólico quasi-estacionário)

Neste caso, existe apenas 1 substrato S, que é tanto a fonte de energia quanto o único componente da biomassa (ex: carbono). Portanto, a biomassa é 100% feita de S, e assim sua composição é necessariamente constante. A energia de manutenção é constante por hipótese. Aplicando a regra da cadeia para 1 variável (19) na derivada dentro da definição de μ (20) e dividindo μ por q_{S}:

$$\mu = \frac{1}{m_{\mathrm{B}}}\left(\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dt}\right) = \frac{1}{m_{\mathrm{B}}}\left(\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}}\right)\left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right) \qquad \text{Isso vale se: } m_{\mathrm{B}} = m_{\mathrm{B}}(m_{\mathrm{S}}(t)) \tag{22}$$

$$\frac{\mu}{q_{\mathrm{S}}} = \frac{\cancel{\frac{1}{m_{\mathrm{B}}}}\left(\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}}\right)\cancel{\left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right)}}{\cancel{-\frac{1}{m_{\mathrm{B}}}\left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right)}} = -\frac{dm_{\mathrm{B}}}{dm_{\mathrm{S}}} = Y_{\mathrm{B/S}} \qquad \text{Dividindo a Equação (22) pela (21)} \tag{23}$$

A conclusão é de que, nesse caso A, a regra da cadeia (22) assegura que a razão entre a velocidade específica de crescimento e a velocidade específica de consumo desse substrato seja numericamente igual ao fator de conversão (23) porque a m_{B} é função de apenas 1 função do tempo.

Parte 3B – 2 substratos: crescimento "desbalanceado" (estado metabólico transiente)

Agora existem apenas 2 substratos, S e Z, ambos componentes da biomassa. S é a fonte de energia, como no caso A, e Z não é fonte de energia. Agora o metabolismo pode mudar sua estrutura para consumir um pouco mais de um dos dois substratos a fim de economizar o outro, caso o primeiro esteja sobrando e o segundo esteja faltando. Ex: S faltando e Z abundante → energia de manutenção diminui e a composição da biomassa muda para que a mesma massa de biomassa formada consuma menos S, e, consequentemente, mais Z, para fechar o balanço de massa de cada um. Então agora m_{B} é uma função composta de 2 funções do tempo, $m_{\mathrm{S}}(t)$ e $m_{\mathrm{Z}}(t)$:

$$m_{\mathrm{B}} = m_{\mathrm{B}}(\ m_{\mathrm{S}}(t), m_{\mathrm{Z}}(t)\ ) \tag{24}$$

Então precisamos estender a regra da cadeia para 2 variáveis independentes. Faremos o mesmo raciocínio da Figura 4 só que o empurrãozinho no tempo gerará uma variaçãozinha vetorial no plano dessas 2 funções do tempo em vez de uma variaçãozinha escalar num eixo só:

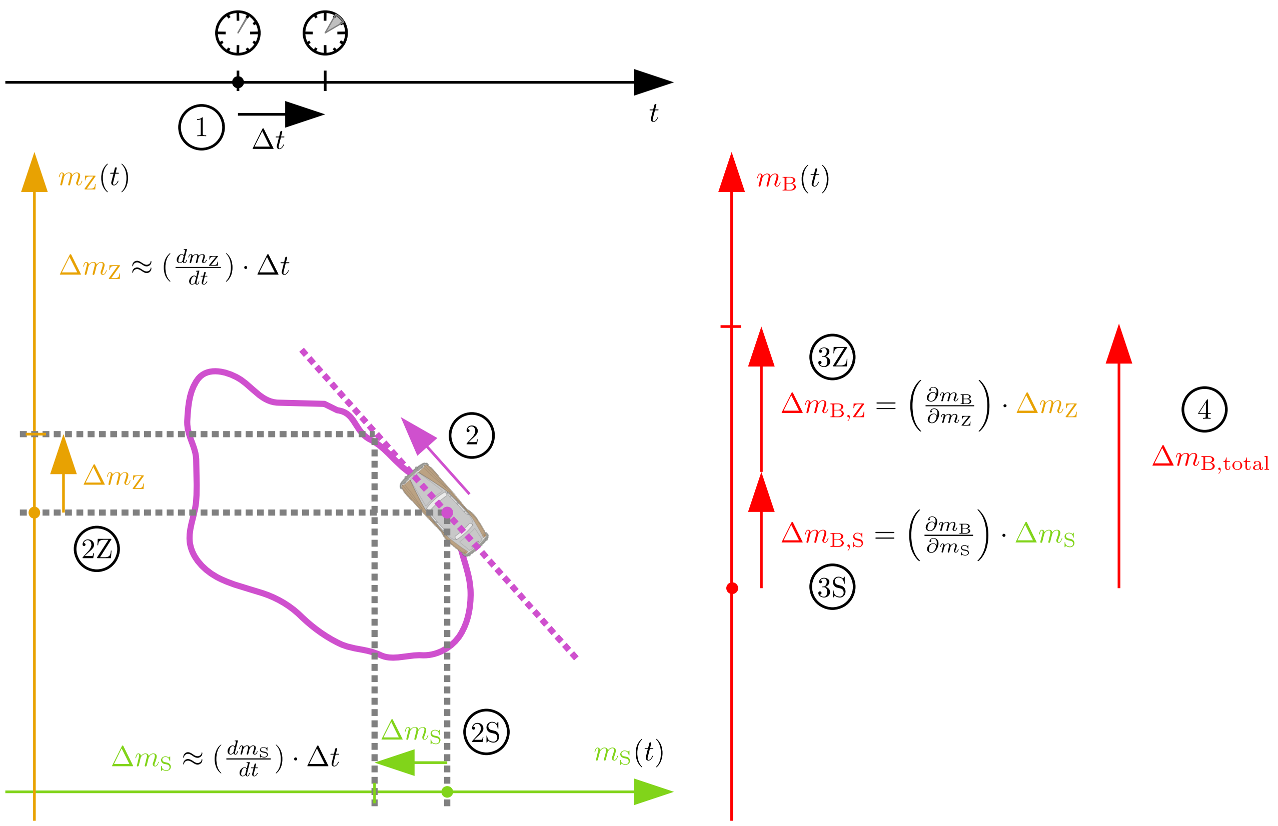


Figura 5: Estimando a inclinação de $m_{\mathrm{B}}(t)$ através das inclinações de $m_{\mathrm{Z}}(m_{\mathrm{S}})$, $m_{\mathrm{S}}(t)$ e $m_{\mathrm{Z}}(t)$.

Novamente usamos a analogia do carro, só que agora o movimento tem 2 dimensões (o espaço não é mais apenas o eixo x e sim o plano xy). Um empurrãozinho no tempo (1) gera simultaneamente uma variaçãozinha na massa de S (2S) e na massa de Z (2Z), de acordo com as funções $m_\mathrm{S}(t)$ e $m_\mathrm{Z}(t)$. Cada uma dessas variaçõezinhas gera, independentemente, uma variaçãozinha correspondente em m_B (3S e 3Z). Por fim, somamos essas duas variaçõezinhas parciais (3S e 3Z) para obter a variaçãozinha total na massa de biomassa (4). Fazendo as substituições para obter uma fórmula para a derivada total da massa de biomassa em relação ao tempo:

$$\frac{d}{dt}[m_\mathrm{B}(\ m_\mathrm{S}(t), m_\mathrm{Z}(t)\ )] = \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dt}\right) \tag{25}$$

A Equação (25) é a regra da cadeia para 2 variáveis, isto é, quando a função composta é uma função de 2 outras funções simultaneamente. Lembrando que as derivadas são parecidas com frações mas não são frações, nós vamos aplicar a Equação (25) na derivada que aparece dentro da definição da velocidade específica de crescimento (22), dividir μ/q_S e igualar isso à definição do fator de conversão (4) para concluir em que condições podemos calcular o fator de conversão como μ/q_S quando a composição da biomassa e a energia de manutenção são variáveis:

$$\begin{aligned}\mu &= \frac{1}{m_\mathrm{B}}\left(\frac{dm_\mathrm{B}}{dt}\right) = \\ &= \frac{1}{m_\mathrm{B}}\left[\left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dt}\right)\right]\end{aligned} \qquad \text{Isso vale se: } m_\mathrm{B} = m_\mathrm{B}(\ m_\mathrm{S}(t), m_\mathrm{Z}(t)\ ) \tag{26}$$

$$\frac{\mu}{q_\mathrm{S}} = \frac{\cancel{\frac{1}{m_\mathrm{B}}}\left[\left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dt}\right)\right]}{-\cancel{\frac{1}{m_\mathrm{B}}}\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right)} \qquad \text{Dividindo (26) pela (21)} \tag{27}$$

$$-\frac{\left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dt}\right)}{\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right)} = Y_{\mathrm{B/S}} = -\left(\frac{dm_\mathrm{B}}{dm_\mathrm{S}}\right) \qquad \text{Igualando (27) à (4)} \tag{28}$$

$$\left(\frac{dm_\mathrm{B}}{dm_\mathrm{S}}\right) = \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dm_\mathrm{S}}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dm_\mathrm{S}}\right) \qquad \text{Aplicando a regra da cadeia do lado direito da (28)} \tag{29}$$

$$\frac{\left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dt}\right)}{\left(\frac{dm_\mathrm{S}}{dt}\right)} = \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{S}}\right)\cdot\left(\cancelto{1}{\frac{dm_\mathrm{S}}{dm_\mathrm{S}}}\right) + \left(\frac{\partial m_\mathrm{B}}{\partial m_\mathrm{Z}}\right)\cdot\left(\frac{dm_\mathrm{Z}}{dm_\mathrm{S}}\right) \tag{30}$$

É difícil enxergar o que está acontecendo na Equação (30). Então vamos chamar dm_S/dt de x e os outros termos de letras só para não nos perdermos. E aí vamos resolver a equação para esse x e ver o que podemos concluir. Isso porque nós sabemos como a massa de substrato S varia no tempo (ela diminui se a biomassa aumenta):

$$
\begin{aligned}
&\frac{\left(\frac{\partial m_{\mathrm{B}}}{\partial m_{\mathrm{S}}}\right)\cdot\left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right)+\left(\frac{\partial m_{\mathrm{B}}}{\partial m_{\mathrm{Z}}}\right)\cdot\left(\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dt}\right)}{\left(\frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}\right)} = \left(\frac{\partial m_{\mathrm{B}}}{\partial m_{\mathrm{S}}}\right)+\left(\frac{\partial m_{\mathrm{B}}}{\partial m_{\mathrm{Z}}}\right)\cdot\left(\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dm_{\mathrm{S}}}\right) \\
&\frac{f_1\cdot x+f_2\cdot f_3}{x}=f_1+f_2\cdot f_4
\end{aligned}
\tag{31}
$$

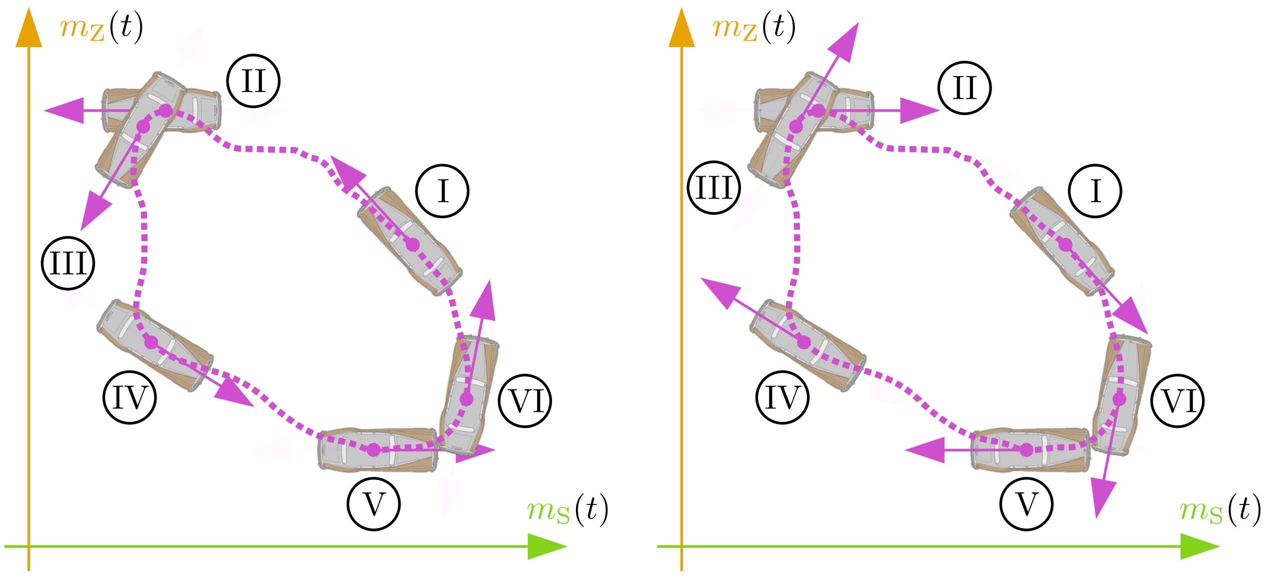
$$
f_2\cdot(f_3-xf_4)=0 \quad\Rightarrow\begin{cases} f_2=0 \quad \xRightarrow{\text{Eq. (31)}} \quad \frac{\partial m_{\mathrm{B}}}{\partial m_{\mathrm{Z}}}=0 & (1)\\[2ex] x=\frac{f_3}{f_4} \quad \xRightarrow{\text{Eq. (31)}} \quad \frac{dm_{\mathrm{S}}}{dt}=\frac{\left(\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dt}\right)}{\left(\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dm_{\mathrm{S}}}\right)} & (2)\end{cases}
\tag{32}
$$

Na Equação (32), o produto de 2 fatores é zero se um dos dois fatores é zero. Igualando cada um dos fatores a zero, obtemos 2 soluções. A primeira, (32).(1), significa que a massa de biomassa não varia com a massa de Z, ou seja, voltamos para o caso A, no qual já sabemos que podemos calcular o fator de conversão como a razão entre μ e q_{S}.

Na segunda solução, (32).(2), nós sabemos que se S e Z são substratos, ou ambos diminuem juntos ou ambos aumentam juntos com o tempo. Assim, ou as duas derivadas em relação ao tempo são positivas ou as duas são negativas. Portanto, de qualquer maneira, a derivada da massa de Z em relação à massa de S precisa ser positiva ou zero:

- $\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dm_{\mathrm{S}}}=0$: a Equação (32).(2) escrita como está teria uma divisão por zero. Então, multiplicamos os dois lados por $\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dm_{\mathrm{S}}}$. Concluímos que todas as três derivadas precisam ser zero. Ou seja, as massas de S e de Z não variam com o tempo, e além disso a composição da biomassa assim como a energia de manutenção também não variam com o tempo. Isso é o estado estacionário rigoroso, um quimiostato, que é ainda mais restrito que o estado metabólico quasi-estaiconário. Então, num quimiostato, vale $Y_{\mathrm{B/S}}=\frac{\mu}{q_{\mathrm{S}}}$, como esperado.

- $\frac{dm_{\mathrm{Z}}}{dm_{\mathrm{S}}}>0$: para descobrir o que isso significa, vamos voltar ao plano formado pelas funções $m_{\mathrm{Z}}(t)$ e $m_{\mathrm{S}}(t)$ da Figura 5 e destacar onde essa derivada é positiva e onde ela é negativa:



a) carro andando para frente   b) carro andando de ré

Figura 6: Como se comporta o sinal da derivada $\frac{dm_Z}{dm_S}$: positiva nos pontos III e VI, zero nos pontos II e V e negativa nos pontos I e IV. Independentemente da direção do movimento do carro.

De acordo com a Figura 6, $\frac{dm_Z}{dm_S} < 0$ em pontos como I e IV. Nesses pontos o metabolismo está trocando um substrato pelo outro. Por exemplo, se o carro está andando para frente, no ponto I, haveria um consumo extra de Z a fim de economizar S. Como a biomassa é composta por apenas esses dois substratos e não há nenhum produto excretado que seja proveniente de Z porque S é a única fonte de energia, ou a composição da biomassa tem que mudar ou a energia de manutenção tem que mudar.

Isso indica que $Y_{B/S} \neq \frac{\mu}{q_S}$, mas ainda precisamos verificar a condição $\frac{dm_Z}{dm_S} > 0$. Esses são pontos como III e VI. Neles, as massas de S e de Z diminuem juntas, então a única forma de trocar um pelo outro é consumir um deles mais rápido que o outro:

- $\frac{dm_Z}{dm_S} = 1 > 0$: substituindo isto na Equação (32).(2) impõe que $\frac{dm_S}{dm_t} = \frac{dm_Z}{dm_t}$, então ou a composição da biomassa bem como a energia de manutenção estão constantes ou a mudança em uma está exatamente compensando a mudança na outra. Ou seja, voltamos ao caso A.

- $0 < \frac{dm_Z}{dm_S} \neq 1$: substituindo isto na Equação (32).(2) concluímos que $Y_{B/S} \neq \frac{\mu}{q_S}$.