



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**ANÁLISE E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE
ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE PARA
PRODUÇÃO DE CONCENTRADO PROTEICO**

IVAN DE OLIVEIRA PEREIRA

**ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

IVAN DE OLIVEIRA PEREIRA

**ANÁLISE E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE
LEITE PARA PRODUÇÃO DE CONCENTRADO PROTEICO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de Processos de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”

Orientador:

Luiz Antônio Minim

Coorientadores:

Renata Cristina Bonomo

Modesto Antônio Chaves

**ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
JULHO - 2009**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE ALIMENTOS
Área de Concentração Engenharia de Processos de Alimentos
Campus de Itapetinga-BA



TERMO DE APROVAÇÃO

Título: “Mestre”

Autor: Ivan de Oliveira Pereira

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de concentração em **Engenharia de Processos de Alimentos**, pela Banca Examinadora:

Prof. Modesto Antonio Chaves, *DSc.*, UESB

Prof. Marcelo Franco, *DSc.*, UESB

Prof. Marcondes Viana da Silva, *DSc.*, UESB

Data da realização: 24 / 07 / 2009

Aos meus exemplos de vida, Waldomiro F. Pereira e Carmélia de O. Pereira. Pessoas que com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação estiveram sempre ao meu lado nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigado por serem meus pais, fonte de inspiração, apoio e ensino diário.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família, Waldomiro, Carmélia e Milena os mais profundos agradecimentos por suas sábias lições de esperança, apoio e carinho incondicional durante o decorrer de meu mestrado.

À Simone, minha companheira de toda hora, muito obrigado por tudo, sem ela nenhuma dessas páginas estaria completa.

Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meus potenciais.

Ao orientador, Prof. Dr. Luiz Antônio Minim, pela oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa, pela sua confiança em meu trabalho e principalmente pela sua paciência, dedicação e incansável orientação.

À Prof. Dra. Renata Bonomo coorientadora desta dissertação por sua ajuda, dedicação e pela sua confiança em meu trabalho, sem ela as coisas seriam mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Modesto A. Chaves, Prof. Dr. Marcondes Viana da Silva e Prof. Dr. Marcelo Franco por aceitarem participar da banca de defesa desta dissertação, proporcionando discussões e sugestões que servirão para crescimento, aprendizado e incentivo à pesquisa.

Aos Funcionários da Universidade Federal de Viçosa – UFV e da Universidade Estadual da Bahia - UESB, pela agilidade e auxílio que permitiram a realização deste trabalho.

À FAPESB, pelo auxílio financeiro, através da bolsa de estudos.

A todos os meus amigos e amigas que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

Aos colegas de laboratório Rafael Lira, Roney, Rita Superbi, Moisés, Clara Leonel, Analice, Leandro Soares, Janaína e Fábio pela ajuda nos experimentos e pelos momentos de descontração.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa dissertação de mestrado.

RESUMO

PEREIRA OLIVEIRA, I. **Análise e otimização do processo de ultrafiltração do soro de leite para produção de concentrado proteico.** Itapetinga-BA: UESB, 2009. 62p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos – Engenharia de Processos de Alimentos).*

As proteínas do soro de leite possuem alto valor nutricional, funcional e tecnológico e, por isso, indústrias alimentícias, farmacêuticas e de biotecnologia têm grande interesse em utilizá-las. Assim, recuperá-las é uma ótima alternativa para a incorporação em uma gama de produtos, e processos de separação por membrana podem ser aplicados com grande vantagem. Entre esses, a ultrafiltração é o processo de maior destaque para a separação, concentração e fracionamento das proteínas do soro de leite. Neste trabalho, foram realizadas a análise e otimização do processo de ultrafiltração/diafiltração para a obtenção de concentrado proteico do soro de leite. Avaliou-se o efeito de parâmetros operacionais e físico-químicos como pressão transmembrana, vazão de alimentação, pH, temperatura, força iônica, concentração de proteínas sobre as variáveis respostas fluxo de permeado, coeficiente de retenção de proteína e coeficiente de rejeição de lactose. As diferentes condições testadas foram definidas por um planejamento fatorial fracionado de resolução 4, de dois níveis e seis fatores (2^{6-2}) com três repetições no ponto central. A ultrafiltração foi realizada em um sistema-piloto com membrana plana, tipo placa, de massa molar de corte de 5 kDa, área de 0,5 m² e composição de celulose regenerada. Pela análise exploratória realizada no SAS, identificou-se que a pressão, temperatura e pH apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre o fluxo de permeado e a interação entre as variáveis T e Co, efeito significativo sobre o coeficiente de rejeição de lactose, assim como a variável principal Co ($p < 0,05$). No entanto, os fatores não mostraram efeito significativo ($p > 0,05$) sobre o coeficiente de retenção de proteína. Das melhores condições obtidas na análise exploratória, a partir dos modelos propostos definiu-se o nível de cada variável que maximizou o fluxo de permeado e a rejeição de lactose. Considerando as limitações do equipamento e a sensibilidade das proteínas às variações dos níveis estudados, as condições foram as seguintes: força iônica = 0 M para o NaCl; pH = 6; concentração de proteína = 10 g L⁻¹; temperatura = 40 °C; pressão transmembrana = 103 kPa; e vazão de alimentação = 2,5 L min⁻¹. A etapa de otimização foi realizada segundo a metodologia proposta pelo fabricante do equipamento (MILLIPORE). Seguindo essa metodologia, obtiveram-se as condições operacionais para as etapas de concentração e diafiltração. Para realizar a concentração, a pressão transmembrana assumida foi de 172 kPa e vazão de alimentação de 2 L min⁻¹. Nessas condições, o fluxo de permeado foi de aproximadamente 34 L m⁻² h⁻¹ e, após 27 min de processo, apresentou redução de 40%. Para fazer a diafiltração, a ótima concentração de proteína foi de aproximadamente 90 g L⁻¹ e o fluxo de permeado nessa condição, de 19 L m⁻² h⁻¹. A concentração da camada de gel formada durante o processo foi de 181,5 g L⁻¹.

Palavras-chave: Membrana. Pellicon. Diafiltração.

*Orientador: Luiz Antônio Minim, D. Sc., UFV e Coorientadores: Renata Cristina Bonomo, D. Sc., UESB, e Modesto A. Chaves, D. Sc., UESB.

ABSTRACT

PEREIRA OLIVEIRA, I. **Optimization and analyses of the ultrafiltration/diafiltration for whey protein concentrate production.** Itapetinga-Ba: UESB, 2009 62p. (Thesis – Masters in Food Engineering – Food Process Engineering).*

Whey proteins possess high nutritional, functional and technological value. Therefore, food, pharmaceutical and biotechnological industries have great interest in their use. They are an excellent alternative to be added to several products. Processes of membrane separation can be applied with great advantage. The ultrafiltration is the main process used for separation, concentration and fractionation of whey proteins. This work was carried out through the analysis and optimization of the process of Ultrafiltration/Diafiltration for obtaining whey protein concentrate. It was evaluated the effect of operational and physicochemical parameters as transmembrane pressure, feed flow, pH, temperature, ionic strength, protein concentration on the variable responses, permeate flow, coefficient of protein retention and coefficient of lactose rejection. The different tested conditions were defined by a fractional factorial design of resolution 4, two levels and six factors (2^{6-2}), with three repetitions in the central point. The ultrafiltration was carried out in a pilot system with plain membrane, of plate type, with 5 kDa nominal molecular weight cut-off membrane, area of 0,5 m² and composition of regenerated cellulose. The exploratory analysis accomplished in the SAS found that the transmembrane pressure, temperature and pH had presented significant effect ($p < 0,05$) on the permeate flow and the interaction between the variables T and Co, and the Co ($p < 0,05$) presented a significant effect on the coefficient of lactose rejection. On the other hand, the factors had not presented significant effect ($p > 0,05$) on the coefficient of protein retention. Based on the best conditions achieved in the exploratory analysis, from the considered models, the levels were defined for each variable which maximized the permeate flow and the lactose rejection. Considering the limitations of the equipment and the sensitivity of the proteins to the variations of the levels studied, the conditions were: ionic strength = 0 M, pH = 6, protein concentration = 10 g L⁻¹, temperature = 40 °C, transmembrane pressure = 103 kPa and feed flow of 2,5 L min⁻¹. The optimization stage of the concentration and diafiltration were carried out through the methodology proposed by the manufacturer of the equipment (MILLIPORE®). Following this methodology, the operational conditions for the concentration and diafiltration stages were obtained. In the concentration stage, the transmembrane pressure assumed was 172 kPa and the feed flow was of 2 L min⁻¹. The permeate flow in the end concentration was 34 L m⁻² h⁻¹ and, 27 min after the beginning of the process, the flow loss was 40%. For the diafiltration, the optimal concentration protein was 91 g L⁻¹ and the permeate flow was 19 L m⁻² h⁻¹, approximately. The concentration of the gel layer formed was 181,5 g L⁻¹.

Keywords: Membrane. Pellicon. Diafiltration.

*Advisor: Luiz Antônio Minim, D. Sc., UFV, and Co-advisors: Renata Cristina Bonomo, D. Sc., UESB, and Modesto A. Chaves, D. Sc., UESB.

LISTA DE FIGURA

Figura 1: (a) Filtração convencional; (b) filtração tangencial.	18
Figura 2: Efeito da polarização de concentração e “fouling” no fluxo de permeado.	18
Figura 3: Fluxo de permeado em função do tempo, polarização de concentração e “fouling” em processos de separação por membrana.	20
Figura 4: Representação esquemática do processo de diafiltração.	22
Figura 5: Efeito do pH no fluxo de permeado no processo de UF do soro de leite	24
Figura 6: Fenômeno da polarização de concentração.....	28
Figura 7: Efeito da pressão transmembrana no fluxo de permeado.....	29
Figura 8: Sistema de ultrafiltração utilizado o PELLICON -2.	31
Figura 9: Esquema do sistema de ultrafiltração montado, em modo de reciclo total	35
Figura 10: Esquema do sistema de ultrafiltração montado, em modo de reciclo total.	39
Figura 11: Metodologia para determinar a concentração ótima de proteína para a diafiltração em fluxo tangencial em membrana de celulose regenerada, área de 0,5 m ² e 5 kDa de massa molar de corte.....	39
Figura 12: Teste de permeabilidade de água padrão (NWP) realizado nas 19 corridas experimentais. O teste foi realizado com água pura na etapa de lavagem final do procedimento de limpeza adotado.....	43
Figura 13: Efeito da pressão transmembrana no fluxo de permeado em temperaturas diferentes utilizando água pura: (●) 50 °C (○) 40 °C (▼) 30 °C	44
Figura 14: Superfície de resposta para o J _p - fluxo de permeado em função da TMP - pressão transmembrana e da T – temperatura.....	48
Figura 15: Superfície de resposta para o J _p em função do pH e da pressão transmembrana.....	49
Figura 16: Superfície de resposta para o J _p em função da temperatura e do pH no fluxo de permeado.....	50
Figura 17: Superfície de resposta para o CRL em função dos fatores concentração e temperatura.....	52
Figura 18: Efeito da TMP sobre o fluxo para duas vazões de alimentações (Q _a): ● 1,5 L min ⁻¹ e ○ 2,0 L min ⁻¹	54
Figura 19: Queda do fluxo de permeado (J _p) em função do tempo (t) na etapa de concentração	56
Figura 20: Fluxo de permeado (J _p) em função da concentração de proteína (C _p) durante a etapa de concentração.....	56
Figura 21: Determinação dos parâmetros da diafiltração	57

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Características físicas das principais proteínas do soro de leite bovino.....	14
Tabela 2: Técnicas de bioseparação de proteínas	17
Tabela 3: Fatores e níveis estudados.....	33
Tabela 4: Variáveis respostas.....	34
Tabela 5: Corridas experimentais com os níveis dos fatores codificados para realizar o processo de ultrafiltração utilizando o equipamento Pellicon-2 com membrana de 0,5 m ² de celulose regenerada.....	34
Tabela 6: Matriz do planejamento 2 ⁶⁻² com 3 repetições no ponto central e as variáveis respostas estudadas Jp, CRP e CRL.....	45
Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) do modelo predito para o fluxo de permeado (CV = 2,455 %; R ² = 0,97).....	46
Tabela 8: Significância dos parâmetros para o modelo do fluxo de permeado pelo Teste t.....	47
Tabela 9: Análise de variância (ANOVA) do modelo predito para o CRL (CV = 8,86 %; R ² = 56,3 %).....	50
Tabela 10: Significância dos parâmetros para o modelo do coeficiente de rejeição de lactose (CRL) pelo Teste t.....	51
Tabela 11: Melhor condição selecionada da simulação realizada no SAS/ADX [®] a partir dos modelos obtidos na análise exploratória	53
Tabela 12: Resultados de Jp, CRP e CRL em função da TMP, para as duas vazões de alimentação (Qa) mantendo $\Delta P = 69$ kPa	53
Tabela 13: Resultados de Jp- fluxo de permeado, CRP – coeficiente de retenção de proteína, CRL – coeficiente de rejeição de lactose e Cp – concentração de proteínas durante a concentração, em função do tempo.....	55

LISTA DE SÍMBOLOS

BSA	Albumina do soro bovino
Co	Concentração de proteína na alimentação
Cp	Concentração de proteína na concentração
Cp^{ótima}	Ótima Concentração de Proteína para a DF
CPS	Concentrado Proteico do Soro
CRL	Coefficiente de Rejeição de Lactose
CRP	Coefficiente de Retenção de Proteína
DF	Diafiltração
FPS	Fracionado Proteico do soro
FT	Fluxo Tangencial
GMP	Glicomacropéptido
IPS	Isolado Proteico do Soro
Jp	Fluxo de Permeado
LMH/psi	Fluxo de Permeado/Pressão Transmembrana
NWP	Normalized Water Permeability
pH	Potencial Hidrogeniônico
PI	Ponto Isoelétrico
POD	Parâmetro de Otimização da Diafiltração
PSM	Processo de Separação por Membrana
Qa	Vazão de alimentação
TMP	Pressão Transmembrana
UF	Ultrafiltração
α-La	α -lactalbumina
β-Lg	β -lactoglobulina
Lp	Permeabilidade da membrana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	SORO DE LEITE	14
2.2	PROTEÍNAS DO SORO.....	15
2.3	CONCENTRADO PROTEICO DO SORO (CPS)	16
2.4	MÉTODOS DE SEPARAÇÃO DE PROTEÍNAS	16
2.5	PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANA (PSM).....	17
2.5.1	Membranas e módulos.....	19
2.5.2	Fenômenos envolvidos no processo	19
2.6	PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO	21
2.6.1	Parâmetros do processo	23
2.7	LIMPEZA DA MEMBRANA.....	25
2.8	CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS SOBRE O PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1	EQUIPAMENTO DE ULTRAFILTRAÇÃO	31
3.2	ANÁLISES PRELIMINARES	31
3.2.1	Teste de integridade do módulo	32
3.2.2	Teste de permeabilidade de água padrão (NWP)	32
3.3	ANÁLISE EXPLORATÓRIA.....	33
3.3.1	Planejamento experimental	33
3.3.2	Preparo das amostras.....	35
3.3.3	Operação em reciclo total.....	35
3.4	ANÁLISE DE PROTEÍNAS E LACTOSE	36
3.4.1	Proteína.....	36
3.4.2	Lactose	37
3.5	OTIMIZAÇÃO EXPERIMENTAL DO PROCESSO DE UF/DF.....	37
3.5.1	Procedimento de equilíbrio do sistema de UF.....	37
3.5.2	Determinação dos parâmetros para a etapa de concentração	38
3.5.3	Etapa de concentração.....	38
3.5.4	Otimização da diafiltração.....	39
3.6	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	ANÁLISES PRELIMINARES	43
4.2	ANÁLISE EXPLORATÓRIA.....	44
4.3	OTIMIZAÇÃO EXPERIMENTAL DO PROCESSO DE UF/DF.....	53
4.3.1	Determinação da TMP e Qa para a etapa de concentração	53
4.3.2	Otimização da diafiltração.....	56
	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O soro de leite é um co-produto resultante da fabricação de queijos pela fermentação do leite por ação bacteriana ou pela ação de agentes coagulantes. As proteínas do soro possuem alto valor nutricional e tecnológico, por isso, as indústrias têm grande interesse em recuperá-las para a incorporação em produtos lácteos e não lácteos. A recuperação dessas proteínas nos últimos anos tem sido motivo de vários estudos que buscam melhorar e obter processos de separação, concentração, fracionamento e purificação cada vez mais eficiente e produtos de maior qualidade (MORR, 1985; BARBA et al., 2001; ATRA et al., 2005; YEE et al., 2007).

Os principais produtos obtidos a partir do processamento do soro de leite são: concentrados (CPS), isolados (IPS) e fracionados proteico do soro (FPS). Estes produtos, assim como o soro de leite, são comercializados em pó. O conteúdo total de proteína no soro é menor que nos concentrados e estes possuem menor quantidade de proteína do que os isolados. Os fracionados diferem dos demais produtos do soro do leite por apresentarem frações específicas de proteínas do soro (HUFFMAN; HARPER, 1999; MADUREIRA et al., 2007).

As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes naturais de proteínas, tais como ovos, peixes, carne bovina e soja. O uso de CPS, IPS e FPS como ingredientes em alimentos funcionais vem sendo praticado em larga escala em países desenvolvidos e, em crescente ascensão, em países subdesenvolvidos (SMITHERS, 2008). De acordo com Huffman (1996), os concentrados e isolados proteicos possuem, além do alto valor nutricional e biológico de suas proteínas, solubilidade numa larga escala de pH, ação gelificante, propriedades de retenção de água, ação emulsificante e capacidade de formação de espumas. Essas propriedades proporcionam ampla aplicação dos produtos do soro na indústria de alimentos, farmacêutica e de biotecnologia.

Processos de separação por membrana (PSM) podem ser aplicados com grande vantagem na concentração, fracionamento e purificação das proteínas do soro. Dentre os PSM, o mais usado na recuperação de proteínas é a ultrafiltração (UF) operada em fluxo tangencial. A UF é um processo comandado por um gradiente de pressão através de uma membrana semipermeável para separar macromoléculas ou colóides de uma solução. Para o soro de leite, além da remoção de água, a ultrafiltração é capaz de reduzir o teor de sais e lactose desde que a membrana seja escolhida adequadamente (GHOSH, 2003).

Para aumentar a pureza dos produtos na ultrafiltração é comum usar a diafiltração (DF). A DF é um modo alternativo de operar sistemas de membrana e pode ser entendida como um processo de purificação a volume constante. A operação consiste na adição contínua de solvente puro ou solução tampão no tanque de alimentação com vazão equivalente a do permeado. A diafiltração é utilizada quando se deseja purificar um determinado soluto de uma solução, onde

os contaminantes são compostos de dimensões menores do que as do soluto de interesse (YEE et al., 2007).

O principal fator que limita o processo de UF/DF é o declínio do fluxo de permeado com o tempo. Isso ocorre devido à concentração de soluto sobre a membrana (polarização da concentração) e seu entupimento (fouling). Este fenômeno é geralmente atribuído ao acúmulo de macromoléculas ou colóides na superfície da membrana, adsorção e precipitação de pequenos solutos nos poros da membrana (LEWIS, 1982; LU et al., 2007).

Os principais parâmetros que afetam o fluxo de permeado nos processos de separação por membrana, ou seja, microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa são: pressão transmembrana, concentração da alimentação, temperatura, velocidade tangencial, coeficiente de transferência de massa, pH e força iônica. Além do fluxo de permeado, estes parâmetros influenciam na retenção e rejeição de partículas pela membrana (POULIOT et al., 1999).

Para obter um melhor entendimento do processo de UF/DF do soro de leite, em membrana de massa molar limite de 5 kDa, para obtenção de CPS com elevado conteúdo proteico, este trabalho avaliou os efeitos das principais variáveis do processo de UF/DF (pressão transmembrana, vazão de alimentação, pH, temperatura, força iônica, concentração de proteínas) sobre as variáveis resposta definidas para este estudo (fluxo de permeado, retenção das proteínas e rejeição da lactose) e definir os parâmetros do processo de concentração e diafiltração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Soro de Leite

O leite bovino geralmente contém entre 30 – 40 g L⁻¹ de proteínas, das quais 78 % são de caseínas e as demais são as proteínas do soro que podem ser obtidas durante a fabricação de queijo (MAUBOIS; OLLIVIER, 1992). Quando as caseínas são coaguladas por meio ácido, na produção de queijo, o soro resultante é ácido e quando por meio enzimático o soro recebe a denominação de soro doce. O soro ácido tem pH menor que o doce e ambos são compostos por uma pequena quantidade de gordura, proteínas hidrossolúveis, lactose, minerais e vitaminas hidrossolúveis (CHEANG; ZYDNEY, 2003; LUCEMA et al., 2006). A Tabela 1 mostra as principais proteínas do soro e suas características físicas como concentrações no soro, massa molar e ponto isoelétrico.

O soro de leite bovino por apresentar uma alta demanda bioquímica de oxigênio (30.000 a 50.000 mg L⁻¹) quando destinado diretamente aos rios ou esgotos públicos promove sérios impactos ambientais. Atualmente, com a crescente demanda por alimentos de maior valor nutricional, economicamente atrativos, e pela existência de leis ambientais cada vez mais severas vem crescendo o interesse no reaproveitamento do soro de leite, mas as a alta porcentagem de água presente no soro inviabiliza economicamente sua desidratação e, além disso, o fato de ser perecível agrava o problema impossibilitando seu armazenamento prolongado (KNIPSCHILDT; ANDERSEN, 1994; HOSSEINI et al., 2003). Em função disso, muitas pesquisas estão sendo direcionadas para o aproveitamento do soro na produção de biogás, etanol e proteínas concentradas, visando expandir a utilização desse co-produto como ingrediente em uma gama ainda maior de formulações alimentícias entre outros produtos (HOSSEINI et al., 2003).

Tabela 1: Características físicas das principais proteínas do soro de leite bovino

Proteínas do soro	Concentração (g L ⁻¹)	Massa Molecular* (kDa)	Ponto isoelétrico
β - lactoglobulina	2,7	18,36	5,2
α - lactalbumina	1,2	14,15	4,5 – 4,8
Imunoglobulinas	0,65	150 – 1.000	5,5 – 8,3
BSA	0,4	69,0	4,7 – 4,9
Lactoferrina	0,1	78,0	9,0
Lactoperoxidase	0,03	89,0	9,5
Glicomacropéptídeo	1,2 – 1,5	7,0	< 3,8

* característica importante para determinar a massa molar de corte da membrana
Adaptado de ZYDNEY (1998).

2.2 Proteínas do Soro

O valor nutricional das proteínas do soro de leite quando comparado com outras proteínas alimentícias (ovo, queijo, carne, soja e peixes) apresenta-se superior, por possuir elevado valor biológico, aminoácidos essenciais em maior concentração e aminoácidos sulfurados como metionina e cisteína (SMITHERS, 2008).

As proteínas do soro são compostas principalmente por duas frações, a α -lactoalbumina e a β -lactoglobulina, que são responsáveis por 70 a 80 % da composição das proteínas presentes no soro de leite. Por outro lado, o soro doce tem em sua composição o glicomacropéptido (GMP), característica esta que o diferencia do soro ácido. O GMP é um péptido terminal de 64 aminoácidos. É inexistente no soro ácido e representa entre 15 a 25 % das proteínas do soro doce. Por não conter fenilalanina é uma fonte desejável de nitrogênio nas dietas especiais formuladas para pacientes com fenilcetonúria (LUCEMA, 2006).

As proteínas do soro são amplamente utilizadas na indústria de alimentos por apresentarem ótimas propriedades funcionais, nutracêuticas e tecnológicas. Quando não desnaturadas, as proteínas do soro de queijo são capazes de nutrir e proteger o organismo de enfermidades; são boas formadoras de espumas, emulsões e géis. O fator primordial para que estas proteínas exibam características gelatinizantes, espumantes e emulsificantes é que tais proteínas sejam solúveis, sendo assim, a solubilidade é considerada a propriedade primária na determinação das demais propriedades. Em outras palavras, uma diminuição na solubilidade proteica afeta de maneira desfavorável a sua funcionalidade (KULMYRZAEV; SCHUBERT, 2004).

A desnaturação é o ponto limite provocado pelas alterações da conformação molecular original das proteínas, ou seja, alterações envolvendo qualquer estrutura das proteínas (primária, secundária, terciária e quaternária) acarretando a perda de sua atividade biológica e funcionalidade. A proteína desnaturada é geralmente menos solúvel ou até mesmo insolúvel, aumenta a viscosidade do alimento e a reatividade de grupos laterais. Diversos tratamentos são utilizados no processamento de alimentos e vários podem provocar a desnaturação da proteína. Estes incluem temperatura, pH, força iônica entre outros. Geralmente, o efeito desnaturante final é provocado pela combinação de vários fatores, os quais modificam a conformação original da proteína. As alterações na estrutura da proteína, quando bem controladas, não provocam a desnaturação, ou seja, não afetam as propriedades funcionais e tecnológicas das proteínas (ARAÚJO, 2004).

2.3 Concentrado Proteico do Soro (CPS)

De acordo com Morr (1985), os concentrados proteicos de soro (CPS) podem ser obtidos pelo processo de ultrafiltração ou por outros processos, de preferência aqueles que apresentam condições adequadas para minimizar a desnaturação proteica.

Na ultrafiltração, o soro pode ser separado em duas frações. O retentado, para produção de CPS em concentrações diferentes de 35, 60 ou 80 %, ou mesmo, isolado proteico de soro (IPS) com conteúdo de proteína superior a 90 % em base sólida e um permeado. Este permeado pode ser evaporado posteriormente para produzir lactose em graus diferentes, e também durante o processo, é possível retirar o fosfato de cálcio. Para aumentar a pureza do retentado a UF pode ser operada em DF, onde água ou solução tampão é adicionada ao retentado. Com a DF aumenta a permeação de espécies não proteicas pela membrana e, conseqüentemente, aumenta a concentração de proteínas no retentado. Com isso é possível produzir CPS com altas concentrações de proteína (> 40 % em base seca). Após a etapa de concentração o retentado é alimentado em secadores obtendo-se o CPS em pó (YEE et al., 2007).

2.4 Métodos de Separação de Proteínas

As técnicas de separação de proteínas podem ser classificadas em três categorias: alta produtividade e baixa resolução; alta resolução e baixa produtividade; alta resolução e alta produtividade. As técnicas de baixa resolução e alta produtividade são usadas na concentração das proteínas. Em seguida, para o fracionamento das proteínas são utilizadas as técnicas de alta resolução e baixa produtividade ou alta resolução e alta produtividade (GHOSH, 2003). Os processos de bioseparação comumente usados na concentração, purificação e fracionamento de proteínas estão apresentados na Tabela 2. A ultrafiltração é listada em duas categorias, sendo que a resolução do processo depende do produto que será obtido (CPS, IPS ou FPS) e da forma que o processo será operado.

Tabela 2: Técnicas de bioseparação de proteínas

Categorias	Processos
Alta produtividade e baixa resolução	Precipitação; Centrifugação; Extração líquido-líquido; Microfiltração; Ultrafiltração; Extração supercrítica.
Alta resolução e baixa produtividade	Cromatografia em leito empacotado; Ultracentrifugação; Separação por afinidade; Eletroforese; Cromatografia com fluido supercrítico.
Alta resolução e alta produtividade	Cromatografia em leito fluidizado; Cromatografia em membrana; Ultrafiltração; Cromatografia de coluna com monólitos.

Adaptada de GHOSH (2003)

2.5 Processos de Separação por Membrana (PSM)

A partir do final da década de 1960, além dos processos clássicos de separação, como destilação, filtração, adsorção, troca-iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização e outros, surgiu uma nova classe de processos que usa membranas como barreira seletiva. De maneira geral, uma membrana pode ser definida como uma barreira que separa duas fases e restringe, total ou parcialmente, o transporte de uma ou de várias espécies presentes nas fases. Uma das principais características dos PSM é que eles podem ser operados em escoamento tangencial (cross flow filtration), além da operação convencional (dead end filtration), ou seja, com escoamento perpendicular à membrana. Na filtração convencional, uma solução ou suspensão é pressionada contra a membrana, fazendo com que os solutos se depositem sobre a sua superfície. Trata-se de um modo de operação fundamentalmente transiente, uma vez que a polarização de concentração aumenta sempre (PAULSON et al., 1984; GHOSH, 2003).

Na filtração tangencial, a solução escoar em paralelo à superfície da membrana. A polarização de concentração continua presente, mas é possível minimizá-la, por exemplo, aumentando a velocidade de escoamento da corrente de alimentação. Neste caso é possível operar o sistema nas condições de regime estabelecido de transferência de massa (PAULSON et al., 1984; GHOSH, 2003). Dois modos de operação são apresentados na Figura 1.

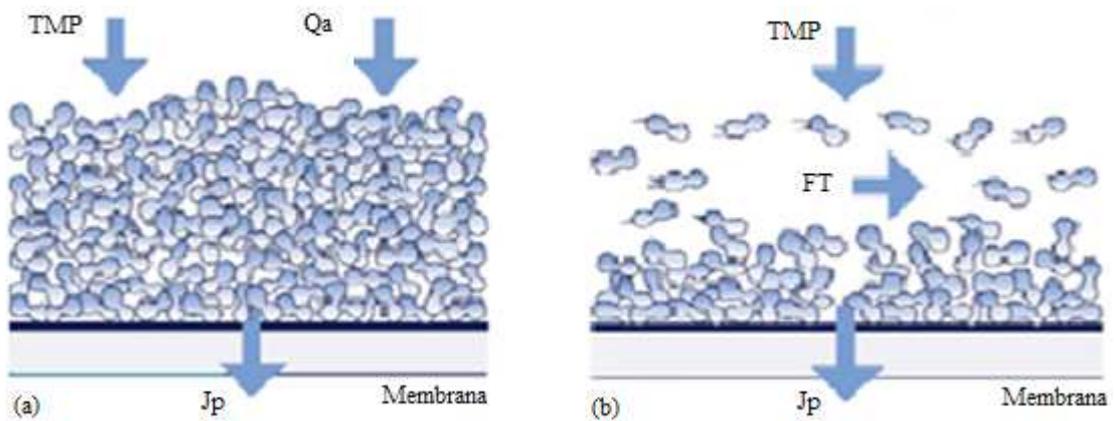


Figura 1: (a) Filtração convencional; (b) filtração tangencial. TMP – pressão transmembrana; Q_a – vazão de alimentação; FT – fluxo tangencial; J_p – fluxo de permeado. (Adaptado de MILLIPORE[®])

Outra análise da eficiência da filtração tangencial frente à convencional está apresentada na Figura 2, onde 1 é o fluxo com solvente puro, 2 representa o fluxo da solução com polarização de concentração e 3 o fluxo da solução com polarização e “fouling”, ou seja, a filtração tangencial diminui o efeito da polarização e do “fouling”.

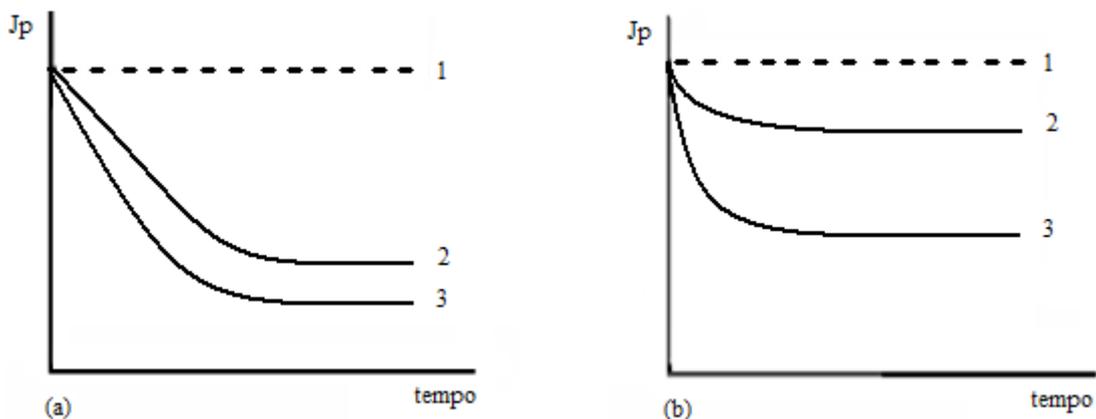


Figura 2: (a) Filtração convencional; (b) filtração tangencial. Efeito da polarização de concentração e “fouling” no fluxo de permeado (Adaptado de NÓBREGA, 2005.) J_p – fluxo de permeado; 1 – solvente puro; 2 - solução + polarização; 3 - solução + polarização + fouling.

Geralmente, a separação de partículas maiores que $10\ \mu\text{m}$ são realizadas por filtração convencional, enquanto partículas menores são separadas por filtração tangencial. Os processos de osmose reversa retêm todos os componentes, exceto o solvente (água), enquanto a ultrafiltração retém macromoléculas ou partículas maiores, entre $0,002$ a $0,2\ \mu\text{m}$, com uma massa molecular de $0,5$ a $300\ \text{kDa}$ (ORTERGAARD, 1989).

As membranas de MF e UF são geralmente porosas e seu princípio de separação é a exclusão por tamanho, retendo as partículas com tamanhos maiores do que os tamanhos médios de poros (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001).

As membranas de microfiltração são, comercialmente, caracterizadas pelo tamanho médio de seus poros. Por outro lado, os fabricantes utilizam a chamada “massa molar limite” (cut off) para caracterizar uma membrana de ultrafiltração. O “limite de retenção” de uma membrana de ultrafiltração é definido como o valor da massa molar de uma macromolécula rejeitada em 95% pela membrana (MULDER, 2000; SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001).

2.5.1 Membranas e módulos

Uma definição geral de membrana poderia ser: uma barreira que separa duas fases e que restringe, total ou parcialmente, o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nas fases. Deve-se notar que esta é uma definição macroscópica, enquanto que a separação deve ser considerada em nível microscópico (MULDER, 1991).

Entre os polímeros mais utilizados para a preparação de membranas de microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF) estão: poliamida, polissulfona, polietersulfona, polieterimida, acetato de celulose e, mais recentemente polifluoreto de vinilideno. Para a seleção do polímero mais adequado, faz-se necessário o conhecimento de suas propriedades, de sua estrutura e massa molar, da solubilidade para um determinado solvente ou uma mistura de solventes. Além disso, são necessárias informações sobre sua estabilidade química e suas propriedades térmicas (PETRUS, 1997).

Em razão das aplicações a que se destinam, as membranas apresentam diferentes estruturas. De modo geral, as membranas podem ser classificadas em duas grandes categorias: densas e porosas. Tanto as membranas densas quanto as porosas podem ser isotrópicas ou anisotrópicas, ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura. (HABERT et al., 2006).

As membranas podem ser preparadas tanto na geometria plana quanto na cilíndrica. A partir dessas duas geometrias, diferentes tipos de módulos podem ser construídos. Membranas na geometria plana são usadas tanto em módulos de tipo placa e quadro quanto em módulos do tipo espiral. Os módulos preparados a partir de membranas com geometria cilíndrica podem ser classificados em categorias segundo o seu diâmetro externo (NÓBREGA et al., 2005).

2.5.2 Fenômenos envolvidos no processo

Nos processos de separação por membranas, comandados por um gradiente de pressão, observa-se um declínio progressivo no fluxo de permeado com o tempo, a pressão constante. O declínio é atribuído a três fenômenos distintos e interligados que limitam o fluxo de permeado: polarização da concentração, formação de uma camada de “fouling” e a consolidação dessa

camada (MARSHALL; DAUFIN, 1995; NÓBREGA et al., 2005). A Figura 3 apresenta o declínio do fluxo de permeado com o tempo e os fenômenos envolvidos no processo de UF.

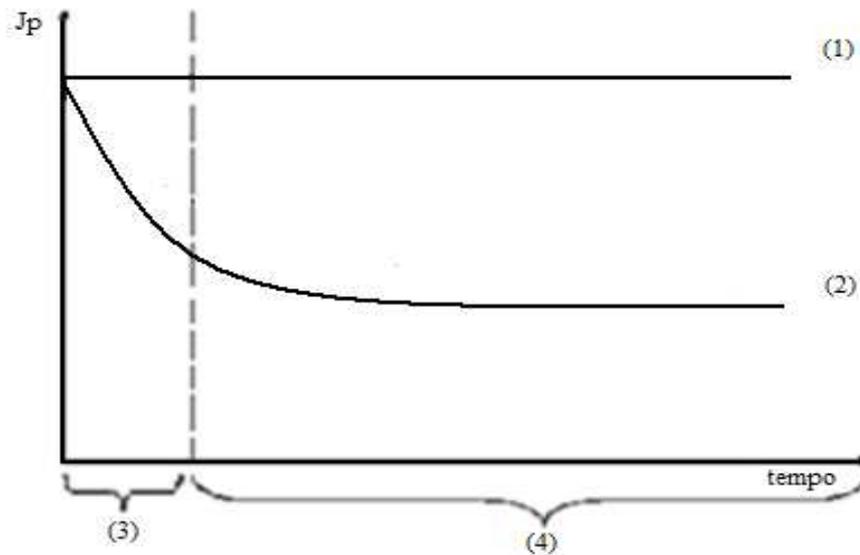


Figura 3: (1) Solvente puro; (2) Solução; (3) Polarização; (4) “fouling”. Fluxo de permeado em função do tempo, polarização de concentração e “fouling” em processos de separação por membrana. (MARSHALL & DAUFIN, 1995)

Segundo Marshall e Daufin (1995), no início do processo, a queda brusca do fluxo deve-se, basicamente, à polarização da concentração (Figura 3), isto é, ao desenvolvimento do gradiente de concentração dos solutos na interface membrana/solução. Esse fenômeno é função das condições hidrodinâmicas de escoamento do fluido de alimentação, e normalmente independe das propriedades físicas da membrana. A formação da zona de polarização não pode ser evitada, mas seu efeito na redução do fluxo pode ser minimizado pelo aumento da velocidade de escoamento.

Após a queda brusca no início do processo, o declínio do fluxo continua, devido ao efeito conhecido como “fouling”. Marshall e Daufin (1995) descreveram o “fouling” como o acúmulo de matérias depositadas na membrana durante a fase de polarização da concentração, a qual, inicialmente, causa um aumento na concentração dos solutos na superfície da membrana. A queda do fluxo devido ao “fouling” é geralmente inevitável, sendo necessário interromper o processo para proceder uma limpeza com agentes químicos.

No final do processo, o fluxo declina lentamente, devido à deposição e acúmulo de partículas na superfície da membrana e a precipitação de solutos muito pequenos (normalmente solúveis) sobre a superfície e interior dos poros, causando incrustações na membrana e a conseqüente consolidação do “fouling”. De acordo a Cheryan (1998), o tipo e a extensão da incrustação dependem da natureza química da membrana, dos solutos e das interações soluto-membrana.

Em se tratando de produtos lácteos, o “fouling” é um fenômeno muito complexo, em virtude da contribuição de diferentes componentes do leite. O consenso geral é que as propriedades da camada de “fouling” determinam o comportamento da membrana. De acordo com Marshall e Daufin (1995), além da precipitação dos sais de cálcio no interior dos poros da membrana, o cálcio também influencia o “fouling” das proteínas, tanto por interações proteína-proteína, como através de interações proteína-membrana. No processamento de leite ou soro, o “fouling” é constituído por fios de caseína, complexo lipoproteico, precipitado mineral e proteínas de soro desnaturadas. Quase todos os constituintes do soro podem ser responsáveis, em alguma extensão, pelo “fouling” da membrana durante a ultrafiltração (UF).

Em níveis industriais, o “fouling” diminui a produtividade do processo e, conseqüentemente, os custos operacionais em função da formação de depósitos de difícil remoção, de danos permanentes causados à membrana e da necessidade de limpezas freqüentes. Assim sendo, quaisquer iniciativas visando minimizar o “fouling” são interessantes, não só do ponto de vista prático e imediato (aumento do fluxo de permeado), mas também ao longo prazo (aumento de vida útil da membrana). As alternativas para a redução do “fouling” são variadas, incluindo alteração no design das membranas, empregos de pré-tratamentos e ajustes das condições de operação. O “fouling” é função também das variáveis operacionais utilizadas no processo, como pressão e velocidade tangencial. Assim sendo, este fenômeno pode ser controlado através do ajuste dos parâmetros operacionais citados (VAN BOXTEL; DAUFIN, 1995).

2.6 Processo de Ultrafiltração

A ultrafiltração é uma operação unitária, na qual água e alguns solutos em uma solução são removidos seletivamente por uma membrana semipermeável. As membranas de UF em comparação com as membranas de osmose inversa (OI) e nanofiltração (NF) apresentam uma porosidade maior e retêm somente macromoléculas como proteínas ou colóides, que têm pressão osmótica mais baixa. Solutos menores são transportados através da membrana com a água. Portanto, a ultrafiltração opera em pressões mais baixas (FELLOWS, 2006).

A aplicação comercial mais comum da UF está na indústria de laticínios para a concentração do leite antes da fabricação de derivados lácteos, para a concentração de soro até 20 % de sólidos ou para a remoção seletiva da lactose e sais. Na fabricação de queijo, a UF apresenta vantagens como aumento do rendimento e do valor nutritivo dos queijos, possibilita a padronização do teor de sólidos, reduz o consumo de renina tornando o processamento mais fácil. Outras aplicações incluem: concentração de extrato de tomate e de sacarose; tratamento de efluentes nas destilarias e cervejarias; separação e concentração de enzimas, outras proteínas ou

pectina; remoção de precipitados proteicos de mel e xaropes; tratamento de água de processamento para remoção de bactérias e contaminantes e pré-tratamento de membranas de OI para evitar a saturação oriunda de materiais orgânicos e colóides em suspensão (FELLOWS, 2006).

A literatura ainda é escassa em trabalhos sobre o processo de UF do soro de leite. Entre os trabalhos existentes Atra et al. (2005) estudaram a rejeição de proteína e o fluxo do permeado operando com pressões entre 1- 5 Bar e vazão de alimentação de 100 a 400 L h⁻¹. Esse estudo forneceu condições ótimas para o processo de UF, resultando na produção de um retentado com somente 8 - 10 % de proteína. Para a produção de um CPS comercial, com composição de 80 % em base seca, é preciso obter 20 % de proteína no retentado na UF.

Para aumentar a pureza dos produtos na ultrafiltração é comum usar a diafiltração. A diafiltração (DF) é um modo alternativo de operar sistemas de MF, UF e NF e OI. Pode ser entendida como um processo de purificação a volume constante (Figura 4).

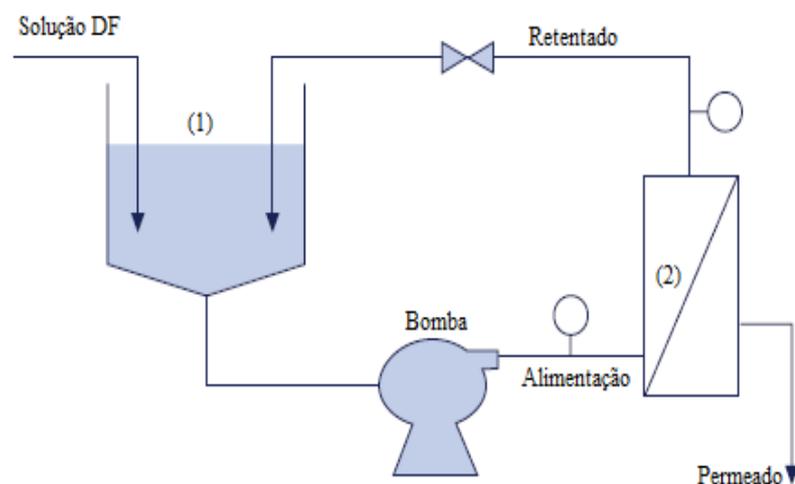


Figura 4: Representação esquemática do processo de diafiltração. (1) tanque de alimentação; (2) membrana. (Adaptada de MILLIPORE®)

A operação consiste em se adicionar, continuamente, na solução a ser processada, solvente puro ou solução tampão (solução DF), em vazão equivalente à vazão de permeado que sai do sistema (Figura 4). A diafiltração é utilizada quando se deseja purificar um determinado soluto de uma solução, onde os contaminantes são compostos de dimensões menores do que as do soluto de interesse (YEE et al., 2007).

A ultrafiltração com diafiltração pode ser operada em batelada ou em modo contínuo, sendo mais relevante para laticínios operar com maior número de estágios. Barba et al. (2001) estudaram a UF/DF em escala piloto, operando em batelada, com pressão transmembrana de 119 kPa e 25 °C de temperatura. Esses autores obtiveram na diafiltração com adição de água em dois estágios um CPS de concentração de 83 % após doze horas de operação. Guadix et al.

(2004) otimizaram o processo de UF para soro de leite operando com fluxo de alimentação de $100 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Concluíram que é preciso seis estágios para minimizar o tempo de processo e o custo de produção de CPS.

Cheang e Zydney (2004) utilizaram o processo de ultrafiltração para separar as proteínas α -lactalbumina e β -lactoglobulina e conseguiram seletividade de 55 % em pH 5,5 e 50 mM de força iônica utilizando membrana de celulose de 30 kDa. Os autores utilizaram 16 diavolumes para aumentar a eficiência do processo. Eles conseguiram obter na DF um fator de purificação de 100 e recuperação de 90 % da β -lactoglobulina no retentado. No permeado a α -lactalbumina apresentou fator de purificação acima de 10 e recuperação de aproximadamente 99 %.

2.6.1 Parâmetros do processo

Os principais parâmetros que afetam o fluxo de permeado na microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa são: força iônica, pH, coeficiente de transferência de massa (K), pressão transmembrana, velocidade tangencial, concentração da alimentação e temperatura. Além do fluxo de permeado estes parâmetros influenciam na retenção e rejeição de partículas pela membrana.

McDnogh et al. (1989) mostraram que o fluxo limite na ultrafiltração de BSA aumenta com a diminuição da força iônica, e Rabiller-Baudry et al. (2005) concluíram que na ultrafiltração de leite desnatado, com força iônica de 0,1 M, o fluxo limite aumenta com o aumento do pH. Garem et al., (1998) observaram ao adicionar 0,05 M de NaCl em solução de 0,1 % de hidrolisado de caseína promoveu-se uma diminuição no fluxo, mas a permeação de caseína pela membrana é dobrada. Os autores associaram a queda do fluxo às forças repulsivas ou atrativas entre os peptídeos e a membrana com a adição do sal.

Pouliot et al., (1999) estudando a UF e NF, observaram que com o aumento do pH de 5,0 para 9,0 houve um aumento no fluxo e na permeação de proteínas, observaram também uma diminuição na formação do “fouling” com o aumento do pH. Os pesquisadores ainda observaram que a 0,5 M de NaCl o fluxo aumenta, mas o “fouling” também aumenta.

A variação do fluxo de permeado com o pH no processo de UF para a concentração das proteínas do soro de queijo está apresentada na Figura 5.

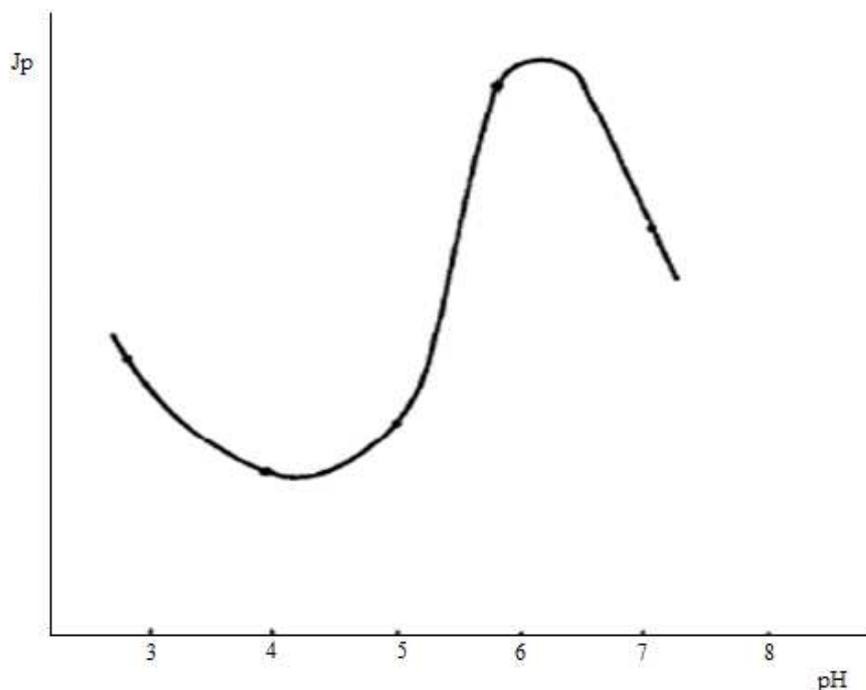


Figura 5: Efeito do pH no fluxo de permeado no processo de UF do soro de leite. (Adaptada de PORTER, 1990)

O pH influencia na solubilidade das proteínas e, conseqüentemente, promove o aumento da concentração gel (camada gel). O efeito do pH sobre a solubilidade possibilita obter concentrados com maior concentração e fluxo de permeado maior, ou seja, considerando que o ponto isoelétrico (PI) da maioria das proteínas do soro de leite está entre 4 e 5, nesta faixa de pH o fluxo é reduzido devido a baixa solubilidade da camada gel formada. Em condições mais afastadas do PI das proteínas do soro de leite é esperado mudanças no coeficiente de transferência de massa (K), promovendo aumento do fluxo nas condições de maiores solubilidades (PORTER, 1990).

Em baixos valores de TMP, baixas concentrações e altas velocidades do fluido, isto é, sob condições onde os efeitos da concentração de polarização são mínimos, o aumento da pressão provoca um aumento proporcional do fluxo. Nas condições de concentração o fluxo independe da pressão, sendo controlado apenas pela eficiência em minimizar a espessura da camada limite e pela velocidade de arraste das moléculas polarizadas (CHERYAN, 1998).

O aumento da velocidade tangencial aumenta a velocidade de arraste das moléculas e, conseqüentemente, a taxa de permeação, pois provoca maior turbulência do fluido próximo à superfície da membrana, arrastando os sólidos acumulados e, dessa forma, reduzindo a espessura da camada limite e os efeitos da polarização (LEWIS, 1996).

Segundo Cheryan (1986), o aumento da concentração de sólidos na solução de alimentação causa aumento na sua viscosidade e densidade, o que resulta na diminuição da difusividade do soluto. Assim, a medida que o fator de concentração aumenta, o fluxo tende a

diminuir. A relação entre o fluxo de permeado e o logaritmo do fator de concentração é geralmente linear, e teoricamente, o fluxo será zero quando a concentração da alimentação for igual a concentração da camada gel formada durante o processo.

Em geral, temperaturas mais altas aumentam o fluxo de permeado, devido à redução da viscosidade do fluido, ao aumento da velocidade de difusão e à modificação das interações membrana-solução. O desejável é trabalhar com a maior temperatura possível respeitando os limites estabelecidos da membrana e do produto. Para produtos lácteos e derivados, temperaturas menores que 45 °C não são recomendáveis devido ao risco de crescimento microbiano, enquanto temperaturas maiores que 60 °C causam desnaturação proteica. Assim, a temperatura entre 50 – 55 °C tem sido mais usada, pois possibilita um maior fluxo e preservação do produto (MATA et al., 1998; LU et al., 2007).

2.7 Limpeza da Membrana

A vida útil das membranas pode ser afetada pelo tipo de agente de limpeza e procedimentos empregados. Esses, por sua vez, dependem da natureza do resíduo presente na membrana após o processamento. No caso de soro de queijo, os resíduos são constituídos principalmente por proteínas e sais de cálcio. Os fatores físico-químicos como pH, força iônica e temperatura, e condições operacionais como pressão, temperatura e fator de concentração, utilizadas na UF, influenciam na intensidade do “fouling” e, conseqüentemente, na necessidade da limpeza. Quanto maior a intensidade e a frequência da limpeza os custos serão maiores e mais curta a vida útil da membrana (BIRD; BARTLETT, 2002).

A regra básica na limpeza e manutenção das membranas é nunca deixar a membrana secar após o processo de ultrafiltração. O fim do processamento deve ser imediatamente seguido pelo enxágüe com 82 L de água por m² de membrana. Em termos práticos, uma membrana é considerada limpa quando o fluxo original com água é recuperado. Quando o valor do fluxo de permeado, após sucessivos ciclos de limpeza, cair abaixo de um valor crítico pré-determinado, deve-se proceder à substituição das membranas (MILLIPORE®).

Ácidos, como o nítrico e fosfórico, tem sido utilizados com o propósito de dissolver compostos minerais que precipitam dentro dos poros da membrana, como os sais de cálcio do soro de queijo. Resíduos orgânicos, como proteínas e gorduras, são removidos por detergentes alcalinos à base de hidróxido de sódio. Quando o fouling da membrana é mais severo, o uso de detergentes enzimáticos com proteases e lipases é necessário para suplementar ou substituir a limpeza com detergente alcalino (MILLIPORE®).

2.8 Considerações Teóricas sobre o Processo de Ultrafiltração

No desenvolvimento de processos de separação por membrana em grande escala não é importante apenas escolher um bom sistema de separação, mas também reduzir o custo operacional e conhecer o processo como um todo. Assim, a modelagem surge como uma etapa importante, pois possibilita otimizar, controlar e ampliar a escala do processo com maior facilidade (LUYBEN, 1989; SUBRAMANIAN, 1998).

Modelos clássicos e modelos mais atuais são capazes de explicar os fenômenos envolvidos no processo de separação por membrana. Entre os modelos encontrados na literatura pode-se empregar no processo de concentração das proteínas do soro o modelo do fluxo em membrana porosa (CHERYAN, 1998), modelo do filme ou de polarização-gel (CHOSH, 2003), modelo da resistência em série (CHOI et al., 2000), modelo da pressão osmótica (BACCHIN et al., 2002), modelos de bloqueios e modelo da torta (HERMIA, 1982), modelo FSB (WANG; RODGERS, 2008) e modelo em duas dimensões (PARIS et al., 2002). Os modelos mais usados na ultrafiltração e que podem auxiliar no entendimento dos fenômenos envolvidos no processo de concentração das proteínas do soro de leite são os apresentados a seguir:

a) Modelo do fluxo em membrana porosa

De modo geral, para os processos que usam o gradiente de pressão como força motriz, o fluxo de permeado (massa ou volume de permeado por unidade de área de membrana por unidade de tempo) é diretamente proporcional ao gradiente de pressão (ΔP) existente entre os dois lados da membrana, ou seja: ($J \propto \Delta P$). Considerando o transporte de massa em uma única direção (direção z, transversal a membrana) tem-se ($J \propto dp/dz$) ou em termos de diferença ($J \propto \Delta P/\Delta z$) em que ΔP é a diferença de pressão entre os dois lados da membrana, ou seja, a diferença entre a pressão no lado da alimentação e a pressão no lado do permeado, e Δz é a espessura da membrana.

No caso de filtração tangencial ΔP é a pressão transmembrana ($\Delta P = \text{TMP}$), ou seja, a diferença de pressão através da membrana que é determinada usando-se:

$$\text{TMP} = \frac{P_e + P_s}{2} - P_p \quad (1)$$

onde P_e é a pressão de entrada (kPa), P_s , a pressão de saída no canal de alimentação (kPa) e P_p , a pressão na saída do permeado (kPa).

Para membranas porosas, o fluxo de permeado depende das características do meio em questão. Considerando uma matriz contendo poros cilíndricos passantes, o fluxo de solvente

pode ser calculado com o auxílio da equação de Hagen-Poiseuille (escoamento em tubos) usando-se:

$$J_p = \frac{\varepsilon \cdot r^2}{8 \cdot \eta \cdot \tau \cdot \Delta z} \Delta P \quad (2)$$

onde ε representa a porosidade superficial da membrana; r , o raio médio dos poros da membrana; η , a viscosidade do solvente ou da solução que permeia através dos poros da membrana; τ , a tortuosidade dos poros e Δz , a espessura da membrana. A constante de proporcionalidade, L_p (Equação 3), é definida como a permeabilidade da membrana ao solvente ou à solução e incorpora as características tanto da membrana (porosidade, raio de poro, tortuosidade e espessura) quanto do fluido que permeia a membrana (viscosidade).

$$L_p = \frac{\varepsilon \cdot r^2}{8 \cdot \eta \cdot \tau \cdot \Delta z} \quad (3)$$

A permeabilidade da membrana pode ser entendida como uma medida da facilidade que esta oferece à passagem de um dado solvente. O inverso da permeabilidade é uma medida da resistência que o meio oferece ao transporte. Assim, no caso do solvente puro a Equação 2 pode ser expressa por:

$$J = \frac{1}{R_m} \Delta P \quad (4)$$

De acordo com o modelo pode-se verificar que a viscosidade é inversamente proporcional e pode ser controlada por dois fatores: a concentração de sólidos (composição da alimentação) e a temperatura. Assim, um aumento de temperatura ou de pressão deverá aumentar o fluxo. No entanto, isto só é verdade sob certas condições como: baixa pressão, baixa concentração na alimentação e elevada velocidade de alimentação. Quando o processo se desvia de alguma destas condições, o fluxo torna-se independente da pressão. Sob esta condição, o modelo não é adequado para a descrição do processo na membrana e deverão ser usados modelos de transferência de massa (CHERYAN, 1998).

b) Modelo do filme

Segundo este modelo, quando a força motriz atua na solução de alimentação, o soluto é parcialmente retido pela membrana, enquanto que o solvente é permeado. Assim, desenvolve-se

um gradiente de concentração de soluto desde a superfície da membrana até o canal da alimentação, fenômeno a que se dá a designação de polarização de concentração.

A teoria do filme considera que as condições no canal da alimentação são tais que a uma distância δ da superfície da membrana (Figura 6) ainda ocorre mistura completa (C_b). No entanto, próximo da superfície da membrana é formada uma camada adjacente onde a concentração aumenta e atinge um valor máximo na superfície da membrana (C_m).

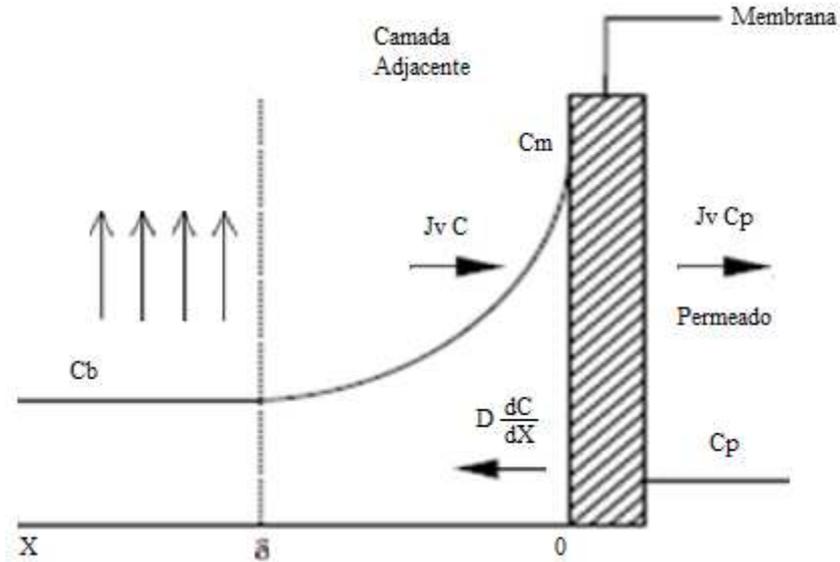


Figura 6: Fenômeno da polarização de concentração. C_b – concentração da espécie no seio da solução (corrente de alimentação); C_m – concentração da espécie na interface solução/membrana; C_p – concentração da espécie no permeado; $D \cdot dC/dX$ – o fluxo de retrodifusão da espécie e D – coeficiente de difusão da espécie no meio. (NÓBREGA, 2005)

O fluxo de permeado é, portanto, determinado usando-se:

$$J = \frac{D_s}{\delta} \cdot \ln \left(\frac{C_m - C_p}{C_b - C_p} \right) \quad (5)$$

onde D_s é a difusividade do soluto no fluxo de retrodifusão e δ , o comprimento do filme estagnado. O coeficiente de transferência de massa (K) é determinado usando-se:

$$K = \frac{D_s}{\delta} \quad (6)$$

Quando o soluto é totalmente retido ou rejeitado pela membrana a Equação 5 da polarização se reduz a:

$$J = K \cdot \ln \left(\frac{C_m}{C_b} \right) \quad (7)$$

Neste modelo não existe o termo pressão. Assume-se que não existe o efeito da pressão ou está implícito, pois o seu efeito está relacionado com o fluxo e, assim, este modelo será válido apenas na região independente da pressão. O comportamento do fluxo em função do ΔP , a região dependente e a região independente da pressão estão apresentados na Figura 7. Durante o processo ao atingir a região independente da pressão, o fluxo é denominado de fluxo limite. O aumento do fluxo nesta região só é possível com a variação de outros parâmetros, por exemplo, menores concentrações, maiores temperaturas e maiores velocidades tangenciais.

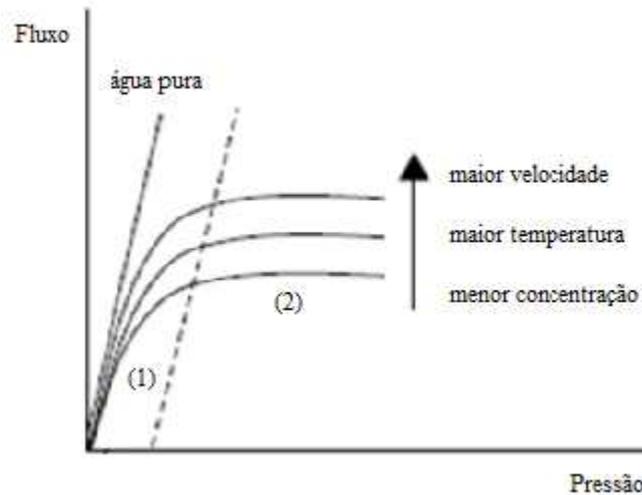


Figura 7: (1) Região dependente da pressão; (2) região independente da pressão. Efeito da pressão transmembrana no fluxo de permeado. (Adaptada de CHERYAN,1998)

Em outras palavras, quando não há variação do fluxo com ΔP , ou seja, em condições dentro da região independente da pressão, o fluxo será controlado pelo transporte difusivo de retorno (retrodifusão) do soluto da superfície da membrana para o canal da alimentação (CHOSH, 2003).

c) Modelo da pressão osmótica e das resistências em série

O desenvolvimento do perfil de concentração na fase adjacente à membrana origina uma redução no fluxo de permeação. A redução do fluxo pode ser descrita por um dos dois mecanismos: o aumento da pressão osmótica ($\Delta\pi$) pelo aumento da concentração do soluto na superfície da membrana ou o aumento da resistência hidrodinâmica da camada limite (R_{cp}).

O modelo osmótico é um modelo alternativo para o cálculo do fluxo. Na prática, o modelo osmótico pressupõe que $\Delta\pi$ (diferença entre a pressão osmótica no lado da alimentação e da pressão osmótica no lado do permeado) subtrai parte da diferença de pressão aplicada ΔP

(pressão transmembrana). A Equação 8 considera o efeito de $\Delta\pi$ na diminuição do fluxo de permeado.

Outro modelo para prever o fluxo de permeado é o da resistência em série, baseado no fluxo de solvente por várias camadas de resistência ao transporte. A membrana é uma barreira seletiva onde a sua resistência R_m depende da estrutura química e mecânica, como também da densidade da membrana. A separação de um soluto pela membrana aumenta a camada limite na superfície da membrana e, conseqüentemente, uma resistência adicional devido a polarização de concentração R_{cp} . A polarização de concentração ocorre normalmente quando são utilizados hidrocoloides, macro-moléculas (como proteínas) e outros solutos de estrutura molecular grande. Estes componentes, sendo largamente rejeitados pela membrana, tendem a formar uma camada na superfície da membrana que, dependendo do tipo de sólidos, pode ser viscosa ou gelatinosa. Assim, passa a existir uma terceira resistência ao fluxo de permeado, resistência da camada gel (R_g), além da resistência da membrana (R_m) e da camada limite (R_{cp}):

$$J = \frac{\Delta P - \Delta\pi}{R_m + R_{cp} + R_g} \quad (8)$$

Quando a camada gel é formada, a equação de polarização da concentração (Equação 5) pode ser modificada para obter a equação de polarização da camada gel:

$$J = K \ln \frac{C_g}{C_b} \quad (9)$$

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biosseparação do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, MG no período de junho/2008 a março/2009.

3.1 Equipamento de Ultrafiltração

O sistema de ultrafiltração utilizado foi o sistema em fluxo tangencial Pellicon-2 (Millipore Corp., USA). Este sistema é formado por um módulo do tipo placa e com membrana “C screen” de celulose regenerada (PLCC) de 5 kDa e área de 0,5 m² ; uma bomba peristáltica sanitária (MILLIPORE[®]) de tubos flexíveis Easy-Loard (MASTERFLEX[®]) de silicone com 6,4 mm (1/4”) de diâmetro interno, dois manômetros Bourdon um no canal da alimentação e outro no canal do retentado (Figura 8). O conjunto (XX42B PK2 60) bomba, tubos e conexões foi montado para operar em vazões de até 4 L min⁻¹ e pressão de até 276 kPa.

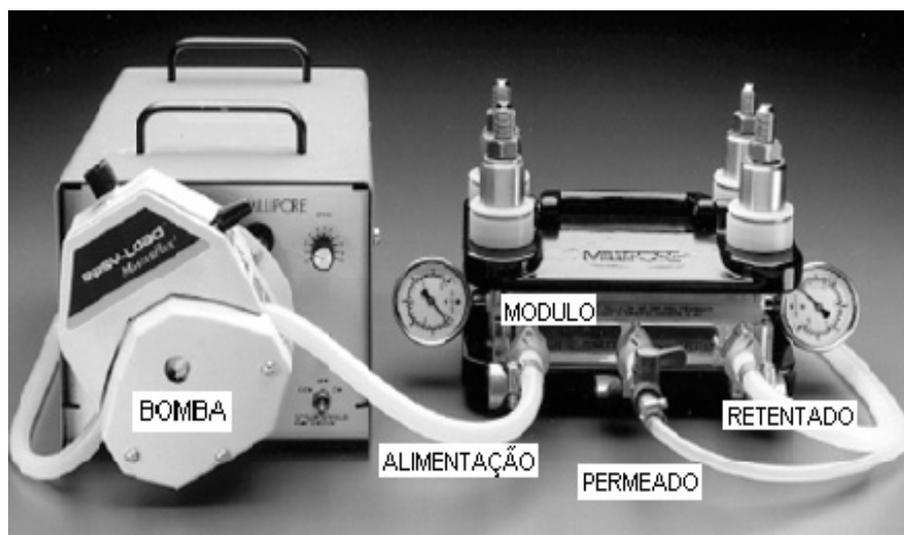


Figura 8: Sistema de ultrafiltração utilizado, PELLICON -2. (Adaptado de MILLIPORE[®])

3.2 Análises Preliminares

As análises preliminares foram realizadas para determinar a integridade do módulo e a permeabilidade de água padrão (NWP). Estas análises foram realizadas de acordo com o manual de manutenção (n° P17512) para o uso do módulo (MILLIPORE[®]).

3.2.1 Teste de integridade do módulo

Ao instalar o módulo realizava-se o procedimento para a determinação da integridade. O primeiro teste foi utilizado como referência para monitorar o andamento do módulo.

Para que o teste de integridade não fosse alterado pela presença de resíduos dos agentes de limpeza, realizou-se o enxágue final com água destilada recomendado pelo fabricante. Em seguida passou-se água destilada pelo sistema a 207 kPa de pressão transmembrana por 5 min para garantir que a membrana ficasse completamente molhada. Após este tempo, a água do sistema foi escoada e passou-se ar pela membrana entrando pela alimentação, mantendo-se fechada a válvula de retentado e aberta a linha de permeado. Aumentou-se lentamente a pressão do ar até o valor recomendado. Manteve-se nessa condição de pressão durante 5 minutos para eliminar a água residual. As condições recomendadas pela MILLIPORE foram seguidas para não remover a água contida nos poros, pois com a remoção da água seria necessário voltar o procedimento.

Em seguida, os valores da pressão de ar, temperatura e do fluxo de ar saindo da linha de permeado foram coletados. Mediu-se o fluxo de ar utilizando uma proveta invertida submersa num béquer com água e um cronômetro. Comparou-se este fluxo com o valor especificado no manual de manutenção do sistema. Quando o valor de fluxo excede o especificado, a membrana pode ter sido instalada incorretamente ou o módulo está com problema.

3.2.2 Teste de permeabilidade de água padrão (NWP)

A permeabilidade foi determinada passando água pela membrana antes da primeira utilização do módulo. Segundo o manual de manutenção da MILLIPORE (instrução nº P17512), membranas novas devem ser lavadas e passarem por um teste de integridade (procedimento 3.2.2) antes de medir a NWP.

A primeira NWP foi usada como ponto de referência para subseqüentes NWP, ou seja, para determinar a eficiência da limpeza e as condições da membrana relacionada ao fouling.

Para obter a NWP foi necessário colocar o sistema em reciclo total, ou seja, dirigindo a linha de permeado e retentado para o tanque de limpeza. Em seguida, abriu-se o dreno do tanque de alimentação e a válvula da linha de retentado. Encheu-se o tanque com água deionizada a 25 °C e operou-se o reciclo com pressão de entrada (alimentação), 69 kPa e pressão na saída (retentado), 34,5 kPa. Manteve-se nessa condição de pressão durante 10 minutos para garantir a coleta dos dados de pressão, temperatura e fluxo. Após a coleta dos dados, a bomba foi desligada e drenou-se o sistema.

O cálculo da NWP foi realizado usando-se:

$$NWP = \frac{f \cdot J}{TMP} \quad (19)$$

Onde f é um fator de correção da temperatura, J é o fluxo de permeado e TMP a pressão transmembrana.

Segundo o manual de manutenção do sistema de membrana PELLICON-2, no primeiro uso do módulo, o NWP pode apresentar uma redução entre 60 – 80% da referência. Depois de usos repetidos (mais de 5 vezes) a NWP não deve variar mais que 10% de corrida para corrida. Se a NWP cair de corrida para parada, o procedimento de limpeza pode ser inadequado. Portanto, agentes de limpeza alternativos e procedimentos devem ser investigados.

3.3 Análise Exploratória

3.3.1 Planejamento experimental

Antes do início do experimento definiu-se por simulações o planejamento experimental utilizando o pacote estatístico SAS[®]. O módulo utilizado para as simulações do experimento foi o SAS/ADX[®] (Interface for Design of Experiments), que permitiu propor um design experimental capaz de testar as interações principais. Foi possível diminuir consideravelmente o número de experimentos, mantendo a confiabilidade experimental, sendo que o tempo de análise foi reduzido, bem como o desgaste de equipamentos e o consumo de insumos.

Os fatores e os níveis estudados neste trabalho estão apresentados na Tabela 3 e as variáveis respostas do experimento na Tabela 4.

Tabela 3: Fatores e níveis estudados

Fatores		Níveis		
		-1	0	+1
FI	Força iônica (M)	0	0,25	0,5
TMP	Pressão transmembrana (kPa)	69	103	138
pH	Potencial hidrogeniônico (M ⁻¹)	6	7	8
Qa	Vazão de alimentação (L min ⁻¹)	2	3	4
T	Temperatura (°C)	30	40	50
Co	Concentração de IPS (g L ⁻¹)	10	30	50

Tabela 4: Variáveis respostas

	Respostas	Unidades
Jp	Fluxo de permeado	L m ⁻² h ⁻¹
CRL	Coefficiente de rejeição de lactose	%
CRP	Coefficiente de retenção de proteína	%

O design experimental proposto pelo SAS[®] e adotado neste trabalho foi um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial fracionado de resolução 4, de dois níveis e seis fatores (2^{6-2}) com três repetições no ponto central (Tabela 5). Essa classe de experimento tem seu uso para investigação exploratória, ou seja, quando se deseja avaliar apenas as interações principais entre os fatores em estudo. É apropriado para casos onde há um número grande de fatores e quando é desejável uma redução no número de experimentos.

Tabela 5: Corridas experimentais com os níveis dos fatores codificados para realizar o processo de ultrafiltração utilizando o equipamento Pellicon-2 com membrana de 0,5 m² de celulose regenerada

Corridas	Co	T	pH	FI	Qa	TMP
1 ^a	-1	-1	-1	-1	-1	-1
2 ^a	-1	-1	-1	+1	+1	-1
3 ^a	+1	+1	-1	-1	+1	-1
4 ^a	+1	+1	-1	+1	-1	-1
5 ^a	+1	-1	-1	-1	+1	+1
6 ^a	+1	-1	-1	+1	-1	+1
7 ^a	-1	+1	-1	-1	-1	+1
8 ^a	-1	+1	-1	+1	+1	+1
9 ^a	+1	-1	+1	-1	-1	-1
10 ^a	+1	-1	+1	+1	+1	-1
11 ^a	-1	+1	+1	-1	+1	-1
12 ^a	-1	+1	+1	+1	-1	-1
13 ^a	-1	-1	+1	-1	+1	+1
14 ^a	-1	-1	+1	+1	-1	+1
15 ^a	1	+1	+1	-1	-1	+1
16 ^a	1	+1	+1	+1	+1	+1
17 ^a	0	0	0	0	0	0
18 ^a	0	0	0	0	0	0
19 ^a	0	0	0	0	0	0

(-1) nível inferior; (+1) nível superior; (0) ponto central.

3.3.2 Preparo das amostras

Neste trabalho foi utilizado como matéria-prima o isolado proteico de soro de leite em pó (WPI), produzido pela Davisco Foods International Inc.(USA), da marca BIPRO[®]. Com este produto preparou-se as amostras em três concentrações 10, 30 e 50 g L⁻¹ em balão volumétrico de dois litros. Para cada amostra adicionou-se lactose para atingir a concentração de 10 g L⁻¹ e NaCl em diferentes forças iônicas, com as concentrações (0; 0,25 e 0,5 M). O WPI, lactose e NaCl foram diluídos em tampão fosfato (K₂HPO₄/ KH₂PO₄) para atingir o pH desejado de 6,0; 7,0 ou 8,0. A concentração do tampão foi de 0,05 M e o mesmo foi preparado com água deionizada produzida por um sistema Milli-Q, da MILLIPORE, USA. Após o preparo e a completa homogeneização da solução com auxílio de um ultrason (BRANSON[®] 1510), armazenou-se a amostra durante 12 horas a 4 °C, tempo esse, para eliminar a espuma formada durante o preparo e promover uma melhor solubilização das proteínas. Completando este período, a amostra foi centrifugada (4.000 g por 20 min) e com o sobrenadante realizou-se o processo de ultrafiltração em modo de reciclo total para determinar as melhores condições do processo.

3.3.3 Operação em reciclo total

A Figura 9 mostra o esquema do sistema de ultrafiltração montado para a realização desta etapa do experimento. Um béquer de vidro de 5 litros foi o tanque de alimentação que estava em contínua agitação promovida pelo próprio reciclo da amostra.

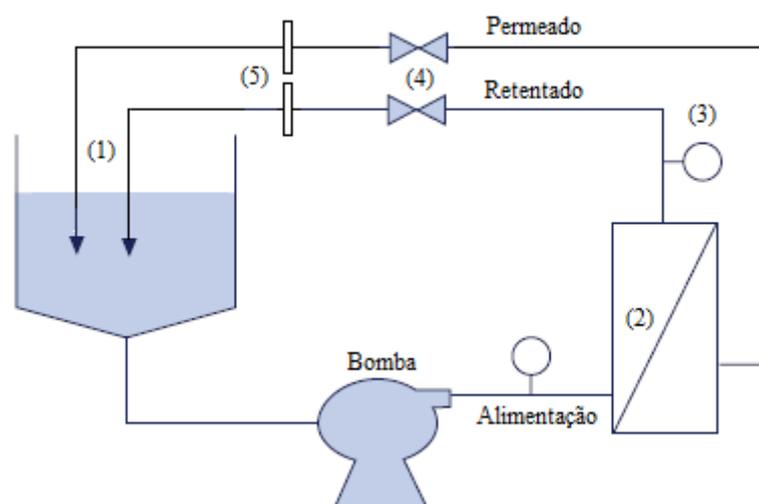


Figura 9: Esquema do sistema de ultrafiltração montado, em modo de reciclo total. (1) Tanque de alimentação; (2) Membrana; (3) Manômetro; (4) Válvulas; (5) Fluxômetros

A bomba peristáltica foi usada para impulsionar o fluido através do módulo de UF nas diferentes vazões e pressões. A pressão foi monitorada na entrada do módulo e na saída do retentado através dos manômetro instalados na linha, e a vazão do permeado e retentado foram monitoradas através de fluxômetros instalados após as válvulas (Figura 9). A vazão de alimentação foi determinada a partir da soma das vazões de permeado e retentado.

O processo experimental foi realizado em cinco etapas, lavagem inicial com água, reciclo da solução (em modo de reciclo total), limpeza, lavagem final com água e armazenamento da membrana. As etapas de lavagem, limpeza, sanitização e estocagem da membrana foram realizadas após cada corrida, de acordo com os procedimentos especificados pelo fabricante (MILLIPORE, instrução n° P17512).

O experimento foi conduzido em sistema aberto. Inicialmente, o retentado e o permeado foram operados em reciclo total, onde ambos retornavam para a solução de alimentação (Figura 9). Este modo de operação foi utilizado para a obtenção das melhores condições do processo em estudo. Cada corrida foi realizada após a limpeza, teste de integridade e a avaliação da permeabilidade de água padrão (NWP), ou seja, após confirmar que a membrana estava numa condição próxima da inicial. Posteriormente, foi adicionado 1,5 L da amostra num béquer de 5 L contendo uma serpentina de aço inox no seu interior conectada a um banho termostatizado (BIOTHEC®), que controlava a temperatura. A amostra então foi bombeada e ajustaram-se os parâmetros operacionais (temperatura, pressão e vazão de alimentação). Após um período de tempo de 40 min, quando o fluxo de permeado tornava-se constante, coletou-se uma amostra da solução de alimentação e outra do permeado para a realização das análises de proteínas totais e lactose.

3.4 Análise de Proteínas e Lactose

3.4.1 Proteína

Foi realizada usando o método de Bradford (1976) para proteínas totais em espectrofotômetro UV/Vis (BIOMATE 3) a 595 nm de comprimento de onda.

A concentração de proteína nas amostras da alimentação e permeado foi determinada a partir da curva analítica, $y = 0,0637x$ ($R^2 = 0,986$), que foi construída com base nos resultados de absorbâncias (y) obtidos para as concentrações (x) conhecidas (0; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

3.4.2 Lactose

A dosagem de lactose foi realizada usando o método de DNS (3-5 ácido di-nitro salicílico), adaptado de Miller (1959).

O reagente foi preparado em banho de 45 °C para não atingir a temperatura de ebulição. Em um béquer de 400 mL dissolveu-se por completo 30 g de Tartarato duplo de sódio e potássio e 500 mL de água destilada. Adicionou-se em seguida 1 g de DNS e com auxílio de um bastão de vidro homogeneizou-se até dissolver as partículas o máximo possível. Posteriormente, adicionou-se 20 mL de hidróxido de sódio 2 M e misturou-se até completa dissolução dos sólidos presentes. Transferiu-se em seguida essa solução para balão volumétrico em banho de água a temperatura ambiente até resfriar. Por fim, ajustou-se o volume do balão para 100 mL com água destilada.

A concentração de lactose nas amostras da alimentação e permeado foram determinadas a partir da curva analítica, $y = 2,33x$ ($R^2 = 0,994$), que foi construída com base nos resultados de absorvâncias (y) nas concentrações (x) conhecidas 0; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 2,0 mg mL⁻¹. A absorvância foi obtida utilizando um espectrofotômetro UV/Vis (BIOMATE 3) a 540 nm de comprimento de onda.

Para a determinação da concentração utilizou-se para 1 mL da amostra, adequadamente diluída, 2 mL de DNS. Colocaram-se os tubos de ensaio contendo essa mistura em banho com água em ebulição por 5 min e, em seguida, resfriou-se em banho de gelo. Posteriormente, adicionou-se 15 mL de água destilada com auxílio de pipeta volumétrica, homogeneizaram-se bem com auxílio de um vortex as amostras com DNS e água destilada. Por fim determinou-se a absorvância a 540 nm.

3.5 Otimização Experimental do Processo de UF/DF

Nesta etapa do experimento, foram definidos os parâmetros do processo de concentração e diafiltração do soro de leite.

3.5.1 Procedimento de equilíbrio do sistema de UF

Inicialmente foi realizado um procedimento de equilíbrio para remover ar do sistema e o residual de H₃PO₄ da etapa de armazenamento. Para isto, adicionou-se 1,5 L, de solução tampão fosfato de 0,05 M (K₂HPO₄ / KH₂PO₄) para pH 6,0, ao tanque de alimentação. A solução foi bombeada escoando o permeado e retentado nas condições operacionais de 2,5 L min⁻¹ de vazão de alimentação e pressão de retentado entre 14 – 103 kPa. Ao passar parte da solução tampão, colocou-se o sistema em reciclo por 10 min, para remover ar do sistema e

verificar se o pH estava nas mesmas condições da solução inicial (pH = 6,0). Posteriormente, removeu-se o permeado e o retentado novamente até atingir o mínimo de volume possível no tanque de alimentação (volume morto). Ao atingir o volume morto a bomba foi desligada e fechou-se a válvula de retentado.

3.5.2 Determinação dos parâmetros para a etapa de concentração

Adicionou-se no tanque de alimentação solução de WPI e solução de lactose até atingir a concentração desejada de 10 g L^{-1} de proteína e lactose. Para obter a concentração desejada considerou-se o volume morto (1 L) que ficou no sistema de ultrafiltração e no tanque de alimentação.

O fator de concentração (FC) definido para realizar a concentração foi 8 X. Para realizar a concentração com $FC = 8$ ($10 \text{ g L}^{-1} \rightarrow 80 \text{ g L}^{-1}$), ou seja, sair de uma concentração de proteína de 10 g L^{-1} e obter aproximadamente 80 g L^{-1} , foi necessário 8 L de solução (WPI + lactose). Após preparar a solução (WPI + lactose) e obter as condições desejadas de volume e concentração, o sistema foi colocado em reciclo total (Figura 9) para confirmar a retenção de proteínas, a rejeição de lactose e determinar TMP e Q_a . Para isto, ajustou-se a pressão na entrada (P_e) e na saída (P_s) para manter uma queda de pressão de 69 kPa para uma vazão de alimentação constante e variou-se a TMP. Para cada valor de TMP, o produto foi recirculado por 15 min e, em seguida, coletaram-se os dados de temperatura, pressão, fluxos e as amostras da alimentação e do permeado.

3.5.3 Etapa de concentração

Para esta etapa foi usada a solução do item anterior completando o volume para 8L. Em seguida, corrigiu-se a concentração da alimentação operando o sistema em modo de reciclo total (Figura 9), para obter a concentração desejada de lactose e proteína (10 g L^{-1}). Atingindo a concentração desejada de proteína e lactose no tanque de alimentação, bombeou-se a solução desviando o permeado, ou seja, em modo de concentração (Figura 10), e a cada 5 min coletaram-se os dados de temperatura, pressão, fluxos e as amostras da alimentação e do permeado. O produto obtido no retentado foi concentrado até o volume mínimo (1 L).

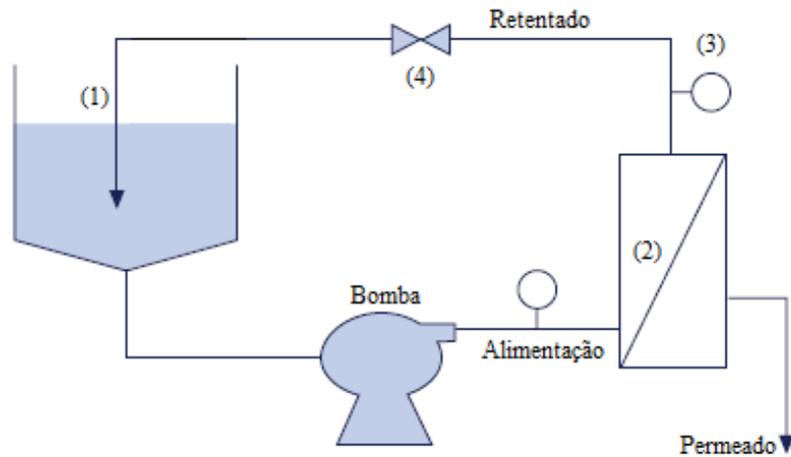


Figura 10: Esquema do sistema de ultrafiltração montado, em modo de reciclo total. (1) Tanque de alimentação; (2) Membrana; (3) Manômetro; (4) Válvula

3.5.4 Otimização da diafiltração

Na etapa de concentração obteve-se a queda do fluxo de permeado em função da concentração de proteína (Figura 11-1). A partir da combinação desses parâmetros foi possível obter a concentração ótima de proteína ($C_{p\text{ótima}}$) para realizar a diafiltração. Para isto, foi calculado o Parâmetro de Otimização da Diafiltração (POD) em cada ponto de J_p vs C_p da etapa de concentração (Figura 11-2). Posteriormente, determinou-se a concentração ótima de proteína para a diafiltração ($C_{p\text{ótima}}$) a partir do máximo valor do POD assumido.

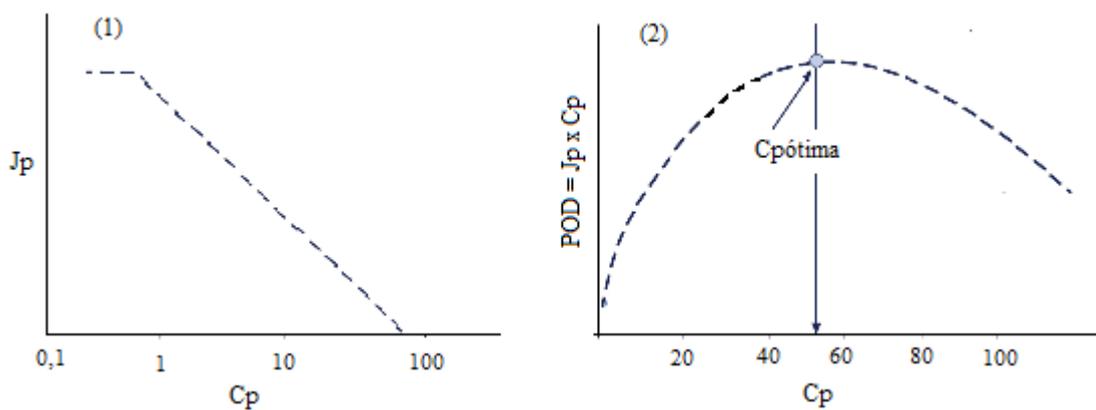


Figura 11: Metodologia para determinar a concentração ótima de proteína para a diafiltração em fluxo tangencial em membrana de celulose regenerada, área de $0,5 \text{ m}^2$ e 5 kDa de massa molar de corte. (1) Queda do fluxo de permeado (J_p) com o aumento da concentração; (2) POD - Parâmetro de otimização da diafiltração (MILLIPORE®)

3.6 Determinação dos Parâmetros Operacionais

a) Pressão transmembrana (TMP)

A pressão transmembrana foi calculada usando a equação 10, onde P_e é a pressão de entrada, P_s é a pressão de saída no canal de alimentação e P_p é a pressão na saída do permeado.

$$TMP = \frac{P_e + P_s}{2} - P_p \quad (10)$$

Os valores de P_e e P_s foram obtidos a partir dos manômetros dispostos na entrada e na saída do canal de alimentação. Por se tratar de pressão monométrica P_p é zero, pois a pressão no lado do permeado é a pressão atmosférica.

b) Fluxo de permeado (J_p)

O fluxo de permeado foi calculado a partir da Equação 11. Onde ΔV é a variação do volume de permeado em um determinado tempo (t), por unidade de área (A).

$$J_p = \frac{\Delta V}{A \cdot t} \quad (11)$$

A partir do fluxômetro que foi colocado na linha de permeado obteve-se a vazão do permeado, ou seja, a variação do volume de permeado em um determinado tempo. Em seguida, determinou-se o J_p dividindo a vazão do permeado pela área de membrana utilizada ($A = 0,5 \text{ m}^2$).

c) Queda de pressão (ΔP)

A queda de pressão foi calculada usando-se a Equação 12. Onde $P_e - P_s$ é a diferença de pressão ao longo do canal de alimentação.

$$\Delta P = P_e - P_s \quad (12)$$

Os valores de P_e e P_s foram obtidos a partir dos manômetros dispostos na entrada e na saída do canal de alimentação.

d) Coeficiente de rejeição e retenção (CR)

Os coeficientes de rejeição de lactose (CRL) e de retenção de proteína (CRP) foram calculados a partir das Equações 13 e 14 respectivamente. Onde C_{pi} é a concentração da espécie i no permeado e C_{ai} é a concentração da espécie i na alimentação.

$$CR_{\text{Rejeição}} = 100 \times \frac{C_{pi}}{C_{ai}} \quad (13)$$

$$CR_{\text{Retenção}} = 1 - \frac{C_{pi}}{C_{ai}} \times 100 \quad (14)$$

e) Fator de concentração volume (VCF)

O VCF foi calculado com a Equação 15. Onde V_{ia} é o volume inicial (volume de alimentação) e V_r é o volume final de retentado do processo de ultrafiltração.

$$VCF = \frac{V_{ia}}{V_r} \quad (15)$$

f) Fator de concentração (FC)

O fator de concentração foi calculado com a Equação 16. Onde C_f é a concentração final do produto (concentração no retentado) e C_i é a concentração inicial (concentração na alimentação).

$$FC = \frac{C_f}{C_i} \quad (16)$$

g) Diavolumes (DV)

O número de diavolumes (DV) foi calculado a partir da Equação 17. Onde V_{tDF} é o volume total de solvente adicionado na DF e V_r é o volume de retentado.

$$DV = \frac{V_{tDF}}{V_r} \quad (17)$$

h) Parâmetro de otimização da diafiltração (POD)

O POD foi calculado a partir da Equação 18. Os dados de concentração de proteína (C_p) e fluxo de permeado (J_p) foram determinados na etapa de concentração.

$$POD = C_p \times J_p \quad (18)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises Preliminares

Em geral, operações com membranas devem ser realizadas utilizando água para determinar as condições iniciais como permeabilidade da membrana, resistência da membrana ao fluxo e o fluxo de permeado em função da pressão e da temperatura.

Para o módulo Pellicon – 2, de 5 kDa e área de 0,5 m² observou-se que os valores de permeabilidade (NWP) durante as corridas experimentais mantiveram-se próximos do valor de referência 1,1 LMH/psi (Figura 12), a variação foi menor ou igual 10 %. Esse comportamento apresentado mostrou que o fouling irreversível não afetou a eficiência do módulo e que o procedimento adotado de limpeza foi adequado.

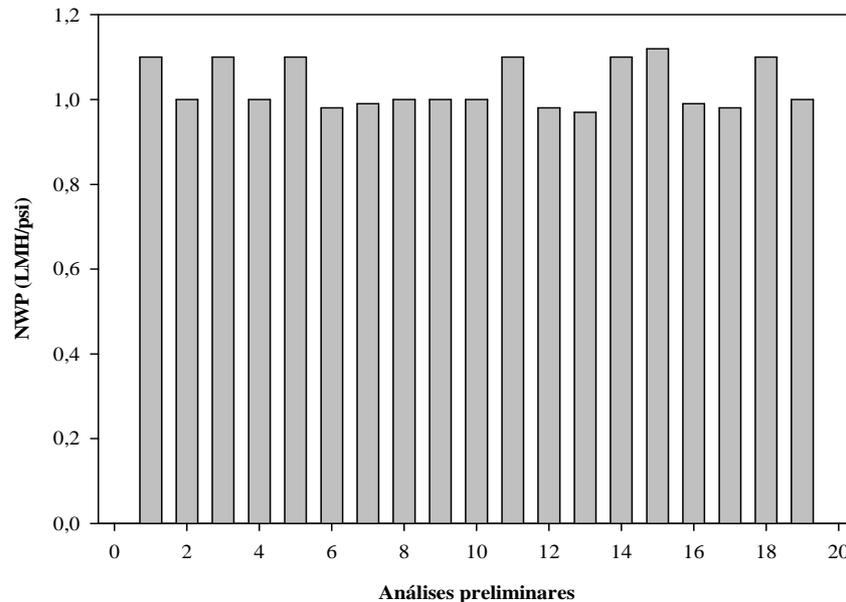


Figura 12: Teste de permeabilidade de água padrão (NWP) realizado nas 19 corridas experimentais. O teste foi realizado com água pura na etapa de lavagem final do procedimento de limpeza

Ainda com água realizou-se outra análise preliminar com o objetivo avaliar o fluxo de permeado com água nos níveis de temperatura e pressão que foram estudados. O fluxo de permeado aumentou com o aumento da pressão e da temperatura (Figura 13), isso porque uma força cada vez mais elevada foi aplicada forçando a passagem de água através da membrana e o aumento da temperatura reduziu a viscosidade da água aumentando a sua permeabilidade à membrana. O fluxo de permeado (J_p) na maior pressão transmembrana aplicada (131 kPa) foi de 32; 28 e 23 L m⁻² h⁻¹ para as temperaturas de 50, 40 e 30 °C respectivamente (Figura 13).

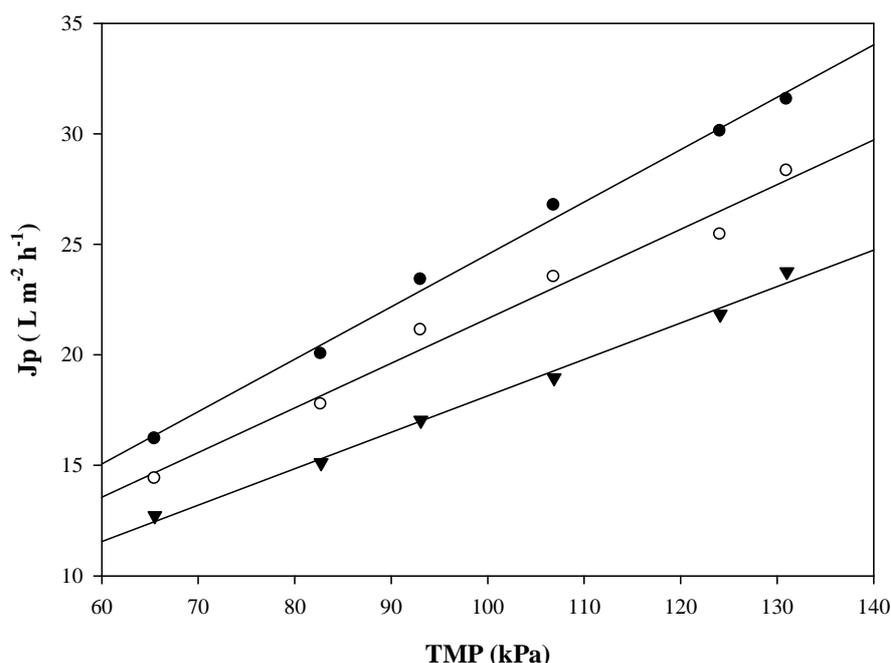


Figura 13: Efeito da pressão transmembrana no fluxo de permeado em temperaturas diferentes utilizando água pura: (●) 50 °C (○) 40 °C (▼) 30 °C

O fluxo de permeado com água pura sempre vai aumentar com a pressão, pois não há interferências ao fluxo que são causadas por fenômenos como polarização da concentração e fouling. A partir dos dados apresentados na Figura 13, determinou-se a equação do fluxo em função da pressão para as temperaturas estudadas. Para 50 °C obteve-se $J_p = 0,237 \cdot \text{TMP} + 0,852$ com $R^2 = 0,995$; para 40 °C obteve-se $J_p = 0,221 \cdot \text{TMP} - 1,061$ com $R^2 = 0,995$ e para 30 °C obteve-se $J_p = 0,181 \cdot \text{TMP} - 1,468$ com $R^2 = 0,995$.

4.2 Análise Exploratória

A Tabela 6 apresenta a matriz do planejamento com as repostas fluxo de permeado (J_p), coeficiente de retenção de proteína (CRP) e coeficiente de rejeição de lactose (CRL). Os fatores e as repostas em negrito referem-se às três repetições experimentais que foram realizadas no ponto central dos níveis dos fatores. O intervalo de confiança sobre a média das repetições no ponto central foi $\pm 2,361$, $\pm 0,248$ e $\pm 0,896$ para J_p , CRP e CRL respectivamente.

Observou-se ainda na Tabela 6 que dentre os 19 ensaios o J_p variou de 8,9 a 31,6 $\text{L m}^{-2} \text{h}^{-1}$ de acordo com as condições do processo, o CRP de 99,5 a 99,9 % e a CRL de 61,8 % a 94,3 %. A partir dessa análise preliminar, constatou-se que o J_p e o CRL apresentaram maior variação, enquanto o CRP apresentou-se praticamente constante, ou seja, os níveis dos fatores

não favoreceram a variação de CRP porque a membrana de massa molar limite de 5 kDa, nas condições estudadas retém praticamente todas as proteínas presentes no soro de leite.

Tabela 6: Matriz do planejamento 2^{6-2} com 3 repetições no ponto central e as variáveis respostas estudadas Jp, CRP e CRL

Fatores						Respostas		
Co (g L ⁻¹)	T (°C)	pH (M ⁻¹)	FI (M)	Qa (L min ⁻¹)	TMP (kPa)	Jp (L m ⁻² h ⁻¹)	CRP (%)	CRL (%)
10	30	6	0	2	69	10,8	99,8	86,0
10	30	6	0,5	4	69	10,3	99,7	81,1
50	50	6	0	4	69	16,2	99,9	64,6
50	50	6	0,5	2	69	14,8	99,8	67,7
50	30	6	0	4	138	21,8	99,5	61,8
50	30	6	0,5	2	138	20,4	99,8	63,5
10	50	6	0	2	138	31,6	99,7	69,6
10	50	6	0,5	4	138	29,6	99,6	67,1
50	30	8	0	2	69	8,9	99,9	68,5
50	30	8	0,5	4	69	8,9	99,8	63,1
10	50	8	0	4	69	12,4	99,6	75,3
10	50	8	0,5	2	69	10,4	99,6	75,4
10	30	8	0	4	138	16,1	99,6	94,3
10	30	8	0,5	2	138	18,0	99,6	75,6
50	50	8	0	2	138	26,8	99,7	85,6
50	50	8	0,5	4	138	27,7	99,9	67,6
30	40	7	0,25	3	103	15,4(a)	99,9(b)	79,6(c)
30	40	7	0,25	3	103	17,3(a)	99,7(b)	78,9(c)
30	40	7	0,25	3	103	16,3(a)	99,8(b)	79,1(c)

(a); (b); (c) valores das repetições realizadas no ponto central para o Jp, CRP e CRL respectivamente. O intervalo de confiança para um valor de probabilidade igual a 0,95; foram para o Jp ($16,33 \pm 2,361$), CRP ($99,8 \pm 0,248$) e CRL ($79,2 \pm 0,896$)

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos da análise de variância (ANOVA) realizada para determinar quais fatores exerceu influência no Jp. A inspeção dos valores de probabilidade na ANOVA para o Jp indica que apenas T, TMP e o pH ($p < 0,05$) estão exercendo influência no Jp e que nenhuma das interações foi significativa ($p > 0,05$), com isso os fatores atuam independentes no intervalo estudado.

Tabela 7: Análise de variância (ANOVA) do modelo predito para o fluxo de permeado (CV = 2,455 %; R² = 0,97)

F.V.	GL	SQ	QM	F	Pr > F
T	1	0,54003	0,54	115,08	0,0001*
TMP	1	2,09849	2,0985	447,18	0,0001*
pH	1	0,16384	0,1638	34,913	0,0001*
Modelo	3	2,80236	0,9341	199,05	0,0001*
Erro	15	0,07039	0,0046		
Total	18	2,87275			

*p < 0,05

O modelo predito obtido a partir da ANOVA foi $J_p = 1,67 + 0,02*T + 0,07*TMP - 0,10*pH$ e o mesmo explica 97,55 % da variação total das respostas, segundo o coeficiente de determinação (R²). Pode-se então considerar que as pressuposições do modelo foram satisfeitas p < 0,05 (Tabela 7).

A Tabela 8 apresenta os dados do teste de hipóteses (Teste t) realizado e os efeitos sobre o J_p. Dentre as 6 variáveis e as interações estudadas, somente T, TMP e pH foram estatisticamente significativos (p < 0,05) para o J_p.

O TMP apresentou efeito positivo, indicando que ao passar de 69 para 138 kPa ocorreu um aumento no J_p, por isso seria necessário deslocar os níveis de estudo para níveis superiores num planejamento seguinte, mas por limitações técnicas não foi possível aumentar os níveis da pressão. A temperatura também apresentou efeito positivo, mas o nível alto de temperatura adotado neste estudo (50 °C) foi o máximo valor especificado pelo fabricante do equipamento, com isso não foi possível realizar o deslocamento para níveis superiores.

O efeito positivo da temperatura no fluxo pode ser explicado considerando o efeito da mesma sobre a viscosidade. Aumentado a temperatura, a viscosidade da solução diminui, promovendo a diminuição da resistência ao fluxo. Por outro lado, o aumento da TMP, aumenta a força aplicada através da membrana, promovendo o aumento no fluxo (LU et al., 2007).

Tabela 8: Significância dos parâmetros para o modelo do fluxo de permeado pelo Teste t

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	Valor t	Valor P
FI	- 0,0376	0,0281	- 1,3389	0,2383
T	0,3674	0,0281	13,081	< 0,0001
TMP	0,7243	0,0281	25,787	< 0,0001
pH	- 0,2024	0,0281	- 7,2052	0,0008
Qa	0,0176	0,0281	0,62901	0,5570
Co	0,0597	0,0281	2,1259	0,0869
FI * T	- 0,0370	0,0281	- 1,3191	0,2443
FI * TMP	0,0408	0,0281	1,4530	0,2060
FI * pH	0,0297	0,0281	1,0602	0,3376
T * TMP	0,0536	0,0281	1,9082	0,1147
FI * Co	0,0066	0,0281	0,2376	0,8216
T * pH	- 0,0104	0,0281	- 0,3711	0,7258
T* Co	0,0375	0,0281	1,3367	0,2389

O pH apresentou o menor efeito e o mesmo foi negativo, indicando que ao passar de 6 para 8 ocorreu uma diminuição no Jp. Esse efeito negativo do pH no fluxo de permeado pode ser explicado considerando a solubilidade das proteínas. O ponto isoelétrico das proteínas de maior concentração no soro de leite (α -La e β -Lg) está entre 4 e 5, nessa faixa de pH o fluxo é reduzido devido a baixa solubilidade das proteínas. Em condições mais afastadas do PI espera-se maior solubilidade e, conseqüentemente, aumento da retrodifusão da camada gel formada sobre a membrana que favorece positivamente o Jp (PORTER, 1990).

Esperava-se observar efeito da Co sobre o fluxo, mas os níveis estudados não demonstraram esse efeito. Chollangi e Hossain (2007), afirmaram que o fluxo de permeado diminui a medida que aumenta a concentração da solução, mas em concentrações abaixo da faixa de 20 – 48 g L⁻¹ a queda no fluxo é menos expressiva, devido a intensidade do fouling ser menor. O autor conseguiu obter efeito sobre o Jp quando a concentração na alimentação estava no intervalo de 48 – 100 g L⁻¹. Esse pode ser o motivo pelo qual o fator concentração de alimentação não apresentou influência no fluxo de permeado.

Nas Figuras 14, 15 e 16 foram apresentadas as superfícies respostas para o Jp em função das variáveis TMP, T e pH.

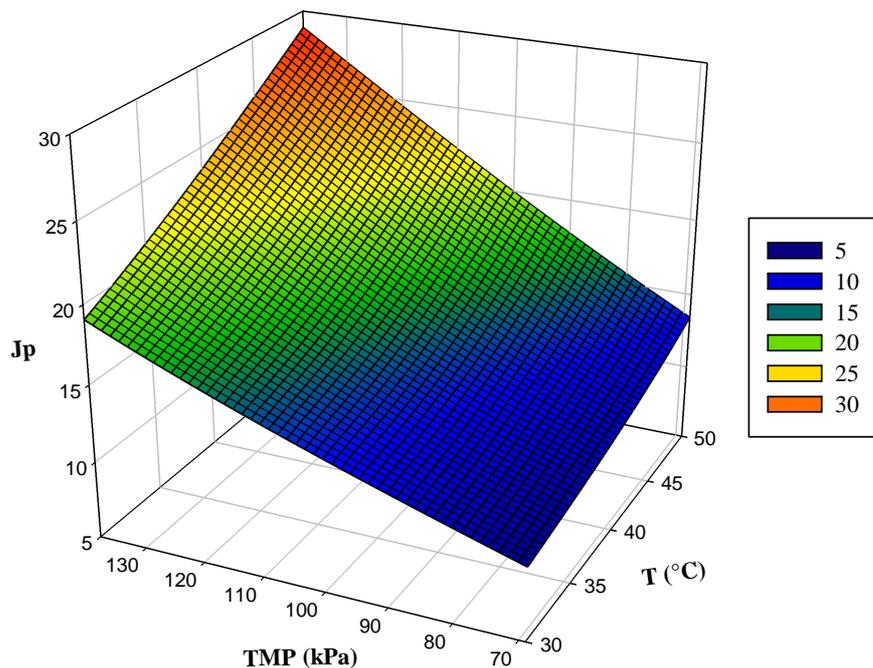


Figura 14: Superfície de resposta para o J_p - fluxo de permeado em função da TMP - pressão transmembrana e da T - temperatura para FI - 0,25 M; pH - 7,0; C_o - 30 g L⁻¹ e Q_a - 3 L min⁻¹

Analisando a superfície de resposta (Figura 14), observou-se que nos intervalos estudados, os maiores J_p ocorreram para níveis altos de pressão e temperatura. Aumentar os níveis desses fatores, para obter um ponto de ótimo na superfície de resposta (ponto de inflexão), não foi possível porque o conjunto não suportou condições acima das impostas neste estudo para as variáveis temperatura e pressão.

Considerando que bombas, tubulações e conexões a serem utilizadas num processo dependem do tipo de fluido, da faixa de pressão e da vazão volumétrica desejadas. Pode-se aplicar níveis superior de pressão, mas para isso, o tipo de bomba e/ou material das tubulações e conexões utilizadas precisam ser reavaliadas, ou seja, a bomba de tubos flexíveis utilizada poderia ser mantida, porém utilizando um material mais resistente que o silicone ou até mesmo mudar o tipo de bomba, talvez até uma bomba centrífuga poderia ser implantada na linha, pois o soro não apresenta alta viscosidade.

A Figura 15 mostra o J_p em função do pH e da TMP. A partir da superfície de resposta, verificou-se que a TMP exerceu maior efeito que o pH no aumento do J_p . Dentre as variáveis que influenciaram significativamente o fluxo de permeado, somente o pH poderia ser avaliado em uma faixa inferior de níveis, por exemplo de 4 a 6, mas a contribuição do pH em relação à TMP foi inferior a 30%, ou seja torna-se insignificante. Por outro lado, no presente estudo evitaram-se as condições que poderiam promover alterações indesejáveis nas proteínas, ou seja,

condições de pH muito próximas do PI das proteínas de maior concentração no soro de leite. Operar o sistema em condições de alta desnaturação proteica diminui a qualidade do produto obtido. A sua qualidade está diretamente relacionada com a integridade das proteínas que devem ser mantidas para garantir as propriedades nutricionais, funcionais e tecnológicas conferidas a elas.

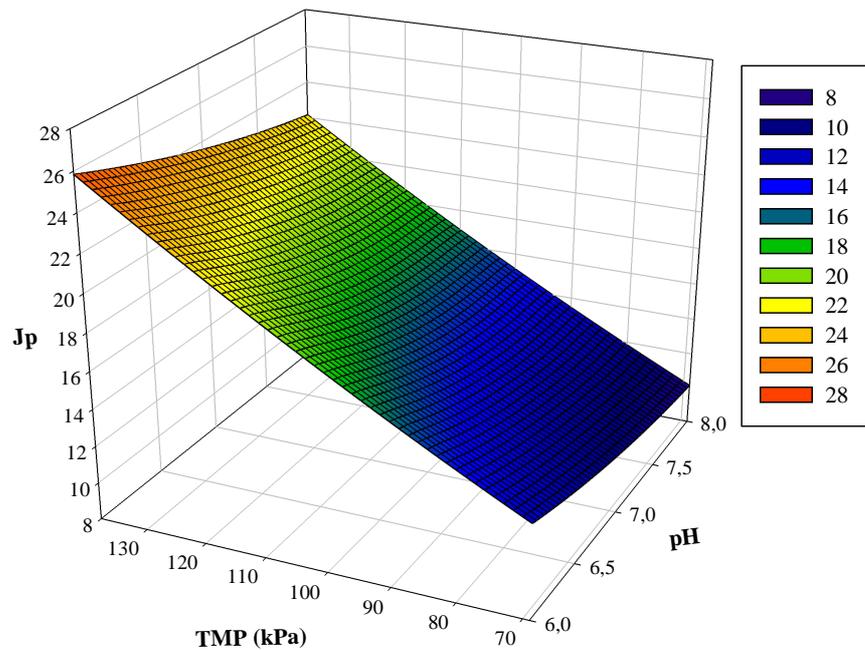


Figura 15: Superfície de resposta para o J_p em função do pH e da pressão transmembrana para $FI = 0,25$ M; $T = 40$ °C; $Co = 30$ g L⁻¹ e $Q_a = 3$ L min⁻¹

Outra superfície de resposta avaliada foi apresentada na Figura 16 e mostra o J_p em função da T e do pH. A superfície também não apresentou o ponto de ótimo não foram avaliados em outras faixas, por limitações do equipamento já mencionadas e por motivos que podem promover a desnaturação das proteínas.

Segundo Lu et al. (2007), em altas temperaturas o fluxo de permeado apresenta-se superior, devido à redução da viscosidade do fluido, ao aumento da velocidade de difusão e à modificação das interações membrana-solução. O desejável é trabalhar com a maior temperatura possível respeitando os limites estabelecidos da membrana e do produto. Para produtos lácteos e derivados, temperaturas menores que 45 °C não são recomendáveis devido ao risco de crescimento microbiano, enquanto temperaturas maiores que 60 °C causam desnaturação proteica. Assim, a temperatura entre 45 – 55 °C tem sido mais usada, pois possibilita um maior fluxo e preservação do produto.

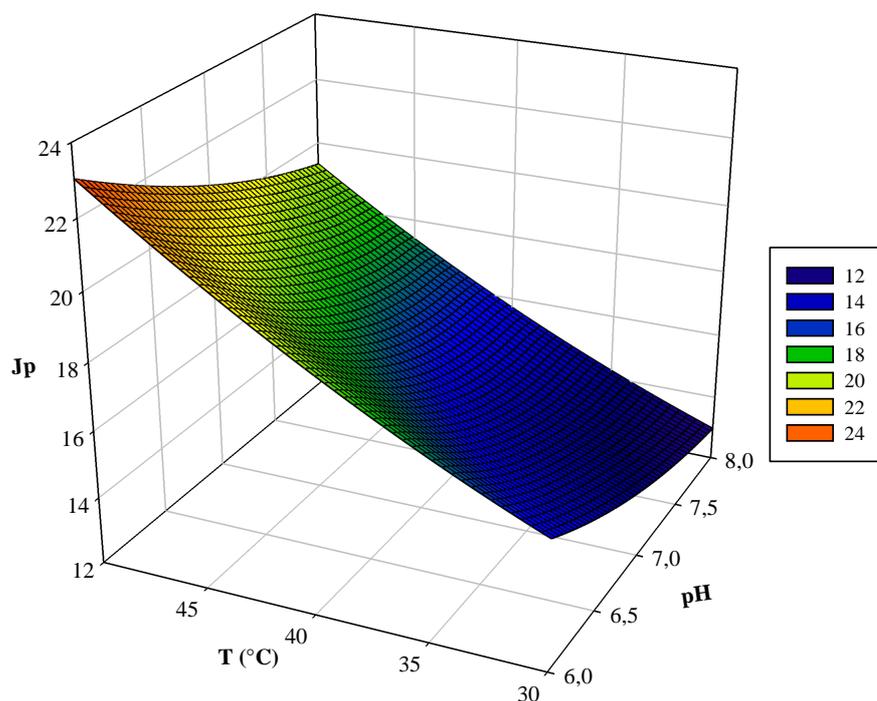


Figura 16: Superfície de resposta para o J_p em função da temperatura e do pH no fluxo de permeado para $FI = 0,25 \text{ M}$; $TMP = 103 \text{ kPa}$; $Co = 30 \text{ g L}^{-1}$ e $Qa = 3 \text{ L min}^{-1}$

De maneira semelhante às análises realizadas para o J_p avaliou-se o efeito dos fatores em estudo sobre o Coeficiente de Rejeição de Lactose (CRL).

A análise de variância (ANOVA) para determinar quais fatores exerceu influência no CRL foi apresentada na Tabela 9. A inspeção dos valores de probabilidade na ANOVA para o CRL indicou que apenas T, Co e a interação T*Co exerceram influência ($p < 0,05$) no CRL, com isso os fatores não atuam independentes no intervalo estudado.

Tabela 9: Análise de variância (ANOVA) do modelo predito para o CRL ($CV = 8,86 \%$; $R^2 = 56,3 \%$)

F.V.	GL	SQ	QM	F	Pr > F
T	1	27,8256	27,826	0,6488	0,4331
Co	1	419,226	419,23	9,7753	0,0069*
T*Co	1	381,226	381,23	8,8892	0,0093*
Modelo	3	828,276	276,09	6,4377	0,0051*
Erro	15	643,294	42,886		
Total	18	1471,57			

* $p < 0,05$

O modelo predito obtido a partir da ANOVA foi $CRL = 116,16 - 1,23*Co + 0,024*T*Co$ e o mesmo explica 56,3 % da variação total das respostas, segundo o coeficiente de

determinação (R^2). Pode-se então considerar que as pressuposições do modelo foram satisfeitas $p < 0,05$ (Tabela 9).

A Tabela 10 apresenta os dados do teste de hipóteses (Teste t) realizado e os efeitos sobre o CRL. Dentre as 6 variáveis estudadas e as interações, somente Co e a interação T*Co foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para o CRL.

A melhor rejeição de lactose foi obtida nas condições de menor temperatura e menor concentração. O efeito negativo da concentração de alimentação foi porque em condições de menor concentração a polarização da concentração é menor na superfície da membrana, consequentemente a rejeição de lactose vai ser maior. Por outro lado, o efeito negativo da temperatura pode ser explicado avaliando as condições da camada gel formada sobre a membrana. As proteínas do soro de leite possuem ótima capacidade de formarem gel em temperaturas acima de 40 °C. Portanto, quanto mais compactado o gel dessa camada menor será a rejeição de impurezas. Numa camada gel menos compactada, ou seja, em condições de menor temperatura e concentração há aumento no coeficiente de transferência de massa (K) e, consequentemente, aumento no fenômeno de retrodifusão que promove aumento do fluxo e do CRL.

Tabela 10: Significância dos parâmetros para o modelo do coeficiente de rejeição de lactose (CRL) pelo Teste t

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	Valor t	Valor P
FI	- 5,575	2,8784	- 1,9368	0,1105
T	- 2,625	2,8784	- 0,9119	0,4036
TMP	0,425	2,8784	0,1476	0,8884
pH	5,5	2,8784	1,9108	0,1143
Qa	- 2,125	2,8784	- 0,7382	0,4935
Co	- 10,25	2,8784	- 3,561	0,0165*
FI * T	1,25	2,8784	0,4342	0,6822
FI * TMP	- 3,8	2,8784	- 1,3202	0,2440
FI * pH	- 4,925	2,8784	- 1,711	0,1478
pH * Co	1,3	2,8784	0,4516	0,6704
FI * Co	0,925	2,8784	0,3213	0,7609
T * pH	3,225	2,8784	1,1204	0,3135
T * Co	9,775	2,8784	3,396	0,0193*

* $p < 0,05$

Na Figura 17 foi apresentada a superfície de resposta do coeficiente de rejeição da lactose em função da concentração de alimentação e da temperatura. A partir do comportamento assumido foi possível aproximar-se do ponto de ótimo na superfície de resposta (ponto de inflexão). Como a contribuição da Co e da interação T*Co foram negativas precisava-se diminuir os níveis dos fatores envolvidos (T e Co). Operar o sistema com temperatura inferior a 30 °C promoveria aumento no tempo do processo e/ou área de membrana requerida. Diminuir a

concentração a níveis mais baixos que 10 g L^{-1} (1 %) também não foi realizado porque o soro de leite apresenta em sua composição concentração de proteína total entre 0,6 e 0,9 %, ou seja, diluí-lo e posteriormente concentrá-lo significa aumento nos gastos com energia para a indústria. A diluição seria coerente na etapa de diafiltração, a qual tem como objetivo eliminar as impurezas contidas no produto e, conseqüentemente, aumentar o teor de proteína do mesmo.

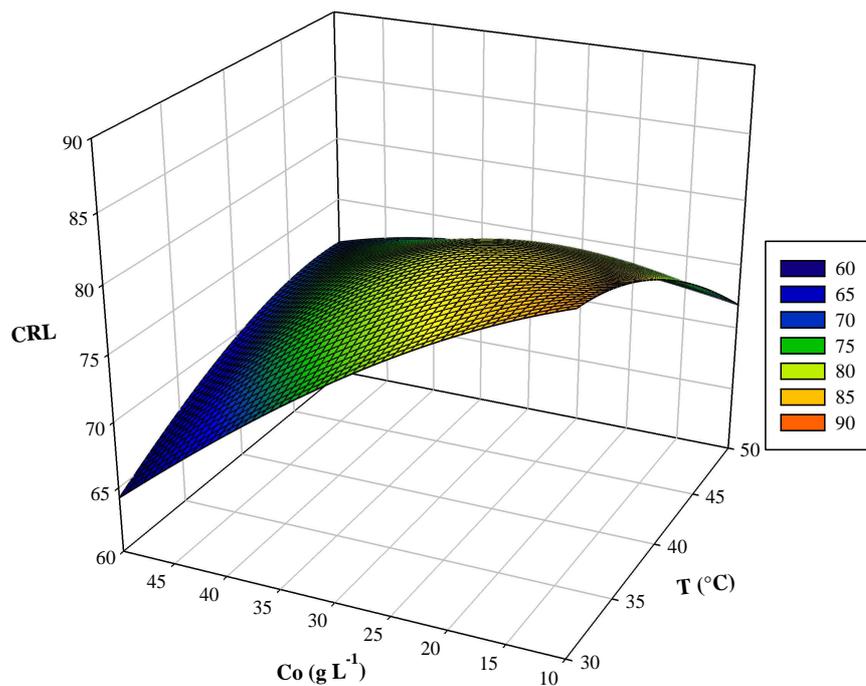


Figura 17: Superfície de resposta para o CRL em função dos fatores concentração e temperatura. FI – 0,25 M; TMP – 103 kPa; pH – 7,0 e Q_a – 3 L min^{-1}

Portanto, a partir da superfície de resposta (Figura 17) pode-se inferir que o aumento da CRL foi influenciado negativamente pela concentração e temperatura, devido aos seguintes motivos: de apresentar camada gel na superfície da membrana menos compactada, da polarização de concentração ser menor, das proteínas serem mais solúveis e a retrodifusão aumentar.

De maneira semelhante às análises realizadas para as variáveis J_p e CRL. Avaliou-se o efeito dos fatores em estudo sobre o Coeficiente de Retenção de Proteínas (CRP), mas não foi identificado nenhum efeito a 95 % de confiança, porque todas as proteínas foram retidas pela membrana utilizada (5 kDa).

Por simulação, utilizando os modelos obtidos da análise exploratória maximizou-se J_p , CRL e CRP, mas para isso consideraram-se as condições que limitaram o processo de ultrafiltração no Pellicon – 2 de membrana de 5 kDa e área de $0,5 \text{ m}^2$. A Tabela 11 mostra as

condições das variáveis definidas a partir da análise exploratória e das informações contidas no manual do equipamento e na literatura.

Tabela 11: Melhor condição selecionada da simulação realizada no SAS/ADX® a partir dos modelos obtidos na análise exploratória

Parâmetros do Processo		Melhor condição
FI	Força iônica (M)	0
TMP	Pressão transmembrana (kPa)	103
pH	Potencial hidrogeniônico (M^{-1})	6,0
Qa	Vazão de alimentação ($L \text{ min}^{-1}$)	2,5
T	Temperatura ($^{\circ}C$)	40
Co	Concentração de IPS ($g \text{ L}^{-1}$)	10

4.3 Otimização Experimental do processo de UF/DF

Neste item, as melhores condições de temperatura, pH, concentração de alimentação e força iônica obtidas na análise exploratória (Tabela 11) foram mantidas constantes para definir os parâmetros do processo de concentração e diafiltração do soro de leite.

4.3.1 Determinação da TMP e Qa para a etapa de concentração

A Tabela 12 apresenta os valores de Jp, CRP e CRL em função da TMP para dois níveis de vazão de alimentação (Qa). Observou-se que a TMP influencia positivamente no Jp e que a mesma não apresenta efeito expressivo no CRP e CRL, assim como foi observado na análise exploratória. O coeficiente de rejeição de lactose (CRL), assumiu comportamento esperado, aumentou com o aumento da Qa, devido à diminuição da camada de polarização formada sobre a membrana.

Tabela 12: Resultados de Jp, CRP e CRL em função da TMP, para as duas vazões de alimentação (Qa) mantendo $\Delta P = 69 \text{ kPa}$

TMP (kPa)	1,5 $L \text{ min}^{-1}$			2,0 $L \text{ min}^{-1}$		
	Jp ($L \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)	CRP (%)	CRL (%)	Jp ($L \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)	CRP (%)	CRL (%)
69	15,36	99,88	84,11	14,4	100,00	89,50
103	22,56	100,00	83,96	21,12	99,80	80,00
138	29,28	98,57	83,98	28,32	99,35	83,65
172	33,60	98,73	83,10	34,08	99,23	86,07
207	-	-	-	42,72	94,81	88,02

Na Tabela 12, pode-se verificar, que quando o processo foi operado numa vazão de alimentação maior ($2,0 \text{ L min}^{-1}$) foi possível obter mais pontos, porém na pressão de 207 kPa observou-se uma queda no CRP, ou seja, em pressões acima de 207 kPa pode-se aumentar a rejeição de proteína ou diminuir o CRP.

A Figura 18 ilustra melhor os efeitos da TMP e da Q_a sobre o fluxo. A vazão de alimentação, assim como foi observado na análise exploratória, não apresentou efeito sobre o J_p , os dois níveis analisados praticamente assumiram o mesmo comportamento.

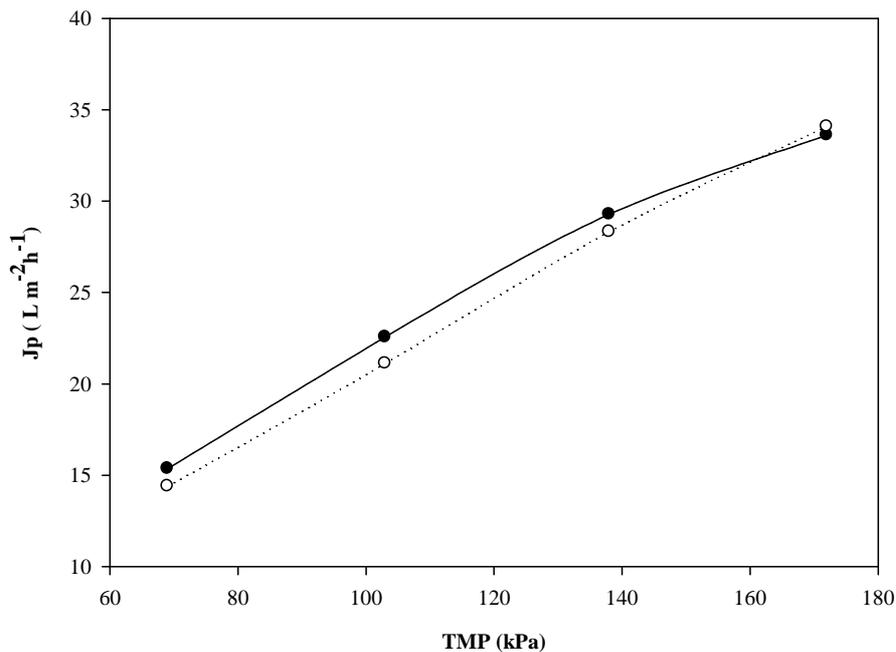


Figura 18: Efeito da TMP sobre o fluxo para duas vazões de alimentações (Q_a): ● $1,5 \text{ L min}^{-1}$ e ○ $2,0 \text{ L min}^{-1}$

A partir dos dados apresentados na Tabela 12 e o comportamento do J_p apresentado na Figura 18 determinou-se 172 kPa como a melhor TMP para ambas vazões de alimentação, mas essa pressão determinada não foi obtida nas condições de fluxo limite (região independente da pressão) por limitações no equipamento já mencionadas. Nessa região, o fluxo seria controlado exclusivamente pela retrodifusão no canal da alimentação, mas como não foi possível entrar na região de fluxo limite, definiu-se como a melhor condição de TMP o valor máximo encontrado de menor rejeição de proteína.

Como melhor condição de Q_a o maior valor numérico ($2,0 \text{ L min}^{-1}$), por promover maior arraste das partículas que se acumulam sobre a membrana (polarização de concentração), já que os valores de J_p são praticamente os mesmos na pressão de 172 kPa para os dois níveis de Q_a (Tabela 12).

4.3.1.1 Etapa de concentração

A concentração foi realizada nas condições definidas no item anterior (TMP = 172 kPa e $Q_a = 2,0 \text{ L min}^{-1}$). A Tabela 13 apresenta os resultados de J_p , CRP e CRL em função do tempo, manteve-se Q_a , TMP e ΔP constantes. Durante o processo de concentração o J_p e CRL diminuíram, devido ao aumento da concentração de sólidos na solução de alimentação. Esse aumento na concentração de sólidos aumenta a viscosidade e a densidade da solução, o que resulta na diminuição da difusividade do soluto. Portanto, quando a concentração de sólidos aumenta, o fluxo tende a diminuir e, conseqüentemente, a rejeição de lactose diminui. Por outro lado, o CRP permaneceu praticamente constante.

Tabela 13: Resultados de J_p - fluxo de permeado, CRP – coeficiente de retenção de proteína, CRL – coeficiente de rejeição de lactose e C_p – concentração de proteínas durante a concentração, em função do tempo para uma $Q_a = 2,0 \text{ L min}^{-1}$, TMP = 172 kPa e $\Delta P = 69 \text{ kPa}$

Tempo (min)	J_p ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)	CRP (%)	CRL (%)	C_p (g L^{-1})
0	35,0	100,0	92,8	10,64
5	34,9	99,9	90,0	11,50
10	34,6	99,8	90,1	13,20
15	34,1	99,2	84,2	15,65
20	32,6	99,7	84,0	25,24
25	26,4	99,4	84,1	54,02
27	21,1	99,7	64,8	78,0

O aumento da concentração de sólidos durante a concentração foi promovido principalmente pelo aumento da concentração de proteína no tanque de alimentação (Tabela 13), pois as mesmas são retidas enquanto água, lactose e sais são rejeitados pela membrana. A rejeição desses compostos foi prejudicada durante a etapa de concentração, pois as resistências ao fluxo foram intensificadas devido ao aumento da polarização de concentração, camada gel e fouling.

A Figura 19 mostra a queda de J_p com o tempo, a qual foi lenta nos primeiros 15 minutos seguida por uma queda brusca nos minutos finais. Esse comportamento foi devido ao aumento da concentração de sólidos no tanque de alimentação com o tempo. Para o VCF=8 foi possível obter 78 g L^{-1} (FC=7,8 X) após 27 min de concentração e o J_p caiu de 35 para $21,1 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, ou seja, o fluxo sofreu redução de quase 40 %. A queda do fluxo geralmente será observada até o instante t, onde $J_p = 0$, ou seja, instante quando a concentração da alimentação e a concentração da camada gel se igualam.

O FC encontrado após a concentração foi de 7,8 X. A partir desse resultado constatou-se que há a rejeição de 2 % de proteínas ou as mesmas ficaram aderidas na membrana isso porque o menor CRP foi 99,8 %.

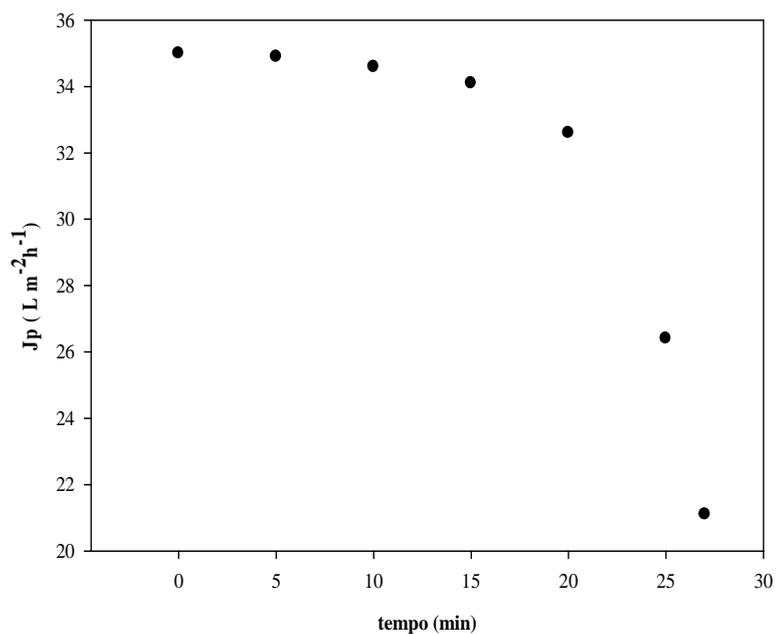


Figura 19: Queda do fluxo de permeado (J_p) em função do tempo (t) na etapa de concentração

4.3.2 Otimização da diafiltração

A queda do fluxo durante a etapa de concentrações apresentou um comportamento linear, como reportado na literatura (Figura 20). Com os dados experimentais foi possível obter a seguinte equação $J_p = -0,206c_p + 37,38$ a qual explica 99,8 % da variação total das respostas, segundo o coeficiente de determinação (R^2).

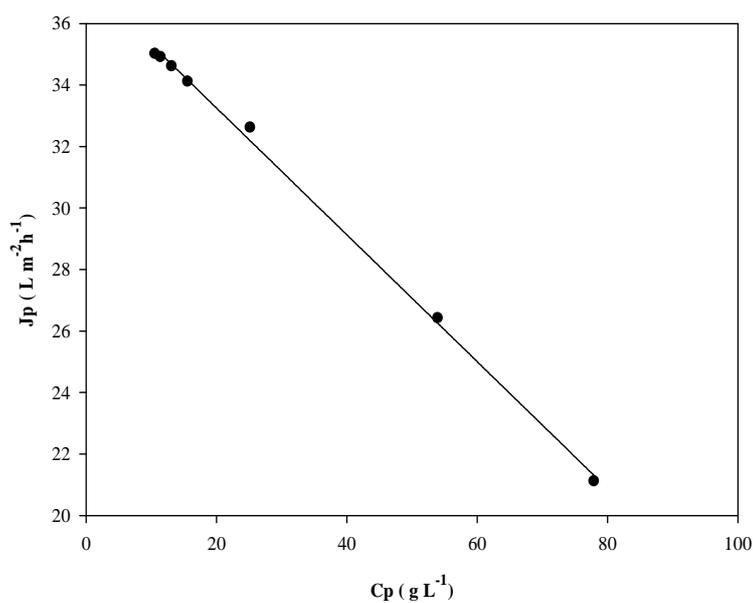


Figura 20: Fluxo de permeado (J_p) em função da concentração de proteína (C_p) durante a etapa de concentração

A partir do J_p em função da concentração de proteína determinou-se a concentração da camada gel ($C_g = 181,5 \text{ g L}^{-1}$) e o parâmetro de otimização da diafiltração (POD). Esse parâmetro foi calculado a partir da Equação 18 e avaliado em função de C_p (Figura 21) para determinar a ótima concentração de proteína para realizar o processo de diafiltração ($C_{p\text{ótima}}$).

Na Figura 21 o ponto máximo, $POD = 1695,7 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, foi a condição que determinou a concentração ótima de proteína, $C_{p\text{ótima}} = 91 \text{ g L}^{-1}$, para ser realizada a diafiltração. Nessas condições o fluxo de permeado foi de aproximadamente $19 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

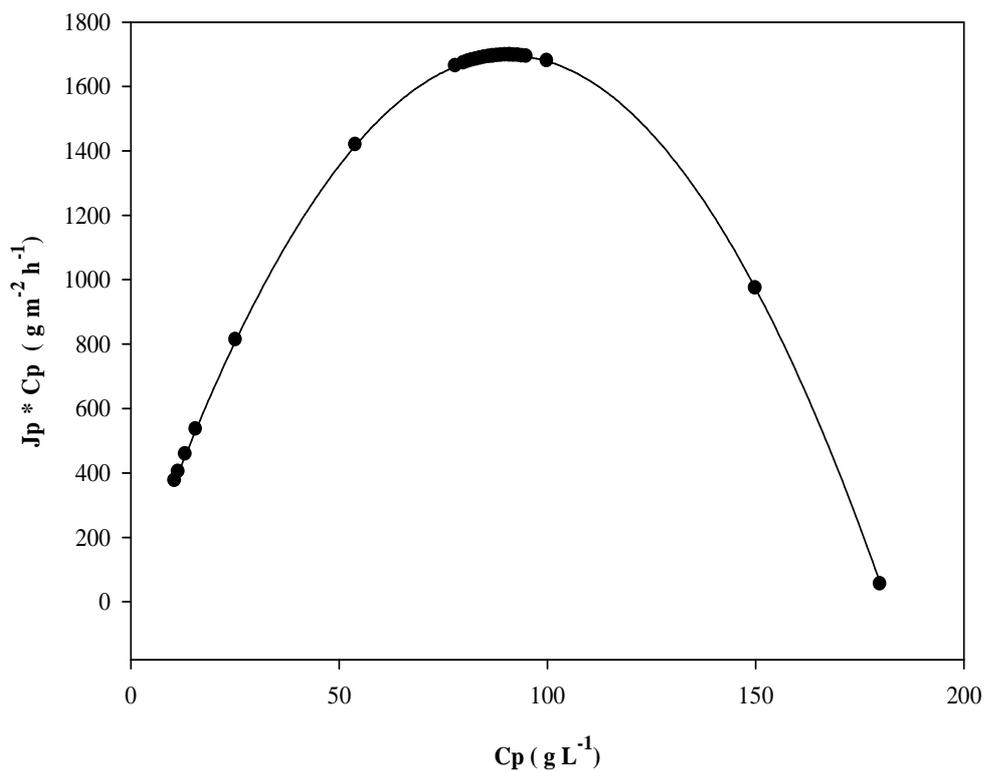


Figura 21: Determinação dos parâmetros da diafiltração

CONCLUSÕES

A análise exploratória realizada identificou que a TMP, T e pH apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre o fluxo de permeado e que a interação T*Co e Co apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o coeficiente de rejeição de lactose. Por outro lado, os fatores não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) sobre o coeficiente de retenção de proteína.

Não foi possível avaliar o efeito da TMP em faixas superiores dos níveis estudados, na análise exploratória, isso porque a bomba utilizada não obteve as condições necessárias de pressão. Portanto, para alcançar essas condições e, conseqüentemente, a condição otimizada da variável J_p na superfície de resposta (ponto de inflexão), o tipo de bomba e/ou material da tubulação e conexões utilizadas precisaria ser reavaliado.

A membrana de 5 kDa apresentou ótima retenção de proteínas $CRP \geq 99\%$ e boa rejeição de lactose entre 60 e 96 %. A rejeição de lactose diminui com o aumento da concentração de proteína sobre a membrana. Por outro lado, a DF aumenta a rejeição de lactose.

Na análise exploratória e na etapa de concentração o fluxo de permeado diminui com o aumento da concentração de proteína. Essa queda foi promovida pelo aumento da polarização de concentração. O aumento de concentração de partículas sobre a membrana tem seu limite quando a mesma atinge a concentração da camada gel formada durante o processo. Nessa condição o J_p é igual a zero ($J_p=0$) porque passa a não existir o gradiente de concentração responsável pelo fenômeno de retrodifusão.

A etapa de concentração do processo de UF em membrana de 5 kDa de celulose regenerada deve ser operado com força iônica baixa, pH afastado do PI das proteínas, concentração de proteínas entre 0,6 e 1 %, temperatura de 40 °C, TMP de 172 kPa, para obter um fluxo de permeado no início de $34 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. A diafiltração deve ser realizada numa concentração igual ou menor que 91 g L^{-1} , nesta condição o fluxo encontrado foi de $19 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Para o processamento proposto a concentração da camada gel obtida foi $181,5 \text{ g L}^{-1}$.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. M. **Química de alimentos: teoria e prática** - 3ª ed. - Viçosa: Editora UFV, pp. 249 - 283, 2004.

ATRA, R.; VATAI, G.; MOLNAR, E. B.; BALINT, A. Investigation of ultrafiltration and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of Food Engineering** , 67, 325–332, 2005.

BACCHIN, P.; SI-HASSEN, D.; STAROV, V.; CLIFTON, M.; AIMAR, P. A unifying model for the concentration polarization, gel-layer formation and particle deposition in cross-flow membrane filtration of colloidal suspensions. **Chemical Eng Science** , 57, 77-91, 2002.

BARBA, D.; BEOLCHINI, F.; CIFONI, D.; VEGLIO, F. Whey protein concentrate production in a pilot scale two-stage diafiltration process. **Separation Science Technology** , 36 (4), 587-603, 2001.

BIRD, M. R.; BARTLETT, M. Measuring and modelling flux recovery during the chemical cleaning of MF membranes for the processing of whey protein concentrate. **Journal Food Engineering** , 53, 143-152, 2002.

BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. **Analytical** , 72, 248-254, 1976.

CHEANG, B.; ZYDNEY, A. Separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin using membrane ultrafiltration. **Biotechnology Bioeng** , 83, 2001–2009, 2003.

CHEANG, B.; ZYDNEY, A. L. A two-stage ultrafiltration process for fractionation of whey protein isolate. **Journal of Membrane Science** , 231, Journal of Membrane Science 231, 159–167, 2004.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**. Lancaster, Pennsylvania, USA: Technomic Publishing Company, 1986.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**. Illinois, Lancaster, USA: Technomic Publishing CO, 1998.

CHOI, S.; HAAM, S.; JUNG, J. K.; KIM, W. Modeling of the permeate flux during microfiltration of BSA adsorbed microspheres in stirred cell. **Journal Colloid Interface Science** , 228, 270-278, 2000.

CHOLLANGI, A.; HOSSAIN, M. M. Separation of proteins and lactose from dairy wastewater. **Chemical Engineering and Processing** , 46, 398 – 404, 2007.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e Práticas** - 2 ed. – Tradução: Oliveira, F. C. et al; Porto Alegre: Artmed, pp. 153 – 181, 2006.

GAREM, G.; DAUFIN, J. L.; MAUBOIS, J. L. Ionic interactions in nanofiltration of β – casein peptides, **Biotechnol. Bioeng.**, 54, 109, 1998.

GHOSH, R. **Protein bioseparation using ultrafiltration: theory; applications and new developments**. Imperial College Press, pp. 3 – 60, 2003.

- GUADIX, A.; SORENSEN, E.; PARAGEORGIU, L.; GUADIX, E. Optimal design operation of continuous ultrafiltration plants. **Journal of Membrane science** , 235, 131-138, 2004.
- HARBERT, A.; BORGES, C.; NÓBREGA, R. **Processos de separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-paper Serviços Editoriais, 2006.
- HERMIA, J. Constant pressure blocking filtration laws - Application to power law non-newtonian fluids. **Trans IChemE** , 60, 183-187, 1982.
- HOSSEINI, M.; SHOJAOSADATI, S. A.; TOWFIGHI, J. Application of a bubblecolumn reactor for the production of a single protein from cheese whey. **Ind. Engineering Chemistry Research** , 42, 764-766, 2003.
- HUFFMAN, L. M. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology** , 50 (2), 49-52, 1996.
- HUFFMAN, L. M.; HARPER, W. J. Maximizing the value of milk through separation technologies. **Journal of Dairy Science**, 82, 2238 – 2244, 1999.
- KELLY, P.; KELLY, J.; MEHRA, R.; OLDFIELD, D.; RAGGETT, E.; O’KENNEDY, B. Implementation of integrated membrane processes for pilot scale development of fractionated milk components. **Journal of Membrane Science** , 80, 139-153, 2000.
- KNIPSCHILDT, M. E.; ANDERSEN, G. G. **Drying and milk products**. In: R. Robinson, Modern Dairy Technology (2^ª ed., Vol. I). Great Britain: Chapman and Hall Publisher, 1994.
- KULMYRZAEV, A.; SCHUBERT, H. Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions. **Food Hydrocolloids** , 18, 13–19, 2004.
- LEWIS, M. J. Ultrafiltration, A. S. Gradison and M. J. Lewis, **Separation processes in the food and biotechnology industries: principles and application**, Technomic Publishing AGCO., England, cap 4, 1996.
- LEWIS, M. J. **Ultrafiltration of protein**. In Developments in Food Protein - vol.1 – Hudson, B. J. F. (ed.), Applied Science Publishers, London, pp. 91 – 130, 1982.
- LU, R. R.; XU, S. Y.; WANG, Z.; YANG, R. J. Isolation of lactoferrin from bovine colostrum by ultrafiltration coupled with strong cation exchange chromatography on a production scale. **Journal of Membrane Science** , 297, 152–161, 2007.
- LUCEMA, M., ALVAREZ, S.; MENÉNDEZ, C. Beta-lactoglobulin removal from whey protein concentrates production of milk derivatives as a base for infant formulas. **Separation and Purification Technology** , 52, 310–316, 2006.
- LUYBEN, L. **Process modeling, simulation and control for chemical engineers**. MCGraw Hill , pp. 725, 1989.
- MADUREIRA, A. R.; PEREIRA, C. I.; GOMES, A. M. P.; PINTADO M. E.; MALCATA, F. X. Bovine whey protein - overview on their main biological properties. **Food Research International**, 40, 1197 – 1211, 2007
- MARSHALL, A.; DAUFIN, G. Physico-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. IDF Special, In: Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes , **International Dairy Federation**. Belgium, 1995.

MATA, L.; SÁNCHEZ, L.; HEADON, D. R.; CALVO, M. Thermal denaturation of human lactoferrin and its effect on the ability to bind iron. **Journal Agric. Food Chem** , 46, pp. 3964 – 3970, 1998.

MAUBOIS, J. L.; OLLIVIER, G. Milk protein fractionation. In: IDF. Special Issue 9201: new applications of membranes. Brussels: **International Dairy Federation**, Brussels, cap 2, 1992

McDONOGH, R.; FANE, A.; FELL, C. Charge effect in the cross-flow filtration of colloids and particulates. **Journal Membrane Science** , 43, 69-85, 1989.

MILLER, G. (1959). **Analytical chemistry use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar**; vol. 31 – 3 Ed., 1959.

MILLIPORE CORPORATION, B. M. **A hands-on guide to ultrafiltration/diafiltration optimization using ellicon Cassettes**. [http://www.millipore.com/publications.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4eee/08773250551d1562852574e0007d4570/\\$FILE/an2700en00.pdf](http://www.millipore.com/publications.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4eee/08773250551d1562852574e0007d4570/$FILE/an2700en00.pdf). Acesso em 25 de julho de 2008.

MILLIPORE CORPORATION, B. M. **Protein concentration and diafiltration by tangential flow filtration**. <http://www.millipore.com>. Acesso em 25 de outubro de 2008.

MORR, C. Functionality of Heated Milk Proteins in Dairy and Related Foods. **Journal Dairy Science** , 68, 2773-2781, 1985.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. 564. Enschede, Netherlands: Center for membrane science and technology, University of Twente, 2000.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Netherlands: Kwer Academic Publishers, 1991.

MUTHUKUMARAN, S.; KENTISH, S.; LALCHANDANI, S.; ASHOKKUMAR, M.; MAWSON, R.; STEVENS, G. The optimisation of ultrasonic cleaning procedures for dairy fouled ultrafiltration membranes. **Ultrasonics Sonochemistry** , 12, 29-35, 2005.

NÓBREGA, R.; BORGES, C. P.; HABERT, A. C. **Processos de separação por membrana**. In: P. J. A. & K. V. B, Purificação de produtos biotecnológicos, pp. 37-88, São Paulo: Ed. Manole, 2005.

ORTERGAARD, B. **Applications of membrane processing in dairy industry**. Diarmuid MacCarthy; In: Concentration and Drying of Foods, 133-145. England: Elsevier Applied Science Publishers, 1989.

PARIS, J.; GUICHARDON, P.; CHARBIT, F. Transport phenomena in ultrafiltration: a new two-dimensional model compared with classical models. **Journal of Membrane Science** , 207, 43–58, 2002.

PAULSON, D.; WILSON, R.; SPATZ, D. Crossflow membrane technology and its applications. **Food Technology** , 38, 77-87, 1984.

PETRUS, J. **Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para a classificação de sucos de frutas** , Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos. (UNICAMP, Ed.) Campinas, São Paulo, 1997.

PORTER, M. C. **Handbook of industrial membrane technology**, Noyes Publications: New Jersey, pp. 173 – 174, 1990.

POULIOT, Y.; WIJERS, M.; GAUTHIER, S.; NADEAU, L. Fractionation of whey protein hydrolysates using charged UF/NF membranes. **Journal of Membrane Science** , 158, 105-114, 1999.

RABILLER-BAUDRY, M.; GESAN-GUIZIOU, G.; ROLDAN-CALBO, D.; BEAULIEU, S.; MICHEL, F. Limiting flux in skimmed milk ultrafiltration: impact eletrostatic repulsion due to casein micelles. **Desalination** , 175, 49-59, 2005.

SMITHERS, G. Review Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’ . **International Dairy Journal** , 18, 695– 704, 2008.

SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reúso**. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental - ABES, 2001. v. 1. 234 p.

SUBRAMANIAN, G. **Bioseparation and Bioprocessing** - vol. 2 - New York, USA, 1998.

VAN BOXTEM, A.; DAUFIN, G. **Fouling control the operation of membrane filtration (RO AND UF)**. (I. D. Federation, Ed.) IDF Special: Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes , cap 6, pp. 93-116, 1995.

WANG, Y.; RODGERS, V. Free-solvent model shows osmotic pressure is the dominant factor in limiting flux during protein ultrafiltration. **Journal of Membrane Science** , doi:10.1016/j.memsci.2008.04.014, 2008.

YEE, K.; WILEY, D. E.; BAOB, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science** , 290, 125–137, 2007.

ZYDNEY, A. L. Protein separations using membrane filtration: New opportunities for whey fractionation. **Int. Dairy Journal**, 8, 243 – 250, 1998.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)