

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Fracionamento dos Componentes do Soro de
Leite através da Tecnologia de Separação por
Membranas**

TESE DE DOUTORADO

Camila Baldasso

Porto Alegre

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Fracionamento dos Componentes do Soro de Leite através da Tecnologia de Separação por Membranas

Camila Baldasso

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor em Engenharia.

Área de concentração: Fenômenos de Transporte e
Operações Unitárias

Orientadores:

Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Tessaro – UFRGS/BR
Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira Marczak
UFRGS/BR

Orientadores estrangeiros:

Prof. Dr. João Bernardo Lares Moreira de
Campos – Universidade do Porto/PT
Dr. João Mário Miranda – Universidade do
Porto/PT

Porto Alegre

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese *Fracionamento dos Componentes do Soro de Leite através da Tecnologia de Separação por Membranas* elaborada por Camila Baldasso como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia.

Prof^a. Dra. Helen Treichel

Prof. Dra. Mara Zeni Andrade

Prof. Dr. Nilo Sérgio Medeiros Cardozo

Esta tese é dedicada a Antonio Roberto Baldasso: ao meu primeiro mestre, à pessoa que me disse desde quando eu tinha 6 anos de idade que a melhor herança que ele podia me deixar era a educação. Ele tinha toda razão!

Obrigada Pai!!!!

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einsten

Agradecimentos

Às Professoras Isabel e Ligia por toda confiança, orientação, compreensão e acima de tudo amizade desenvolvida, durante estes seis anos de pós-graduação. Que esta parceria perdure sempre!

À oportunidade concedida pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade do Rio Grande do Sul.

Aos Professores João Campos e João Miranda por compartilharem seus maravilhosos conhecimentos e experiências durante todo período de intercâmbio e pelo auxílio prestado até a atualidade.

Ao Centro de Estudos de Fenômenos de Transporte da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto pelo apoio e acolhimento na cidade do Porto.

Ao EBWII (*Erasmus Mundus*) por proporcionar-me a oportunidade única de ter conhecido o “Velho Mundo”.

À Capes pela oportunidade de aprimoramento científico.

Aos funcionários, técnicos e professores do Departamento de Engenharia Química da UFRGS pela cooperação e agilidade em todos os momentos, por poder encontrá-los todos os dias e por vocês me colocarem um sorriso no rosto sempre.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) e à Unidade de Química de Proteínas e Espectrometria de Massas (Uniprote-MS) do Centro de Biotecnologia da UFRGS por colaborarem com as análises de forma eficiente.

Aos bolsistas de Iniciação Científica que me acompanharam ao longo desta caminhada por toda colaboração e disponibilidade durante os inúmeros e intermináveis experimentos realizados: Tatiana Barros, Gabriel Ruver, Allan Morcelli, Gabriel Silveira e Adriano Soares.

Aos meus amigos, colegas e familiares pelo apoio, amizade e compreensão pela minha ausência durante a realização deste trabalho.

Aos amigos portugueses, com destaque a Sónia pela colaboração e paciência na execução das simulações numéricas.

E especialmente, agradeço por olhar a minha volta e ver essas pessoas que com apenas um sorriso me fazem viver: minha mãe (Tula), meu pai (Beto - *in memoriam*), meus irmãos (Gabi e Mano), minha sobrinha (Manu), meu noivo (Carlos Eduardo) e toda a família dele (muito minha também: Rubens, Nia e Carol). Vocês todos são o motivo do meu viver! Obrigada por este amor incondicional.

E, finalmente, agradeço a Deus por me dar a fé de crer no incrível, ver o invisível e realizar o impossível.

Resumo

O soro de leite é produzido indiretamente na produção de laticínios em grandes volumes, e na maioria das indústrias brasileiras é encarado como um efluente, que quando não tratado gera um sério problema ambiental. A identificação de alternativas para um adequado aproveitamento do soro de leite é de fundamental importância em função de sua qualidade, do seu volume e de seu poder poluente. Ao mesmo tempo, o processamento do soro em produtos diversos contribui para a melhoria do meio ambiente e proporciona ganhos às indústrias. O objetivo geral deste trabalho é a melhoria na utilização do soro de leite pelas indústrias de laticínios, desta forma, diminuir a poluição gerada por este setor e agregar valor ao subproduto da produção de queijo. Para alcançar esta meta, foram testados diferentes processos de separação com membranas (PSM) que podem ser utilizados isoladamente ou de modo combinado, para separar os diversos componentes do soro de leite, e, assim realçar as suas propriedades específicas. A partir de uma solução de soro de leite, tratada por ultrafiltração (UF) associada à diafiltração (DF) obteve-se duas correntes: o concentrado, com alto teor proteico, e o permeado, composto de lactose e sais. O permeado obtido na primeira etapa (UF/DF) foi tratado com sistemas de membranas (eletrodialise - ED) para obter uma fração rica em lactose, com baixas concentrações de sais. O objetivo é gerar um produto com elevada concentração e pureza de lactose, para ser utilizado em indústrias de alimentos, biotecnológica e farmacêutica. Diferentes soluções de eletrodos foram testadas para melhorar a eficiência do processo de ED. O efluente final, água e sais – oriundos da ED, foi tratado com osmose inversa (OI) visando a recuperação de água livre de sais e da corrente rica em sais no processo resultando desta forma em um descarte mínimo de efluentes. Ainda, foram realizados experimentos de fracionamento das proteínas de soluções de soro de leite reconstituído, *in natura* e concentrados proteicos. Esta etapa é conveniente, pois propriedades específicas das proteínas muitas vezes não são percebidas no soro e em concentrados proteicos, devido as interações de proteínas específicas com outros componentes. Paralelamente, estudos de simulação numérica do fracionamento das proteínas do soro do leite foram realizados com o intuito de verificar características do escoamento. Adicionalmente, foi necessária a caracterização das membranas por medidas de retenção, para compreensão de características das membranas de UF. Os resultados mostram que os processos de separação por membranas são adequados para o fracionamento dos componentes do soro de leite: cerca de 70% da proteína, 90% da lactose e 50% da água foram recuperados.

Abstract

Whey is indirectly produced in the manufacture of dairy products in large volumes, and most of the Brazilian industries still consider it as an effluent, when untreated causes a serious environmental problem. The identification of alternatives for a suitable use of whey has a fundamental importance because of its quality, volume and high organic load. At the same time, the processing of various whey products contributes to the improvement of the environment and provides gains to industries. The overall objective in this work is to improve the use of whey by the dairy industry, and this way, reduce pollution generated by this sector and add value to by-product of cheese production. To achieve this objective different processes of separation with membranes were tested, that can be used isolate or in combination, to separate the various components of whey in order to improve their specific properties. Since a solution of whey treated by ultrafiltration (UF) associated with diafiltration (DF) was obtained two streams: the concentrate: with high protein concentration and the permeate: consisting of lactose and salts. The permeate of the first stage (UF/DF) was treated with membrane systems (electrodialysis - ED) to obtain a fraction rich in lactose and lower salt concentrations. The objective is to generate a product with high purity and concentration of lactose, to be used in food, biotechnology and pharmaceutical industries. Different electrode solutions were tested to improve the efficiency of ED. The final effluent, water and salt (from the ED), was treated with reverse osmosis (RO) to recover free water of salts and a rich salts stream, and, consequently, minimize the generation of effluents. In addition, experiments were performed for the fractionation of whey proteins. For these were used solutions: reconstituted whey, fresh whey and whey protein concentrate. This step is necessary because the specific properties of proteins are not often perceived whey and protein concentrates, due to interactions of proteins with other components. In parallel, numerical simulation studies of the whey proteins fractionation were performed in order to determine flow characteristics. Additionally, it was necessary to characterize UF membranes by retention measures for understanding its characteristics. The results show that membrane separation processes are appropriate for the fractionation of whey components: about 70% protein, 90% lactose and 50% of water were recovered.

Sumário

Introdução	1
Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica	5
2.1 Soro de Leite	5
2.1.1 Lactose	8
2.1.2 Vitaminas e Sais minerais	8
2.1.3 Proteínas	9
2.2 Produtos Derivados do Soro de Leite	18
2.2.1 Processos de Recuperação dos Componentes do Soro de Leite	22
2.2.2 Fracionamento das Proteínas do Soro de Leite	24
2.3 Processos de Separação por Membranas (PSM)	27
2.3.1 Microfiltração, Ultrafiltração e Nanofiltração	29
2.3.2 Osmose Inversa (OI)	31
2.3.3 Eletrodíálise (ED)	31
2.4 Princípios e definições para os PSM	33
2.4.1 Fluxo Permeado e Permeabilidade Hidráulica	33
2.4.2 Seletividade	34
2.4.3 Fator de Concentração Volumétrico	35
2.5 Problemas que afetam os PSM	35
2.6 PSM aplicados aos Alimentos	41
2.6.1 PSM aplicados ao Leite e ao Soro de Leite	47
2.7 Considerações finais	66
Materiais e Métodos	69
3.1 Ultrafiltração - Concentração e purificação das proteínas	70
3.1.1 Solução teste	70
3.1.2 Membrana de UF	71
3.1.3 Equipamento	71
3.1.4 Metodologia	72
3.2 Eletrodíálise – Purificação da lactose	73
3.2.1 Solução teste	73
3.2.2 Soluções de eletrodos	73
3.2.3 Equipamento	74
3.2.4 Módulo de ED	74
3.2.5 Membranas de ED	75
3.2.6 Metodologia	76
3.2.6.1 Determinação da Corrente Limite	76
3.2.6.2 Testes de desmineralização variando sais e concentrações das soluções de eletrodos	76
3.2.6.3 Testes pra melhoria da eficiência do processo de ED (ED inversa, correção de pH)	77
3.2.6.4 Caracterização dos testes de ED	78
3.3 Osmose Inversa – Recuperação da água	79
3.3.1 Solução teste	79
3.3.2 Equipamento	80

3.3.3 Membranas de OI.....	81
3.3.4 Metodologia	82
3.4 Ultrafiltração - Fracionamento das proteínas do soro de leite	83
3.4.1 Soluções teste	83
3.4.2 Equipamento	84
3.4.3 Membrana de UF	84
3.4.4 Metodologia	84
3.5 Métodos Analíticos	86
3.5.1 Análise de Extrato Seco Total.....	86
3.5.2 Análise do Teor de Lactose.....	86
3.5.3 Determinação do Teor de Proteína Total	87
3.5.4 Análise de pH.....	87
3.5.5 Análise de Condutividade Elétrica.....	87
3.5.6 Determinação de Turbidez	88
3.5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura	88
3.5.8 Análise de proteínas através de MALDI-TOF MS	89
3.6 Reagentes Analíticos.....	90
Resultados e Discussão.....	91
4.1 Ultrafiltração - Concentração e purificação das proteínas	91
4.2 Eletrodialise – Purificação da lactose	99
4.2.1 Desmineralização da solução de permeado de soro de leite para diferentes soluções de eletrodos.....	99
4.2.2 Desmineralização do permeado do soro de leite com soluções de eletrodos de Sulfato de Potássio.....	118
4.2.3 Melhoria de eficiência do processo de ED: ED inversa e correção de pH	124
4.3 Osmose Inversa – Recuperação da água	132
4.4 Ultrafiltração - Fracionamento das proteínas do soro de leite	136
4.4.1 Compactação da membrana	137
4.4.2 Permeabilidade.....	138
4.4.3 Permeação das soluções de soro de leite.....	140
Análise Numérica do Fracionamento de Proteínas por Ultrafiltração.....	155
5.1 Aspectos teóricos	155
5.1.1 Transmissão e Seletividade.....	158
5.1.2 Teoria do filme	159
5.1.3 Transporte Difusivo e Convectivo através da Membrana.....	161
5.2 Método Numérico	164
5.2.1 Equações Governantes	164
5.2.2 Domínio Numérico, Convergência e Malha Numérica.....	167
5.2.3 Características e considerações do modelo	168
5.2.4 Condições de contorno	169
5.3 Características do Processo de Separação por Membranas.....	173
5.3.1 Propriedades do Concentrado Proteico do Soro.....	173
5.3.2 Descrição da Célula	176
5.3.3 Condições do Processo.....	178
5.4 Resultados e Discussão	178
5.4.1 Seletividades Real e Aparente Médias.....	179

5.4.2 Perfis de concentração e de velocidade ao longo da membrana	185
5.4.3 Seletividades real e aparente ao longo da membrana.....	190
5.4.4 Considerações finais	194
Conclusão e Sugestões	197
6.1 Conclusões	197
6.2 Sugestões para trabalhos futuros.....	199
Referências Bibliográficas	201
Apêndice A	217
A.1 Testes Preliminares - Estimativa do tamanho médio do poro	217
Caracterização das Membranas de UF	217
Soluções teste	217
Equipamento	218
Membrana de UF.....	220
Metodologia	222
Análise do Teor de Carbono Total	224
Resultados da Caracterização da Membrana de UF.....	224
Apêndice B	237
B.1 Métodos Analíticos	237
B.1.1 Análise de Extrato Seco Total - método gravimétrico	237
B.1.2 Análise de Lactose - Método do ácido dinitrossalicílico - DNS	238
B.1.3 Determinação da proteína total - Método de Lowry	239
Apêndice C	241
Dados Experimentais	241
C.1 UF - Concentração e purificação das proteínas.....	241
C.2 Eletrodialise.....	243
C.3 Osmose Inversa	264
C.4 Caracterização da membrana de UF.....	266
C.5 Fracionamento das proteínas do soro de leite.....	268
Apêndice D	277

Lista de Figuras

Figura 2.1: Variação da associação da β -Lg em função do pH: A) dímero, B) e C) octômeros (adaptado de RODRIGUES, 2001).....	11
Figura 2.2: Esquema simplificado de polarização por concentração em uma membrana catiônica no processo de ED.	37
Figura 2.3: Gráfico de densidade de corrente em uma curva corrente-potencial.	38
Figura 3.1: Representação esquemática dos procedimentos realizados neste trabalho. ..	70
Figura 3.2: Representação esquemática simplificada da unidade piloto de UF.....	71
Figura 3.3: Fotografia da unidade de bancada de eletrodialise.....	74
Figura 3.5: Membranas de ED, catiônica (esquerda) e aniônica (direita).	76
Figura 3.6: Representação esquemática do sistema de bancada de OI.	80
Figura 3.7: Esquema interno de um módulo de membrana espiral.	81
Figura 4.1: Fluxo permeado de água e de soro de leite <i>versus</i> pressão transmembrana para a membrana De UF, UF-6001, T=50 °C, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 3\%$	92
Figura 4.2: Fluxo permeado em função do fator de concentração volumétrico para a UF do soro reconstituído, membrana UF-6001, T=50 °C, $\Delta P=200 \text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	93
Figura 4.3: Concentração de sólidos totais das amostras de permeado e concentrado em função do tempo para a etapa de UF/DF, membrana UF-6001, T=50 °C, $\Delta P=200 \text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	95
Figura 4.4: Concentração de proteína das amostras de permeado e concentrado em função do tempo para a etapa de UF/DF, T=50 °C, $\Delta P=200 \text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	96
Figura 4.5: Concentração de lactose para as amostras de permeado e concentrado em função do tempo da etapa de UF/DF, T=50°C, $\Delta P=200 \text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	97
Figura 4.6: Densidade de corrente elétrica (corrente/área) em função da tensão nos testes de ED, para as soluções de eletrodos com condutividade elétrica de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio ± 4 a 5%	99
Figura 4.7: Condutividade elétrica da solução teste ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25 °C) em função do tempo nos testes de ED variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 6\%$	100
Figura 4.8: Gráfico de teor de sais da solução teste ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) em função da condutividade elétrica ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$); utilizado como padrão para cálculo do teor de sais do permeado – $R^2 = 0,9901$	102
Figura 4.9: Teor de sais da solução teste em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 6\%$	103
Figura 4.10: Fotografias das solução de eletrodos dos experimentos de ED	104
Figura 4.11: Fotografias do aspecto dos eletrodos ao final do experimento.	105
Figura 4.12: Condutividade elétrica da solução de eletrodos ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25 °C) em função do tempo nos testes de ED para diferentes soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$	106

Figura 4.13: pH da solução teste em função do tempo nos experimentos de ED variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm ⁻¹ Soluções utilizadas: CaCl ₂ , K ₂ SO ₄ , KCl, NaCl. Desvio padrão médio ± 4,6%.	107
Figura 4.14: pH da solução de eletrodos em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm ⁻¹ Soluções utilizadas: CaCl ₂ , K ₂ SO ₄ , KCl, NaCl. Desvio padrão médio ± 3,5%.	107
Figura 4.15: Fotografias do aspecto das membranas de ED após os experimentos com diferentes soluções de eletrodos: (A) CaCl ₂ , (B) NaCl, (C) KCl e (D) K ₂ SO ₄	109
Figura 4.16: Micrografia (MEV) das membranas catiônicas de ED obtidas a 10 kV com magnitude de 1200x. Vista superior: (1) membrana antes do experimento (2) CaCl ₂ , (3) NaCl, (4) KCl e (5) K ₂ SO ₄	112
Figura 4.17: Micrografias (MEV) das membranas aniônicas de ED obtidas a 10 kV com magnitude de 300x. Vista superior: (1) membrana antes do experimento (2) CaCl ₂ , (3) NaCl, (4) KCl e (5) K ₂ SO ₄	115
Figura 4.18: Resistência aparente em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm ⁻¹ Soluções utilizadas: CaCl ₂ , K ₂ SO ₄ , KCl, NaCl. Desvio padrão médio ± 4%.	117
Figura 4.19: Densidade de corrente elétrica (corrente/área) em função da tensão, nos testes de ED, para soluções de eletrodos de sulfato de potássio com diferentes condutividades elétricas inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm ⁻¹ . Desvio padrão médio: 5%.	119
Figura 4.20: Condutividade elétrica da solução teste (mS.cm ⁻¹ a 25 °C) em função do tempo, nos testes de ED para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm ⁻¹ . Desvio padrão médio ± 7%.	120
Figura 4.21: Condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm ⁻¹ a 25 °C) em função do tempo, nos testes de ED, para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio, variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm ⁻¹ . Desvio padrão médio ± 7%.	122
Figura 4.22: pH da solução de eletrodos em função do tempo, nos testes de ED para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio, variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm ⁻¹ . Desvio padrão médio ± 10%.	123
Figura 4.23: Condutividade elétrica da solução teste (mS.cm ⁻¹ a 25 °C) em função do tempo, com soluções de eletrodos de sulfato de potássio, com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm ⁻¹ , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão ± 3 a 8%.	125
Figura 4.24: Condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm ⁻¹ a 25 °C) em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm ⁻¹ , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0,5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0,5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio ± 6%.	126

Figura 4.25: pH da solução teste em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	128
Figura 4.26: pH da solução de eletrodos em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0,5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0,5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	129
Figura 4.27: Resistência aparente em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0,5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0,5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$	131
Figura 4.28: Fotografia da solução de sulfato de potássio ao final do experimento de ED com adição de ácido cítrico à solução de eletrodos	132
Figura 4.29: Fluxo permeado da solução teste em função do tempo para a membrana de OI, $T=30^\circ\text{C}$, $\Delta P=6 \times 10^5 \text{ Pa}$, vazão de alimentação média de $6,67 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 3\%$	133
Figura 4.30: Retenção observada da solução teste em função do tempo para a membrana de OI, $T=30^\circ\text{C}$, $\Delta P=6 \times 10^5 \text{ Pa}$, vazão de alimentação média de $6,67 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	134
Figura 4.31: Fluxo permeado de água para a membrana de OI em função da pressão transmembrana, $T=30^\circ\text{C}$. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	135
Figura 4.32: Retenção de NaCl para membrana de OI em função da pressão transmembrana, $T=30^\circ\text{C}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	135
Figura 4.33: Fluxo permeado médio de água em função do tempo para compactação das membranas UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$, $\Delta P=800 \text{ kPa}$	137
Figura 4.34: Fluxo permeado de água (reta) e de soro de leite em função da pressão transmembrana para membrana de UF, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro <i>in natura</i> pH6, N2 - soro <i>in natura</i> pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).	138
Figura 4.35: Fluxo permeado de água (antes do experimento – reta) e após os experimentos de filtração de soro, em função da pressão transmembrana para o sistema de UF, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro <i>in natura</i> pH6, N2 - soro <i>in natura</i> pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).	140
Figura 4.36: Fluxo permeado das soluções de soro de leite em função do tempo para o sistema de UF, membrana UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$, $\Delta P=200 \text{ kPa}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro <i>in natura</i> pH6, N2 - soro <i>in natura</i> pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).	141

Figura 4.37: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) R1C4 b) R1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	145
Figura 4.38: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) R2C4 b) R2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	146
Figura 4.39: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) N1C4 b) c)N1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	148
Figura 4.40: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) N2C4 b) N2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	149
Figura 4.41: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) W1C4 b)W1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	150
Figura 4.42: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) W2C4 b) W2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	151
Figura 5.1: Representação esquemática do modelo do filme polarizado para o processo de separação por membranas com escoamento tangencial	160
Figura 5.2: Representação esquemática do domínio numérico.	167
Figura 5.3: Dimensões da malha para o caso em estudo.	168
Figura 5.4: Viscosidade do CPS (Pa.s) em função da concentração de proteína total (kg.m^{-3}). Adaptado de JELEN (1979).	175
Figura 5.5: Representação esquemática do módulo de UF.....	176
Figura 5.6: Representação esquemática do canal de escoamento da célula de membranas.	177
Figura 5.7: Seletividade aparente <i>versus</i> pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento de soluções: B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $\text{Re} = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta\text{Lg}}^{\text{in}} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha\text{La}}^{\text{in}} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $\text{Pe}_{\beta\text{Lg}} = 4,22 \times 10^7$ e $\text{Pe}_{\alpha\text{La}} = 2,39 \times 10^7$	179
Figura 5.8: Seletividade real e seletividade aparente <i>versus</i> pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento da solução B1-A (β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) para $\text{Re} = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta\text{Lg}}^{\text{in}} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha\text{La}}^{\text{in}} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $\text{Pe}_{\beta\text{Lg}} = 4,22 \times 10^7$ e $\text{Pe}_{\alpha\text{La}} = 2,39 \times 10^7$	180
Figura 5.9: Seletividade real e seletividade aparente <i>versus</i> pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento da solução B2-A (β -Lg (B2 – dímero) e α -La (A)) para $\text{Re} = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta\text{Lg}}^{\text{in}} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha\text{La}}^{\text{in}} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $\text{Pe}_{\beta\text{Lg}} = 4,22 \times 10^7$ e $\text{Pe}_{\alpha\text{La}} = 2,39 \times 10^7$	181
Figura 5.10: Retenção real <i>versus</i> pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções: B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $\text{Re} = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta\text{Lg}}^{\text{in}} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha\text{La}}^{\text{in}} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $\text{Pe}_{\beta\text{Lg}} = 4,22 \times 10^7$ e $\text{Pe}_{\alpha\text{La}} = 2,39 \times 10^7$	182

- Figura 5.11:** Concentração na superfície da membrana e no permeado para o componente A *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e 183
- Figura 5.12:** Concentração na superfície da membrana e no permeado para os componentes B1 e B2 *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ 184
- Figura 5.13:** Concentração na superfície da membrana para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg - monômero) B2 (β -Lg – dímero) e *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 186
- Figura 5.14:** Concentração na superfície da membrana para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg - monômero) B2 (β -Lg – dímero) e *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 186
- Figura 5.15:** v_m *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 188
- Figura 5.16:** Linhas de Re na região próxima a membrana para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re_0 = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 189
- Figura 5.17:** Seletividade aparente e real para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg monômero) *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 190
- Figura 5.18:** Seletividade aparente e real para os componentes A (α -La) e B2 (β -Lg dímero) *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$ 191
- Figura 5.19:** Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componente A (α -La) *versus* comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma

solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$	193
Figura 5.20: Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componentes B1 (β -Lg monômero) <i>versus</i> comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$	193
Figura 5.21: Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componente B2 (β -Lg –dímero) <i>versus</i> comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$	194
Figura A.1: Fotografia do equipamento utilizado para os testes de caracterização da membrana.	218
Figura A.2: Representação esquemática do sistema de bancada de UF. Legenda: (1) banho termostático, (2) tanque de alimentação, (3) bomba de engrenagens, (4) pré-filtro, (5) módulo para membrana, (P1) e (P2) manômetros.	219
Figura A.3: Fotomicrografia da membrana UF30 obtida a 10 kV com magnitude de 200x Vista lateral.	221
Figura A.4: Fotomicrografia da membrana UF30 obtida a 20 kV com magnitude de 2000x Vista superior.	221
Figura A.5: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana, UF30, $V_0 = 0,5 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$	225
Figura A.6: Fluxo permeado das soluções de PEG ($0,5 \text{ kg.m}^{-3}$) em função da pressão transmembrana, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$	226
Figura A.7: Retenção observada em função da pressão transmembrana; membrana UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$	228
Figura A.8: Curvas de $(\ln((1-\text{Robs})/\text{Robs}))$ em função do fluxo permeado, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$	229
Figura A.9: Gráfico de massa molar de corte da membrana UF30, retenção intrínseca em função da massa molar de PEG.	230
Figura A.10: Gráfico de retenção observada em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados para diferentes malhas.	232
Figura A.11: Gráfico de fluxo hidráulico em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados.	234
Figura A.12: Gráfico de retenção observada em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados.	234
Figura C.1: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	272
Figura C.2: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	273

Figura C.3: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	274
Figura C.4: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.....	275

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Concentração dos componentes no leite.	6
Tabela 2.2: Distribuição média dos componentes do leite no coalho e no soro... ..	6
Tabela 2.3: Faixa de valores da composição do soro de leite doce.....	7
Tabela 2.4: Quantidades médias de vitaminas e minerais em 100 g de soro em pó.	9
Tabela 2.5: Propriedades e concentração das proteínas do soro de leite.	10
Tabela 2.6: Concentrações de aminoácidos essenciais na proteína de referência (mg de aminoácido/g de proteína), nas proteínas do soro, na β -Lg e na α -La.	16
Tabela 2.7: Valores que representam a qualidade nutricional do leite e das suas frações proteicas.....	17
Tabela 2.8: Características dos principais produtos derivados do soro de leite.....	19
Tabela 2.9: Principais propriedades funcionais que os concentrados proteicos conferem aos alimentos e o setor alimentar envolvido.	21
Tabela 2.10: Composição proteica de frações industriais de α -La e β -Lg.....	24
Tabela 2.11: PSM relacionados pelo tamanho de poros das membranas e respectivas pressões de operação.	28
Tabela 3.1: Sais testados no compartimento dos eletrodos no processo de desmineralização do soro de leite, fabricante e valor comercial.....	73
Tabela 3.2: Reagentes utilizados, fórmula, grau de pureza e fornecedor.	90
Tabela 4.1: Concentrações médias de proteína, lactose e sais, para o soro reconstituído, o concentrado proteico e o permeado do soro.....	98
Tabela 4.2: Medidas de turbidez média das soluções de eletrodos.....	104
Tabela 4.3: Porcentagem de desmineralização em tempos diferentes do experimento de ED, para as diferentes condutividades elétricas iniciais da solução de K_2SO_4	120
Tabela 4.4: Quantidade de solução alcalina/ácida adicionada ao experimento para alterar o pH das soluções na faixa de neutralidade.	127
Tabela 4.5: Resumo dos dados do processo de UF, incluindo teor de sólidos totais, proteína, lactose, gordura, sais, condutividade elétrica, pH para as amostras de concentrado e permeado dos processos de fracionamento das proteínas do soro utilizando a membrana UF30, T= 30 °C, ΔP = 200 kPa.	143
Tabela 5.1: Coeficientes de expansão a_n e b_n para funções hidrodinâmicas K_s e K_t da Equação 5.21.	163
Tabela 5.2: Condições de contorno na superfície da membrana para um componente genérico.	172
Tabela 5.3: Massa molar, raio molecular, difusividade mássica, concentração e porcentagem mássica das principais proteínas do soro.....	174
Tabela 5.4: Características do módulo utilizado nos experimentos.	177
Tabela 5.5: Número adimensionais aplicados ao problema em estudo.	178
Tabela A.1: Características dos PEG utilizados para os testes de caracterização das membranas	218
Tabela A.2: Massas molares de corte da membrana utilizada nos experimentos de caracterização.....	220
Tabela A.3: Valores dos números adimensionais para as condições experimentais e para as soluções de PEG.	223

Tabela A.4: Retas obtidas do gráfico de retenção observada em função do fluxo permeado e Retenção intrínseca(calculada) da membrana em função das massas molares de PEG.	230
Tabela A.5: Resumo dos dados das simulações numéricas realizadas para estimativa do tamanho do poro.....	232
Tabela A.6: Resumo dos dados das simulações numéricas realizadas para estimativa do tamanho do poro.....	233
Tabela C.1: Dados de fluxo médio de água em função da ΔP , para as membranas UF-6001a 50 °C.....	241
Tabela C.2: Dados de fluxo médio de soro de leite em função da ΔP , para a membrana UF-6001, a 50 °C e vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	241
Tabela C.3: Dados detalhados do processo de UF/DF, incluindo teor de sólidos totais, proteína, lactose, condutividade elétrica, pH para as amostras de concentrado e permeado monitoradas conforme o tempo e etapa dos processos de concentração e purificação do soro utilizando a membrana UF-6001, T= 50 °C, ΔP = 200 kPa e vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	242
Tabela C.4: Dados de corrente elétrica (A) e tensão elétrica (V) para as soluções de eletrodos CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl (condutividade elétrica de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$). Desvio padrão médio = ± 4 a 5%.	243
Tabela C.5: Dados de condutividade elétrica da solução teste ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25 °C) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl) e respectivas duplicatas.	243
Tabela C.6: Dados de pH da solução teste em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl) e respectivas duplicatas.....	244
Tabela C.7: Dados de condutividade elétrica da solução de eletrodos ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25 °C) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl) e respectivas duplicatas.....	245
Tabela C.8: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl) e respectivas duplicatas.....	246
Tabela C.9: Média dos dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl). Desvio padrão médio $\pm 4\%$	247
Tabela C.10: Média dos dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl). Desvio padrão médio $\pm 4\%$	248
Tabela C.11: Média dos dados de teor de sais da solução teste ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl, NaCl). Desvio padrão máximo $\pm 3\%$	249
Tabela C.12: Dados de corrente elétrica (A) e tensão elétrica (V) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica variáveis de 3; 6; 12 e $18 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$	250

Tabela C.13: Dados de condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1}	250
Tabela C.14: Dados de pH da solução teste em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} e para respectivas duplicatas (desvio padrão médio $\pm 3,8\%$)......	251
Tabela C.15: Dados de de condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1}	252
Tabela C.16: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} (desvio padrão médio $\pm 12\%$).	253
Tabela C.17: Média dos dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} . Desvio padrão médio $\pm 4\%$	254
Tabela C.18: Média dos dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} . Desvio padrão médio $\pm 4\%$	255
Tabela C.19: Média dos dados de teor de sais na solução teste (kg.m^{-3}) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1}	256
Tabela C.20: Dados de condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos.....	257
Tabela C.21: Dados médios de pH da solução teste em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	258
Tabela C.22: Dados de condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos K_2SO_4 com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	259
Tabela C.23: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) com soluções de eletrodos K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$	260
Tabela C.24: Dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$	261

Tabela C.25: Dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$	262
Tabela C.26: Dados de teor de sais na solução teste (kg.m^{-3}) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 6\%$	263
Tabela C.27: Dados de teor de sais (kg.m^{-3}) em função da condutividade elétrica (mS.cm^{-1}) para a solução teste.	263
Tabela C.28: Dados de condutividade elétrica do permeado e retido, temperatura, retenção e fluxo permeado em função do tempo para solução teste utilizada na OI.....	264
Tabela C.29: Permeabilidade hidráulica da membrana de OI, antes do experimento, após o experimento e após a limpeza em função da pressão transmembrana.....	264
Tabela C.30: Retenção de NaCl (2 kg.m^{-3}) antes do experimento com a solução teste, após o experimento com a solução teste e após a limpeza química, em função da pressão transmembrana.	265
Tabela C.31: Dados de condutividade elétrica do permeado e retido, temperatura, retenção e fluxo permeado em função do tempo para solução teste utilizada na OI (duplicata).	265
Tabela C.32: Permeabilidade hidráulica da membrana de OI, antes do experimento, após o experimento e após a limpeza em função da pressão transmembrana (duplicata).	265
Tabela C.33: Retenção de NaCl (2 kg.m^{-3}) antes do experimento com a solução teste, após o experimento com a solução teste e após a limpeza química, em função da pressão transmembrana (duplicata).	266
Tabela C.34: Fluxo de água, antes e após os experimentos com as soluções de PEG (em triplicata) para a membrana UF30, $T= 293\text{K}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$	266
Tabela C.35: Dados de teor de carbono das amostras de concentrado e de permeado, retenção e fluxo permeado das soluções de PEG em função da pressão para a membrana UF30, $T= 300\text{K}$	267
Tabela C.36: Dados de compactação das membranas UF30 utilizadas para o fracionamento das proteínas do soro de leite, $T= 300\text{K}$, $\Delta P=800 \text{ kPa}$	268
Tabela C.37: Dados de permeabilidade hidráulica da membrana de UF30 antes do experimento e permeabilidade do soro para cada solução testada.	268
Tabela C.38: Permeabilidade hidráulica da membrana de UF após o experimento de permeação do soro de leite.	269
Tabela C.39: Dados de permeação do soro de leite das membranas UF30 utilizadas para o fracionamento das proteínas do soro de leite, $T= 300\text{K}$, $\Delta P=200 \text{ kPa}$	269

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Notações

PSM	processos de separação por membranas
α -La	α -lactoalbumina
β -Lg	β -lactoglobulina
BSA	albumina do soro bovino
CPS	concentrado proteico de soro
DBO	demanda bioquímica de oxigênio
DF	diafiltração
ED	eletrodíalise
FCV	fator de concentração volumétrico
Ig	imunoglobulina
IPS	isolado proteico de soro
MM	massa molar
MF	microfiltração
MMC	massa molar de corte
NF	nanofiltração
NPN	nitrogênio não protéico
OI	osmose inversa
PEG	polietilenoglicol
pI	ponto isoeletrico
ST	sólidos totais
UF	ultrafiltração
A	área da membrana
R	amostras de soro de leite reconstituído
N	amostras de soro de leite <i>in natura</i>
W	amostras de concentrado proteico de soro comercial
a_n	coeficientes de expansão para cálculo da função hidrodinâmica K_i^t
b_n	coeficientes de expansão para cálculo da função hidrodinâmica K_i^s

C_p	concentração de proteína
C_i	concentração do componente i
c_i	concentração normalizada do componente i
C_i^{in}	concentração do componente i na solução de alimentação
C_i^m	concentração do componente i na superfície da membrana
c_i^m	concentração normalizada do componente i na superfície da membrana
$\overline{C}_i^m$	concentração média do componente i na superfície da membrana
$\overline{c}_i^m$	concentração média normalizada do componente i na superfície da membrana
C_i^p	concentração do componente i no permeado
c_i^p	concentração normalizada do componente i no permeado
$\overline{C}_i^p$	concentração média do componente i no permeado
$\overline{c}_i^p$	concentração média normalizada do componente i no permeado
$\overline{C}_m$	concentração média do componente i na superfície da membrana
D_i	difusividade molecular do componente i
$D_{i,\infty}$	difusividade molecular intrínseca do componente i
$D_{i,eff}$	Difusividade molecular efetiva do componente i
d_h	diâmetro hidráulico
DR	razão de desmineralização
$\frac{dV}{dt}$	variação do volume com tempo
E_p	extração percentual dos sais da solução teste
H	distância entre placas paralelas
i	corrente elétrica
J_p	fluxo permeado
K_i^c	coeficiente de transporte convectivo do componente i
K_i^d	coeficiente de transporte difusivo do componente i
K_i^t	função hidrodinâmica para cálculo dos coeficientes de transporte do componente i
K_i^s	função hidrodinâmica para cálculo dos coeficientes de transporte do componente i
ke	condutividade elétrica

ke_0	condutividade elétrica inicial da solução
ke_t	condutividade elétrica da solução no tempo t
L_{out}	comprimento da seção de saída
L_{in}	comprimento da seção de entrada
L_m	comprimento total da membrana
L	comprimento total da célula
L_p	permeabilidade hidráulica
m	número de nodos verticais
M_0	massa de sais no tempo 0
M_t	massa de sais no tempo t
n	número de nodos horizontais
N_i	fluxo total do componente i
ni_m	número de nodos longitudinais na superfície da membrana
n_m	número de pares de membrana
ΔP	pressão transmembrana
R_{ap}	resistência aparente
R_i	retenção real do componente i
R_{obs}	retenção observada do componente i
r_i^*	raio molecular equivalente do componente i
R_m	resistência da membrana
S_i	coeficiente de separação real do soluto i
S_{ap_i}	coeficiente de separação aparente do soluto i
$S_{i,\infty}$	coeficiente de separação assintótico intrínseco
s	área específica dos poros
t	tempo
T	temperatura
V	tensão elétrica
V^{in}	volume inicial
V^R	volume do retido
V^p	volume de permeado
V_0	velocidade média da solução na entrada

V_m	velocidade do permeado
v_m	velocidade de permeado normalizada
$\bar{V}_m$	velocidade média de permeado
$\bar{v}_m$	velocidade média de permeado normalizada
V_x	componente horizontal da velocidade
v_x	componente horizontal da velocidade normalizada
V_z	componente vertical da velocidade
v_z	componente vertical da velocidade normalizada
X	coordenada horizontal
ΔX	distância entre dois nodos horizontais consecutivos
x	coordenada horizontal normalizada
x_i	fração mássica do componente i
Z	coordenada vertical
ΔZ	distância entre dois nodos verticais consecutivos
z	coordenada vertical normalizada
W	largura da célula

Números adimensionais

Pe	número de Peclet
Re	número de Reynolds
Sc	número de Schmidt

Símbolos Gregos

π_i	pressão osmótica do componente i
π_i^m	pressão osmótica do componente i na superfície da membrana
π_i^p	pressão osmótica do componente i no fluxo permeado
$\Delta\pi_i$	contribuição do componente i na pressão osmótica através da membrana
Ψ	função das linhas de corrente
ω	vorticidade
ρ	densidade
μ	viscosidade dinâmica
$\bar{\mu}$	viscosidade dinâmica média
μ_p	viscosidade da corrente de permeado

Φ_i	$\ln(c_i)$
ϕ_i^p	constante de proporcionalidade representando o coeficiente de partição de equilíbrio
σ_{ap}	seletividade aparente
$\sigma_{ap}^{\max}$	seletividade aparente máxima
σ	seletividade real
δ_m	espessura da membrana
λ_i	constante dependente do raio molecular equivalente do componente i

Capítulo 1

Introdução

O soro de leite é produzido indiretamente na produção de queijo em volumes elevados, e, na maioria das indústrias brasileiras, é encarado como um efluente, que quando não tratado gera um sério problema ambiental.

O fracionamento do soro em lactose e proteínas representa uma alternativa que permite a utilização dos constituintes de maior importância comercial, presentes neste subproduto.

O desenvolvimento de técnicas de fracionamento, de modificação e de preservação das proteínas do soro pode contribuir para a recuperação desse nutriente, assim como melhorar a expressão de suas propriedades. Devido à quantidade de aminoácidos essenciais e da elevada qualidade proteica, as proteínas do soro podem aumentar o valor nutricional dos alimentos consumidos na dieta humana. Além disto, as proteínas do soro possuem propriedades funcionais versáteis quando utilizadas como ingredientes em produtos alimentícios.

Entretanto, a manufatura de concentrados de proteínas do leite não resolve o problema da utilização do soro porque o permeado ainda contém uma grande quantidade de lactose e de sais, caracterizando uma elevada carga orgânica, assim, um tratamento adicional ou o reuso do permeado é necessário.

Os minerais de leite podem ser utilizados para fortificação de alimentos e bebidas com cálcio. A lactose, por ser fonte de material energético, pode ser aproveitada para

diversos processos biotecnológicos, como componente utilizado nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos.

O objetivo geral deste trabalho foi melhorar a utilização do soro de leite pelas indústrias de laticínios, agregar valor ao subproduto da produção de queijo, e consequentemente, diminuir a poluição gerada por este setor. Para alcançar esta meta, foram testados diferentes processos de separação com membranas que podem ser utilizados isoladamente ou de modo combinado, para separar os diversos componentes do soro de leite de forma a realçar as suas propriedades específicas.

A partir de uma solução de soro de leite, tratada por ultrafiltração associada à diafiltração obteve-se duas correntes: o concentrado (retido), com alto teor proteico e o permeado, composto de lactose e sais.

O permeado obtido na primeira etapa do trabalho foi, tratado com sistemas de membranas, eletrodialise, para obter uma fração rica em lactose, com baixas concentrações de sais. O objetivo é gerar um produto com elevada concentração e pureza de lactose, e, portanto, baixa concentração salina, para ser utilizado em indústrias de alimentos, biotecnológica e farmacêutica.

O efluente final dos processos citados anteriormente (água e sais) é tratado com osmose inversa visando à recuperação de água livre de sais e da corrente rica em sais no processo resultando desta forma em um descarte mínimo de efluentes.

Ainda, foram realizados testes de fracionamento de proteínas com soluções de soro de leite reconstituído, soro *in natura* e concentrado proteico do soro. Esta etapa é interessante, pois propriedades específicas das proteínas do soro muitas vezes não são percebidas nos concentrados proteicos, devido às interações das proteínas com outros componentes. O estudo do fracionamento das proteínas foi realizado experimentalmente através do uso de membranas de ultrafiltração. Ainda, fez-se uso de recursos numéricos para simular o fracionamento de proteínas e assim, estudar características de escoamento como seletividade, retenção e camada limite. Adicionalmente, a caracterização das membranas foi necessária, e através de medidas de retenção associadas a estudos numéricos, estimou-se o tamanho dos poros.

O reuso das águas provenientes de processos produtivos torna-se importante para a realidade das indústrias, em função da legislação ambiental, cada vez mais restritiva, dos altos custos envolvidos com o consumo de água e dos impactos gerados pelo descarte incorreto. Assim, a busca por soluções para reciclar e reaproveitar os recursos hídricos implica na necessidade de redução da descarga dos efluentes líquidos. Há a necessidade de uma gestão permanente dos resíduos provenientes das etapas de processamento de matérias-primas e fabricação do produto final, e adequação das técnicas de tratamento de efluentes líquidos às características dos resíduos gerados a fim de reduzir o impacto ambiental dessas atividades.

Portanto, o processamento do soro em produtos diversos diminui os gastos com o tratamento de efluentes, contribui para a melhoria do meio ambiente e proporciona ganhos às indústrias. Identificar alternativas para um adequado aproveitamento do soro de leite é de fundamental importância em função da sua qualidade nutricional e funcional, do seu volume e de seu poder poluente.

Todos esses fatores, associados ao desenvolvimento e disseminação dos processos de separação com membranas nas indústrias, justificam o estudo do tema.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

Neste capítulo é apresentada uma revisão da literatura sobre as características do soro de leite, fundamentos teóricos sobre os Processos de Separação com Membranas (PSM), e os fatores que afetam a eficiência destes processos. Ainda, é realizada uma revisão de trabalhos publicados nos últimos anos sobre a utilização dos PSM na indústria alimentícia e especialmente sobre o aproveitamento do soro de leite através dos processos de separação por membranas.

2.1 Soro de Leite

O soro de leite representa a porção aquosa do leite que se separa do coágulo durante a fabricação convencional de queijos ou da caseína. É um líquido quase opaco e com cor amarela-esverdeada, que contém aproximadamente metade dos sólidos do leite (ZADOW, 1992).

O soro é proveniente das operações de corte, agitação, aquecimento, enformagem e prensagem da produção de queijo. Em média, 10 litros de leite produzem cerca de 1 quilograma de queijo e 9 litros de soro e, dependendo das técnicas utilizadas na produção e da fase de lactação do animal, podem ser produzidos até 12 litros de soro (NEVES, 2001).

A composição e a concentração de cada componente no leite podem ser observadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Concentração dos componentes no leite.

Componentes	Concentração (%)
Sólidos totais (ST)	12,9
Caseínas	2,6
Proteínas do soro	0,7
Gordura	4,0
Lactose	4,6
Minerais	0,7
Outros	0,3

Fonte: adaptado de MILLER *et al.* (2000); BRANS *et al.* (2004).

O leite é composto de proteínas (caseínas e proteínas do soro), lactose, gordura, minerais, entre outros componentes, como nitrogênio não proteico (NPN). Observa-se que os componentes em maior quantidade no leite são a lactose, a gordura e a caseína. Na Tabela 2.2 apresenta-se a distribuição dos componentes do leite no soro e no coalho (o somatório dos componentes é feito por linha).

Tabela 2.2: Distribuição média dos componentes do leite no coalho e no soro (* percentual mássico médio).

Componentes do Leite	Coalho (%)*	Soro (%)*
Água	6	94
Sólidos totais	48	52
Caseínas	96	4
Proteínas do soro	4	96
Gordura	94	6
Lactose	6	94
Minerais	62	38

Fonte: adaptado de MILLER *et al.* (2000).

Observa-se na Tabela 2.2 que no queijo permanecem as caseínas e a gordura, que são à base do coalho. As proteínas do soro se diferenciam da caseína porque não coagulam na presença de ácidos e nem com a ação de enzimas (como a quimosina e a renina). Portanto, durante a coagulação das caseínas juntamente com a gordura (formação do coalho) as proteínas do soro e boa parte da lactose permanecem em solução (SGARBIERI, 1996).

Também é possível observar na Tabela 2.2 que no soro permanecem em média 52% dos sólidos totais, 94% da lactose, 96% das proteínas solúveis e 38% dos minerais do leite. Essa elevada concentração de nutrientes no soro justifica que esse produto possa

ser utilizado como fonte de matéria-prima, e, por isso, está despertando o interesse das indústrias.

Há dois tipos básicos de soro fluido - o doce e o ácido - que variam de acordo com o tipo de queijo produzido. Neste trabalho é dado enfoque ao soro doce, pois foi o utilizado para realização dos experimentos, além do mais, a maior parte dos produtos de soro encontrados no mercado, é derivada deste tipo de soro (MILLER *et al.*, 2000). YADA (2004) estimou que aproximadamente 94% do soro industrializado nos Estados Unidos era proveniente do soro doce.

O soro doce é proveniente da manufatura de queijos amadurecidos duros, semi-duros ou macios (Cheddar, Suíço, Provolone, Mussarela). A desestabilização das micelas de caseína é realizada por via enzimática em pH maior do que 5,6. O pH do soro doce é ligeiramente menor do que o do leite fresco, varia de 5,9 a 6,6. (ZADOW, 1992; MILLER *et al.*, 2000). A composição aproximada do soro de leite doce é apresentada na Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Faixa de valores da composição do soro de leite doce.

Componente	Soro de leite doce (%)*
Água	93-95
Sólidos Totais (ST)	5,5-6,5
Proteína	0,7-1,2
Gordura	0,04-0,05
Lactose	3,8-5,0
Cinzas	0,5-0,8
NPN	0,15-0,18

* Percentual mássico

Fonte: adaptado de MILLER *et al.* (2000); BYLUND (1995); YADA (2004).

O soro possui em média 6% de sólidos totais. A fração de NPN inclui alguns componentes de baixa massa molar como uréia (30% do NPN), amônia, ácido úrico, creatinina, aminoácidos e produtos de degradação enzimática das caseínas (PEREIRA, 2002). As características mostradas na Tabela 2.2 podem variar, pois as concentrações dos componentes do leite apresentam variações sazonais, e dependem também da raça do rebanho, do tipo de tratamento a que o leite foi submetido (aquecimento, centrifugação, homogeneização). Além disso, o processo de fabricação de queijo e o tratamento que o soro sofre após estar separado do coalho (pasteurização, pré-concentração e remoção de partículas de caseína) também influenciam nas suas características finais. O conteúdo em

gordura pode variar dependendo do tipo de leite usado e do processo de fabricação de queijo (ZADOW, 1992).

Devido a sua importância nos processos de separação, as características dos principais componentes presentes no soro serão apresentadas com maiores detalhes nas seções a seguir.

2.1.1 Lactose

A lactose é o carboidrato característico do leite, é um dissacarídeo formado de galactose e glicose, que no leite cru é responsável por 40% do total de sólidos, e nos leites desengordurados corresponde a 54% dos sólidos totais. No soro é o composto sólido em maior quantidade em torno de 70% em base seca (MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003).

Este açúcar é encontrado no leite de todos os mamíferos, em diferentes teores e é responsável por seu sabor levemente adocicado. É essencialmente produzido por secreções mamárias e é sintetizado da glicose absorvida pelo sangue. A concentração de lactose no leite e no soro de leite varia amplamente entre as espécies. O conteúdo de lactose do leite bovino varia com a raça, fator de individualidade e especialmente devido à fase de lactação do animal (FOX e MCSWEENEY, 1998).

2.1.2 Vitaminas e Sais minerais

O soro contém também a maioria das vitaminas presentes no leite (e solúveis em água), como a vitamina B₁₂, a vitamina B₆, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina, vitamina C, vitamina A. As quantidades destes compostos presentes no soro de queijo estão apresentadas na Tabela 2.4 (MILLER *et al.*, 2000).

Os sais minerais do leite são principalmente fosfatos, citratos, cloretos, sulfatos, carbonatos, bicarbonato de sódio, potássio, cálcio e magnésio. São encontrados aproximadamente 20 outros elementos no leite em quantidades menores, inclusive cobre, ferro, silício, zinco e iodo. Os elementos principais são de importância para a nutrição, na preparação, processamento e armazenamento de produtos de leite devido à influência na conformação e estabilidade das proteínas do leite (FOX e MCSWEENEY, 1998; BYLUND, 1995). O soro e os concentrados de soro são primorosas fontes de cálcio, potássio, magnésio e fósforo, como pode ser observado na Tabela 2.4.

Tabela 2.4: Quantidades médias de vitaminas e minerais em 100 g de soro em pó.

Constituinte	Quantidade
<i>Vitaminas</i>	
Vitamina A (mcg)	44
Vitamina C (mg)	1,5
Vitamina E (mg)	0,03
Vitamina B ₁ (mg)	0,5
Vitamina B ₂ (mg)	2,2
Vitamina B ₆ (mg)	0,6
Vitamina B ₁₂ (mcg)	2,4
Ácido pantotênico (mg)	5,6
Niacina (mg)	1,3
<i>Minerais</i>	
Cálcio (mg)	796
Fósforo (mg)	931
Sódio (mg)	1079
Potássio (mg)	2080
Magnésio (mg)	176
Zinco (mg)	1,97

Fonte: adaptado de MILLER *et al.* (2000).

2.1.3 Proteínas

A quantidade de proteínas encontradas no soro varia de 0,7 a 1,2 % e equivale à cerca de 20 a 25 % do total de proteínas encontradas no leite. A fração proteica do soro contém um grupo de proteínas globulares: β -lactoglobulina (β -Lg), α -lactoalbumina (α -La), Albumina do soro bovino (BSA), Imunoglobulinas (Ig), Lactoferrina, Lactoperoxidase, Glicomacropeptídeos, Proteose-peptonas, entre outras.

A Tabela 2.5 apresenta as propriedades das proteínas do soro, tais como: a massa molar, ponto isoelétrico e a faixa de concentrações no soro. As proteínas do soro em maior concentração são a β -Lg e α -La, elas constituem de 70 a 80% das proteínas totais do soro (MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003).

As características das proteínas do soro do leite são abordadas a seguir.

Tabela 2.5: Propriedades e concentração das proteínas do soro de leite.

Proteína	Massa molar (kDa)	Ponto isoelétrico	Concentração (kg.m ⁻³)
β-Lg	18,3	5,2	2,0-4,0
α-La	14,1	4,2 - 4,8	0,6-1,7
BSA	69,0	4,7 - 4,9	0,1-0,4
Ig	15,0 – 160,0	5,5 - 8,3	0,6-1,0
Proteose-Peptonas	4,1 – 80,0	3,3 - 3,7	1,4
Lactoferrina	78,0	9	0,1
Lactoperoxidase	89,0	9,5	0,02
Glicomacropeptídio	7,0	-	0,01

Fonte: adaptada de MILLER *et al.* (2000); ZYDNEY (1998).

β-Lactoglobulina (β-Lg)

A proteína mais abundante no soro é a β-lactoglobulina, que representa 10% da proteína total do leite ou aproximadamente 50% da proteína total do soro. Contém 162 aminoácidos com uma massa molar de 18,3 kDa (YADA, 2004).

A β-Lg tem diferentes variantes, sendo as principais a A e a B. A β-Lg variante A difere da variante B, em dois aminoácidos: aspartato (posição 64) e valina (posição 118). Estes aminoácidos são substituídos na β-Lg B, pela glicina e pela alanina. Ambas têm resíduos de cisteínas (WIT, 1998; YADA, 2004). Segundo WONG *et al.* (1999) existem estudos que destacam a presença de outras variantes genéticas: C, D, E com diferentes mobilidades eletroforéticas.

β-Lg é produzida especificamente na glândula mamária. O leite de todo ruminante contém β-Lg enquanto que a maior parte do leite dos não ruminantes, por exemplo, o leite humano, não possui (YADA, 2004).

A cadeia de β-Lg possui vários pontos de ligação para minerais, vitaminas lipossolúveis e lipídios. Estes pontos de ligação podem ser usados para incorporar compostos lipofílicos desejáveis como tocoferol e retinol (vitamina A). A β-Lg também se liga ao cálcio e zinco (FOX e MCSWEENEY, 1998). Segundo YADA (2004) a molécula pode ligar-se a lipídios ácidos e não polares e acontece preferencialmente em meios alcalinos.

Foram levantadas hipóteses sobre as funções biológicas da existência da β -Lg, mas nenhuma foi aceita completamente. Alguns sugerem que a ligação com a vitamina A pode ter um papel regulador na glândula mamária (YADA, 2004).

A β -Lg possui na sua estrutura um grupo tiol livre, que lhe permite a associação a outras proteínas hidrofóbicas, e duas pontes dissulfeto internas. A associação da β -Lg depende do pH, como pode ser observado na Figura 2.1. A complexa associação-dissociação da β -Lg tem sido objeto de diversos estudos (YADA, 2004; WONG *et al.*, 1999). Para valores de pH compreendidos entre 5,20 (ponto isoelétrico) e 7,50 (faixa que compreende o pH do leite e do soro) e à temperatura ambiente, todas as variantes genéticas investigadas de β -Lg existem principalmente como um dímero estável de dois monômeros unidos por ligações não covalentes, com massa molar de 36,7 kDa. O dímero consiste em duas esferas com raios de 17,9 Å e uma distância de centro a centro de 33,5 Å (WONG *et al.*, 1999).

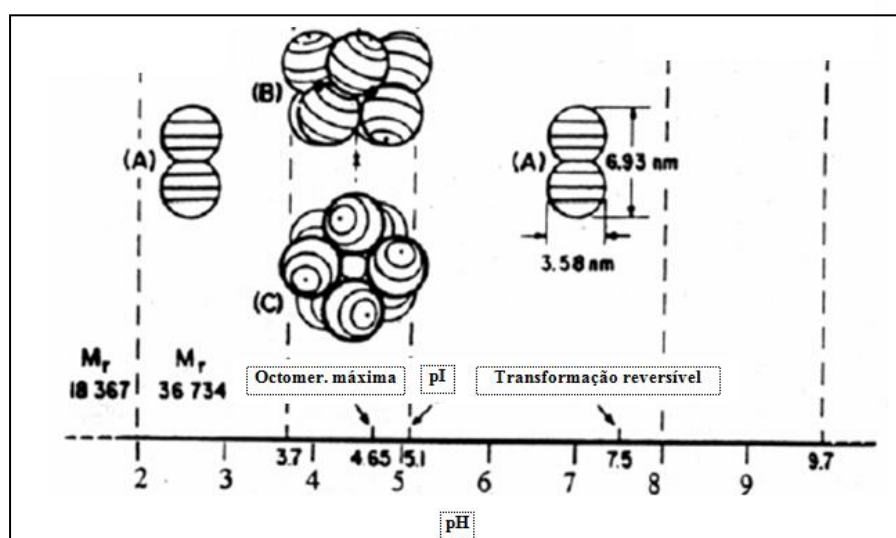


Figura 2.1: Variação da associação da β -Lg em função do pH: A) dímero, B) e C) octômeros (adaptado de RODRIGUES, 2001).

O monômero de 18,3 kDa só existe em pH inferior a 3,0 ou acima de 8,0. Para valores de pH inferiores a 3,5 as estruturas quaternárias dissociam-se reversivelmente em monômeros devido à forças eletrostáticas repulsivas muito fortes. O dímero dissocia-se em monômeros, com uma extensão de dissociação que ocorre conforme o pH vai baixando. Existe, portanto um rápido equilíbrio monômero-dímero. A constante de dissociação da reação varia de acordo com a variante genética, temperatura, pH e força iônica (WONG *et al.*, 1999).

Em meio alcalino a dissociação dos dímeros também acontece, existe um equilíbrio entre os pHs 6,9 e 8,8. Mudanças conformacionais reversíveis acompanham esta dissociação indicada por mudanças da rotação e dispersão rotatória óptica (WONG *et al.*, 1999).

Entre os pHs 3,7 e 5,1, em elevadas concentrações da proteína, os dímeros de ambos variantes A e B associam-se para formar octômeros com polimerização máxima em pH 4,6. A associação é rápida e a constante de equilíbrio da reação diminui com o aumento da temperatura (conforme indicam estudos da velocidade de sedimentação). Além de acontecer a octomerização ocorre associação de monômero-dímero (WONG *et al.*, 1999; YADA, 2004).

Uma dependência do pH com a octomerização máxima no pH 4,6 sugere que grupos carboxila estão envolvidos, com uma possível formação de pontes de hidrogênio entre os grupos carboxila protonados. É conhecido que quatro grupos carboxila do monômero são protonados neste pH (WONG *et al.*, 1999; YADA, 2004).

A 0 °C podem ser observados alguns intermediários como tetrâmeros e hexâmeros (WONG *et al.*, 1999).

Apesar deste efeito de carga, a estrutura nativa da proteína não é alterada, mesmo a temperaturas superiores a 80 °C até pH 8,6. Em pH neutro e temperaturas até 70 °C a desnaturação é reversível. Para valores de pH superiores a 8,6, ocorre uma desnaturação irreversível da proteína, devido à alterações nas propriedades físico-químicas da proteína (WIT, 1998).

A principal proteína contendo grupos sulfídricos no leite é a β -Lg, normalmente este grupo sulfídrico está inserido dentro da molécula e não é reativo. Na desnaturação por calor a cerca de 75 °C, por exemplo, o grupo -SH da β -Lg é exposto e reage com a caseína (e provavelmente com a α -La) com efeitos muito significativos em algumas das propriedades físico-químicas tecnologicamente importantes do leite, por exemplo estabilidade do leite ao calor e coagulação através da renina (FOX e MCSWEENEY, 1998). Devido à abundância desta proteína no leite bovino, em uma grande extensão as propriedades dos concentrados protéicos de soro são, na verdade, as propriedades da β -Lg (YADA, 2004).

α -lactoalbumina (α -La)

A segunda proteína mais abundante no soro é a α -lactoalbumina que inclui aproximadamente 2% da proteína total do leite e 15 a 25% da proteína total do soro. A molécula consiste em 123 aminoácidos e tem uma massa molar de 14,1 kDa, e contém quatro ligações dissulfeto e nenhum grupo fosfato (YADA, 2004).

O local de síntese da α -La é a glândula mamária, no leite humano representa 28% do teor total de proteínas (YADA, 2004; FOX e MCSWEENEY, 1998).

A α -La contém 8 grupos de cisteína, todos envolvidos em pontes dissulfetos internas e 4 resíduos de triptofano, com uma estrutura secundária ordenada e uma estrutura terciária esférica e compacta. A α -La existe principalmente como uma molécula globular quase esférica, compacta em meio neutro e alcalino. Sugere-se, também, que ela tenha formato elipsóide com 2,2 x 4,4 x 5,7 nm a 2,5 x 3,7 x 3,2 nm (WONG *et al.*, 1999).

Quando são comparadas as sequências de α -La e lisozima, são encontrados 40% dos resíduos iguais, incluindo todos os resíduos de cisteína, outros 20% dos resíduos têm estruturas semelhantes; estas informações sugerem que as moléculas são fortemente relacionadas. Na realidade, o conhecimento da estrutura tridimensional de lisozima foi utilizado para prever a estrutura tridimensional da α -La (YADA, 2004).

A α -La é encontrada em duas variantes genéticas A e B. A variante B consiste em 123 resíduos de aminoácido com massa molar de 14,174 kDa e a variante A difere disto tendo glicina em vez de arginina na posição 10. A α -La é necessária para a síntese de lactose devido a sua interação com a enzima galactosetransferase, sem a α -La, a glicose é um substrato extremamente pobre para esta enzima (WONG *et al.*, 1999).

A α -La é uma metalo-proteína com um átomo de cálcio que lhe possibilita a ligação a outras proteínas, tendo por isso tendência a polimerizar. Se, por exemplo, existir um grupo -SH livre em outra molécula (como por exemplo na β -Lg), este reage com uma das pontes S-S presente na α -La originando assim uma associação de proteínas. Em valores de pH inferiores a 5,0 ocorre uma mudança na estrutura da proteína, uma vez que a acidificação do meio conduz à liberação do íon Ca^{2+} , a uma desnaturação reversível e a um processo de agregação, sendo este mais acentuado em temperaturas próximas dos 55 °C (WIT, 1998).

A α -La é uma molécula que é mais estável ao calor na presença de cálcio, de todas as proteínas do soro é a mais estável termicamente. A maioria das proteínas aumentam a sensibilidade ao calor na presença de cálcio; isto ocorre provavelmente devido à habilidade do cálcio de promover a formação de ligações iônicas intermoleculares com a maioria das proteínas, estas ligações mantêm as moléculas próximas e aumentam a probabilidade de agregação ao aquecer. Por outro lado, a α -La utiliza o cálcio para formar laços iônicos intramoleculares que tendem a fazer a molécula resistente ao desdobramento térmico. Em condições favoráveis de concentrações de cálcio e pH, a α -La pode permanecer solúvel depois de exposição a 100 °C (YADA, 2004).

A remoção do cálcio da α -La produz mudanças conformacionais profundas equivalentes ao que ocorre na desnaturação ácida. Em valores de pH neutro ou alcalino, e na ausência de grupos tióis em solução, os íons OH^- atacam as pontes S-S, levando à formação de dihidroalanina, de H_2S e de ácido cisteíco, os quais são responsáveis por acelerar o processo de desnaturação da proteína (WIT, 1998).

A α -La interage com lipídios não polares e ácidos, tal como a β -Lg, mas preferencialmente em meios fortemente ácidos (WIT, 1998).

Em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico é possível que α -La associe-se para formar dímeros e trímeros. A associação é rápida e reversível, dependente da temperatura, sendo, maior aos 10 °C do que aos 25 °C. A agregação também depende da força iônica e da concentração, com pequena agregação abaixo de 1% de proteína. Esta associação e agregação é atribuída a mudança conformacional da molécula abaixo do pH 4, e ocorre devido a uniões hidrofóbicas que é o resultado da mudança de conformação e decréscimo da barreira eletrostática. Em valores de pH alcalinos, embora nenhuma associação observável ou agregação aconteça, são observadas algumas mudanças na configuração, como a dispersão óptica rotatória em pH 11,5 (WONG *et al.*, 1999).

Segundo SMITH (2003), nas condições iônicas do leite a α -La encontra-se como um monômero.

Outras proteínas

Além da β -Lg e da α -La, outras proteínas são encontradas no soro de leite. Estas proteínas são consideradas proteínas minoritárias ou secundárias por estarem presentes em quantidades menores que as anteriormente descritas.

A Albumina do Soro Bovina (BSA), isolada do leite, é idêntica à molécula do soro sanguíneo. Assim, a BSA não é sintetizada na glândula mamária, mas está presente na circulação sanguínea. A proteína tem uma massa molar de 69 kDa, não contém fósforo, contém 17 grupos dissulfetos e um grupo sulfídrico livre. As moléculas têm locais de ligações específicos para moléculas hidrofóbicas e se ligam a ácidos graxos e outras moléculas pequenas como metais (YADA, 2004).

As Imunoglobulinas (Ig) incluem pelo menos 2% da proteína total do leite. Há quatro classes de Ig encontradas em leite, devido a sua micro-hetereogeneidade são caracterizadas pelos determinantes antigênicos: IgG1, IgG2, IgA e IgM. Todas estas moléculas têm uma estrutura básica semelhante composta de cadeias leves com massas molares de 20 a 25 kDa e duas cadeias pesadas, com massas molares de 50 a 70 kDa (YADA, 2004).

A Lactoferrina é a mais notável proteína que se liga ao ferro (2 mols de ferro/mol de proteína), mas também pode se ligar ao Cu^{2+} , Mn^{3+} , Co^{3+} e Zn^{2+} . A Lactoferrina é produzida na glândula mamária e mostrou-se útil para inibir o crescimento de bactérias. Ainda possui outras características, incluindo efeitos antioxidantes e fortalecimento do sistema imunológico (FOX e MCSWEENEY, 1998).

A Lactoperoxidase é uma enzima que degrada o peróxido de hidrogênio e é um componente nutracêutico do leite, pois possui propriedades antibacterianas. A Lactoperoxidase tem sido objeto de vários estudos visando sua utilização como meio de controlar o desenvolvimento da acidez e mudanças de pH durante a estocagem de produtos de leite resfriados (MATTILA-SANDHOLM E SAARELA, 2003, USDEC, 2002).

Existem ainda alguns polipeptídios (proteose-peptonas) resultantes da proteólise das caseínas por enzimas do leite. Aproximadamente 1,1% da proteína do leite total consistem em proteose-peptonas (YADA, 2004).

Finalmente, é possível também encontrar no soro glicomacropéptídeos (apenas no soro doce), proteína biologicamente ativa que resulta da hidrólise da *k*-caseína pela enzima quimosina (ou renina) presente no soro. O glicomacropéptídeo altera a produção de pigmentos pelos melanócitos, atua como prebiótico e tem atuação imunomoduladora (MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003).

Propriedades das proteínas do soro de leite

As proteínas do soro de leite bovino são uma fonte excelente de aminoácidos essenciais, na Tabela 2.6 estão mostradas as concentrações de aminoácidos essenciais na proteína de referência e nas proteínas do soro.

Tabela 2.6: Concentrações de aminoácidos essenciais na proteína de referência (mg de aminoácido/g de proteína), nas proteínas do soro, na β -Lg e na α -La.

Aminoácido	Proteína de Referência (Albumina do Ovo)	Proteína do Soro	β-Lg	α-La
Triptofano	1,0	2,1	2,2	6,6
Fenilalanina+tirosina	6,0	7,3	7,3	9,6
Leucina	7,0	11,1	15,3	11,6
Isoleucina	4,0	6,8	6,7	6,8
Tionina	4,0	8,0	5,4	5,5
Metionina+cisteína	3,5	4,8	5,6	6,9
Lisina	5,5	9,9	11,7	11,4
Valina	5,0	6,8	5,9	4,8
Total	36,0	56,8	60,1	63,2

Fonte: adaptado de ZADOW (1992), MILLER *et al.* (2000)

Observando a Tabela 2.6 percebe-se que a fração proteica do soro contém mais aminoácidos essenciais do que a proteína de referência (albumina do ovo). Mais do que isso, o perfil de aminoácidos essenciais das proteínas do soro atende ou supera todas as exigências qualitativas e quantitativas estabelecidas pela FAO/WHO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação/ Organização Mundial de Saúde). As proteínas do soro contêm níveis elevados de leucina e lisina, em comparação ao isolado proteico de soja e à clara de ovo desidratada, e, ainda possuem uma boa fonte de aminoácidos contendo enxofre, tais como cisteína e metionina (RICHARDS, 2002).

Observando a Tabela 2.6 também é possível verificar que, isoladamente, a β -Lg e a α -La, têm um valor nutritivo superior ao da proteína de referência.

A qualidade, o valor ou o balanço de uma proteína alimentar além de depender do tipo e da quantidade de aminoácidos essenciais, depende da sua digestibilidade; representa a medida da eficácia com que pode ser utilizada pelo organismo. Na Tabela 2.7 são apresentados parâmetros relacionados à qualidade e ao valor ou ao balanço de uma proteína alimentar, comparando as proteínas do soro, às do leite e à caseína.

Tabela 2.7: Valores que representam a qualidade nutricional do leite e das suas frações proteicas.

Componente	BV	PD	NPU	PER	PDCAAS
Proteínas do Leite	91	95	86	3,1	1,21
Proteínas do Soro	100	100	92	3,6	1,15
Caseínas	77	100	76	2,9	1,23

Fonte: adaptado de MILLER *et al.*(2000); YADA (2004).

Legenda: BV - Valor Biológico (porção da proteína que é retida e absorvida pelo organismo); PD - Digestibilidade Proteica (porção da proteína do alimento absorvida); NPU - Utilização Proteica Líquida (porcentagem de nitrogênio que é retida); PER - Coeficiente de Eficácia Proteica (ganho em massa obtido por grama de proteína consumida) e PDCAAS - Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (medida da digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos essenciais).

Como pode ser observado na Tabela 2.7, comparadas às do leite e à caseína, as proteínas do soro têm valores de BV, PD, NPU e PER maiores e valor de PDCAAS comparáveis, mostrando a elevada qualidade deste tipo de proteína. Para se ter uma ideia, devido ao seu elevado valor biológico, é necessário apenas 14 gramas de proteínas do soro por dia para satisfazer as necessidades diárias proteicas, em comparação com as 17 gramas de proteína do ovo (proteína de referência), porque as proteínas do soro têm as quantidades de aminoácidos ideais, e, especialmente a biodisponibilidade destes (LAGRANGE e DALLAS, 1997).

Através da Tabela 2.6 e da Tabela 2.7, pode-se observar que a proteína do soro de leite é de elevada qualidade, tanto pela presença de todos os aminoácidos essenciais, como também pela qualidade destes. Além disto, pode ser prontamente absorvida pelo organismo humano, devido à elevada biodisponibilidade e digestibilidade que possui.

Além destas propriedades nutricionais interessantes, as proteínas do soro do leite são conhecidas pela versatilidade de suas propriedades funcionais tecnológicas como ingredientes em produtos alimentícios.

As propriedades funcionais das proteínas do soro estão relacionadas com as propriedades físico-químicas, que contribuem para fornecer uma determinada característica ao produto alimentar final em que são inseridas (SGARBIERI, 1996).

As proteínas do soro têm propriedades físicas e funcionais no seu estado nativo e após tratamento físico, químico ou enzimático (absorção de água, solubilidade, emulsificação entre outras), devido às várias estruturas conformacionais que possuem e/ou adquirem. As propriedades funcionais determinam a utilização dos produtos derivados do soro de leite, o que é abordado na próxima seção.

2.2 Produtos Derivados do Soro de Leite

Na alimentação, o soro pode ser utilizado na forma líquida, concentrada ou em pó. O soro líquido pasteurizado fresco é raramente usado nas indústrias de alimentos, devido ao elevado custo de transporte e a suscetibilidade para deterioração durante armazenamento (MILLER *et al.*, 2000). Além disto, o soro integral deve ser evitado para o consumo direto devido ao seu elevado conteúdo em lactose, que pode provocar problemas de intolerância a determinados indivíduos, além da dificuldade de aceitação sensorial do produto que possui alto teor de sais minerais. O soro de leite é utilizado na sua forma bruta principalmente como ração para animais. Dentre as alternativas para o uso do soro líquido podem ser citadas a fabricação de ricota e a fabricação de bebidas lácteas (WONG *et al.*, 1999).

O soro em pó é a forma mais satisfatória para o uso do soro de leite em alimentos, esse é obtido pela remoção de aproximadamente 95% da sua umidade, mas todos os constituintes são mantidos nas mesmas proporções relativas ao soro original. Desta forma o soro pode ser armazenado por um tempo maior, sem danos para suas propriedades nutricionais, além de reduzir os custos de transporte e aumentar a qualidade do produto podendo ser modificado e/ou misturado a outros produtos servindo a propósitos específicos (MILLER *et al.*, 2000; HUFFMAN, 1996).

O soro em pó por não ser higroscópico é um excelente veículo não aglutinante de fácil dispersão muito usado em misturas secas. É muito utilizado em produtos de panificação, salgadinhos, sorvetes e sobremesas lácteas. No que se refere aos dois primeiros produtos, a utilização do soro de leite em pó intensifica o desenvolvimento de

cor durante o cozimento e forneamento a alta temperatura, além de aumentar o volume dos pães e também é uma fonte econômica de sólidos lácteos. Enquanto, nos sorvetes e sobremesas lácteas, o uso do soro ajuda a formação de espumas estáveis e facilita a aeração (BYLUND, 1995).

Algumas limitações nas propriedades do soro seco para uso direto em alimentos, principalmente as altas concentrações de sais e lactose, conduziram ao seu fracionamento. Os produtos obtidos a partir do fracionamento do soro de leite, dependendo do processamento a que são submetidos, geram produtos com características diferentes do soro em pó propriamente dito. A Tabela 2.8 apresenta as características dos principais produtos derivados do soro de leite.

Tabela 2.8: Características dos principais produtos derivados do soro de leite.

Produto	Proteína (%)	Lactose (%)	Gordura (%)	Sais (%)	Umidade (%)
Soro em pó	10-15	63-75	1,0-1,5	8,2-8,8	3,5-8,0
Soro em pó deslactosado	18-24	52-58	1,0-4,0	11-22	3,0-4,0
Soro em pó desmineralizado	11-15	70-80	0,5-1,8	1,0-7,0	3,0-4,0
CPS 35	34-36	46-52	3,0-4,5	6,5-8,0	3,0-4,5
CPS 50	50-52	33-37	5,0-6,0	7,5-8,5	3,5-4,5
CPS 65	63-65	20-23	5,0-6,0	3,0-7,0	3,5-4,5
CPS 80	80-82	4-8	4,0-8,0	3,0-4,0	3,5-4,5
IPS	> 90	0,5-1,0	0,5-1,0	2,0-3,0	3,5-4,5
Lactose	-	> 98	-	0,3	1

*CP – Concentrado Proteico; IP – Isolado Proteico. (%) percentual mássico em base seca
Fonte: adaptado de YADA (2004); BYLUND (1995); USDEC (2002).

Quando o conteúdo de lactose original do soro é reduzido obtém-se como produto resultante, soro em pó deslactosado ou soro em pó com teor reduzido de lactose. Semelhantemente, processos, como a eletrodialise, podem ser usados para reduzir o conteúdo mineral do soro, obtendo-se como produto o soro desmineralizado (BYLUND, 1995).

O soro de leite em pó deslactosado é empregado principalmente em queijos processados, molhos e carnes industrializadas como alternativa para o soro em pó, nos casos em que são desejadas concentrações mais baixas de lactose e mais elevadas de proteínas (LAGRANGE e DALLAS, 1997).

O soro em pó desmineralizado é utilizado amplamente em fórmulas de alimentos infantis, bem como em coberturas aeradas, sobremesas congeladas e em produtos de confeitaria. Nestas aplicações o alto teor de lactose é usado como fonte conveniente de carboidratos. O soro desmineralizado também acrescenta *flavor* lácteo agradável sem perturbar o equilíbrio de minerais do produto final (LAGRANGE e DALLAS, 1997).

Na indústria de alimentos, ingredientes de soro podem ser incorporados a produtos fortificados, aumentando, desta forma, o teor de nutrientes minerais do produto final (MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003). Os minerais de leite são usados para fortificação de alimentos e bebidas com cálcio (YADA, 2004; MATHEWS, 1984).

A lactose por ser fonte de material energético pode ser utilizada para diversos processos biotecnológicos e como componente utilizado na indústria alimentícia. É um componente essencial na produção de produtos de leite fermentado, afeta a textura de certos produtos concentrados e congelados; é altamente envolvida em mudanças de cor e sabor induzidas pelo calor em produtos de leite aquecidos. Ainda pode ser utilizada para fins farmacêuticos, pois a lactose confere compressibilidade, fluidez e dureza na confecção de comprimidos, revestimento de pílulas e na produção de cosméticos (FOX e MCSWEENEY, 1998; GIROTO e PAWLOWSKY, 2001).

O desenvolvimento de técnicas de fracionamento, de modificação e de preservação das proteínas do soro de leite pode contribuir para a recuperação desses nutrientes, assim como melhorar a expressão de suas propriedades funcionais. O fracionamento do soro em lactose e proteínas do leite representa um expediente que permite a utilização dos constituintes de maior importância comercial presentes nesse produto. Devido à baixa concentração de proteínas no soro de leite são necessárias etapas de concentração, para que as suas propriedades funcionais sejam realçadas (HUFFMAN, 1996).

Quando um produto de soro tem 25% ou mais de proteínas em base seca é denominado concentrado proteico do soro (CPS). Os CPS podem ser classificados com base na sua composição. Geralmente são agrupados de acordo com o seu conteúdo em proteína (em base seca) como pode ser observado na Tabela 2.8. Os CPS mais comuns têm um teor de proteína de 35, 50, 65 e 80%, em base seca. Quando o grau de purificação

proteica é maior que 90% (em base seca) o produto é denominado de isolado proteico (IPS) (YADA, 2004; MATHEWS, 1984).

Os CPS têm uma vasta aplicação na indústria alimentar pela funcionalidade que podem conferir aos alimentos. A Tabela 2.9 resume as propriedades funcionais e as principais aplicações industriais dos CPS. O uso de proteínas do soro como ingredientes em alimentos funcionais lácteos e não lácteos está aumentando progressivamente conforme tem aumentado a capacidade tecnológica da indústria para produzir CPS, IPS ou, mais recentemente, frações enriquecidas em proteínas individuais do soro de leite (RICHARDS, 2002).

Tabela 2.9: Principais propriedades funcionais que os concentrados proteicos conferem aos alimentos e o setor alimentar envolvido.

CPS (%proteína)	Propriedade funcional	Setor alimentar
CPS 35	Viscosidade	Sobremesas
	Solubilidade, estabilidade coloidal	Bebidas
	Formação de espumas	Confeitaria
CPS 65	Elasticidade	Panificação
	Gelificação	Produtos lácteos
CPS 85	Emulsificação	Café, sopas, alimentos infantis
	Coesão e adesão	Produtos em pasta
	Absorção de água e de gordura	Produtos de carne

Fonte: adaptado de WITT (1998)

O IP possui excelentes propriedades de gelificação, aeração, emulsificação, retenção de água e gordura. As principais aplicações de IP incluem produtos lácteos, de panificação e de confeitaria, *snacks*, salgadinhos, aperitivos e carnes processadas (RICHARDS, 2002).

NIKAEDO *et al.* (2004) testaram o uso de CPS em sobremesas lácteas substituindo o leite em pó. Os resultados mostram que é viável utilizar o CPS em substituição ao leite em pó, oferecendo um produto com menores teores de gordura e de sólidos totais, e maior teor de proteínas. Segundo USDEC (2002), iogurtes produzidos com leite fortificado com CPS apresentam melhor textura e consistência. Um dos benefícios mais significativos ao substituir o leite desnatado por CPS é o resultado da redução no efeito da sinerese durante o período de estocagem do iogurte. Segundo NIKAEDO *et al.* (2004), o CPS é adequado

para substituir a gordura em sobremesas lácteas congeladas, demonstrando que é possível elaborar uma sobremesa láctea nutritiva, com substitutos de gordura e com boa aceitabilidade sensorial.

Os CPS têm aplicação na saúde humana, podem complementar e fortificar alguns alimentos, aumentando o valor nutricional do produto. Assim, são muito úteis para incorporar em bebidas para esportistas, porque ajudam no desenvolvimento ou formação de massa muscular do corpo humano (RICHARDS, 2002; HUFFMAN, 1996). Também são amplamente empregados em nutrição infantil; podem ser usados em fórmulas enterais; na forma de proteínas nativas ou pré-digeridas contribuindo com o ganho de peso em pacientes pós-cirúrgicos, geriátricos e imobilizados; em dieta de baixa caloria; e na substituição de gordura, ou na formulação de alimentos e bebidas saudáveis (LEE, 1996; WIT, 1998; MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003).

Além do mais, o valor comercial de um CPS pode ser até 50 vezes superior ao do soro em pó, devido à maior especificidade do produto a nível funcional e ao excelente valor nutritivo do mesmo (ZADOW, 1992).

2.2.1 Processos de Recuperação dos Componentes do Soro de Leite

A obtenção da lactose a partir do soro é feita envolvendo tipicamente a remoção de proteínas (por coagulação ou ultrafiltração), a evaporação a vácuo, a refiltração seguida de outra evaporação, a indução à cristalização por semeadura, a centrifugação para remoção dos cristais e a secagem até pó em secador de leite fluidizado (BRANDÃO, 1994).

O soro sem solubilização química da proteína é concentrado e resfriado para efetuar a cristalização da lactose, que é separada por filtração. Finalmente, recebe ar seco para formar lactose bruta. A lactose bruta é refinada, descolorada e filtrada, apresentando no produto final alto grau de pureza (ZADOW, 1992).

O maior desenvolvimento de tecnologias de separação sólido-líquido tem sido utilizado pelas indústrias de laticínios para recuperar proteínas. Entre estas técnicas podemos citar: a adsorção em suporte insolúvel, a precipitação pelo calor, a precipitação

por agentes complexantes e os processos de separação com membranas, com especial atenção para a ultrafiltração (UF) (MIZUBUTI, 1994).

Há cerca de 30 anos, a UF se tornou uma das técnicas mais utilizadas para recuperar as proteínas solúveis do soro. Os componentes de baixa massa molar (lactose, sais e água) permeiam preferencialmente através das membranas de UF, as quais retêm as moléculas de proteína (retido). Na maioria das aplicações comerciais a UF é executada no modo de diafiltração, permitindo uma maior remoção de sais e lactose. O retido é seco por *spray drier* (FOX e MCSWEENEY, 1998).

A desnaturação térmica é um método que pode ser utilizado para a recuperação de proteínas de soro, onde a coagulação é ótima em pH 6 e temperatura de aproximadamente 90 °C por 10 a 20 min. As proteínas de soro coaguladas são recuperadas por centrifugação, porém têm baixa solubilidade e funcionalidade limitada (FOX e MCSWEENEY, 1998; SCOPES, 1988).

As proteínas podem ser precipitadas normalmente através de polieletrólitos como carboximetilcelulose. Processos para recuperação de proteínas de soro frequentemente fazem uso de tais substâncias ou de uma combinação de calor e ajuste de pH (CAPITANI *et al.*, 2005).

Filtração por colunas cromatográficas (cromatografia de permeação gel) torna possível o fracionamento de moléculas, inclusive proteínas. É possível separar a caseína e as proteínas do soro através de filtração gel, mas o processo ainda é não é economicamente viável em nível industrial em função dos baixos volumes que são empregados (FOX e MCSWEENEY, 1998; YADA, 2004).

Preparações de proteínas de soro altamente purificadas podem ser obtidas, industrialmente, através de cromatografia de troca iônica. As proteínas são adsorvidas em uma coluna de troca iônica e após remoção da lactose são eluídas através do ajuste de pH. Os sais são retirados através da osmose inversa e o produto é seco em *spray drier* (FOX e MCSWEENEY, 1998; BOBRESHOVA *et al.*, 2002).

2.2.2 Fracionamento das Proteínas do Soro de Leite

O fracionamento de macromoléculas, especialmente proteínas, por ultrafiltração, vem ganhando importância sendo que as principais vantagens são uma produção elevada e um fácil *scale-up*. Na maioria das vezes, essa separação é difícil de ser realizada, uma vez que os solutos possuem tamanhos semelhantes (WAN *et al.*, 2002; METSAMUURONEN e NYSTRON, 2006); apesar desta dificuldade, o fracionamento de macromoléculas por UF tem atraído atenção em áreas diversificadas como a biotecnologia, biomedicina, na indústria alimentar e farmacêutica.

Devido às propriedades específicas de cada uma das proteínas do soro de leite, há um crescente interesse no fracionamento destas proteínas, pois muitas vezes estas características não se fazem notar nos concentrados proteicos do soro (CPS) devido às interações de outros componentes (BRAMAUD *et al.*, 1997 e ZYDNEY, 1998).

As duas principais proteínas do soro, α -La e β -Lg, são produzidas comercialmente como frações de proteínas isoladas de pureza relativamente alta utilizando diversos procedimentos patenteados ou registrados, baseados, por exemplo, em métodos cromatográficos ou eletroforéticos. A Tabela 2.10 mostra a composição de frações industriais de α -La e β -Lg.

Tabela 2.10: Composição proteica de frações industriais de α -La e β -Lg.

Proteína	Proteína bruta (%)	
	Produto rico em α -La	Produto rico em β -Lg
α -La	70,6	13,8
β -Lg	13,2	74,8
BSA + Ig	10,4	4,6
Outras proteínas	5,8	6,8

Fonte: RICHARDS (2002).

Estes produtos proteicos são utilizados como ingredientes alimentícios, tanto pela utilidade tecnológica como nutritiva, e são vendidos a preços elevados em lojas especializadas em produtos para dietas especiais (RICHARDS, 2002).

A α -La apresenta uma alta capacidade de renaturação e, em consequência, tem uma alta resistência ao tratamento térmico, o que provavelmente se deve à capacidade que esta proteína tem para fixar cálcio. Os alimentos que contêm α -La suficientemente pura e em quantidade elevada não se coagulam por aquecimento, propriedade que é importante

para o desenvolvimento de novos produtos com altas concentrações de proteínas do soro que sofram tratamento térmico (RICHARDS, 2002).

Alimentos infantis, utilizados como substitutos de leite materno humano fabricados a partir de leite bovino, são formulados para imitar a relação soro-proteínas:caseína do leite humano (70:30), enquanto o leite de bovinos tem proporção de 20:80. Quando o soro de bovinos é adicionado nas fórmulas infantis, os resultados são elevadas concentrações de β -Lg, que é a proteína mais abundante entre as proteínas presentes no soro do leite de bovinos (50%), como ela não está presente no leite humano, pode se tornar uma substância alergênica em potencial. Em alimentos infantis, a adição de α -La que naturalmente está presente no leite de humanos, tem sido defendida como forma de “humanizar” estes produtos. Além do mais, a α -La é indicada para ser utilizada em produtos direcionados às pessoas que podem ingerir quantidades limitadas de proteínas. Assim, está crescendo o interesse de fabricar alimentos com níveis reduzidos de β -Lg (OUTINEN *et al.*, 1996).

Por outro lado, a fração enriquecida de β -Lg poderia ter aplicações em larga escala na indústria de alimentos, devido a algumas excelentes propriedades funcionais, como: a gelificação e a capacidade de formar espuma (OUTINEN *et al.*, 1996; ZYDNEY, 1998). A cadeia de β -Lg possui vários pontos de ligação para minerais, vitaminas lipossolúveis e lipídios. Esses pontos de ligação podem ser usados para incorporar compostos lipofílicos desejáveis como tocoferol e retinol (vitamina A) em produtos com baixo teor de gordura. A β -Lg tem a capacidade de ligar-se ao cálcio e ao zinco e apresenta homologia sequencial parcial com determinadas proteínas capazes de se ligar ao retinol (FOX e MCSWEENEY, 1998).

Técnicas para isolar proteínas de soro individuais em escala laboratorial, por troca iônica e/ou cristalização, estão disponíveis há cerca de 40 anos. Porém, apenas alguns deles têm aplicação em escala industrial (ZYDNEY, 1998). Estes produtos funcionais são fabricados mediante diversos processos, incluindo: a precipitação por ácidos ou bases, a troca iônica, e as técnicas de separação por membranas. Os produtos finais têm diferentes propriedades segundo o procedimento utilizado (RICHARDS, 2002; GRANDISON e LEWIS, 1996).

Os métodos relatados para isolar as proteínas são baseados na precipitação da α -La, na cromatografia de troca iônica e na UF ou, ainda, na combinação desses métodos. Usando a precipitação e a UF, GESAN-GUIZIOU *et al.* (1999) *apud* BRANS *et al.* (2004), relatam uma purificação de 50-80% para α -La e 85-95% para a β -Lg.

Na precipitação seletiva, parâmetros como o pH, a temperatura e a concentração salina podem ser manipulados de forma a se obter diferentes frações proteicas (ZYDNEY, 1998). Uma estratégia para eliminar a β -Lg do soro é utilizar a baixa solubilidade da β -Lg em valores de pH próximos do seu ponto isoelétrico. O soro sofre um pré-tratamento que inclui ultrafiltração, desmineralização por eletrodialise e ajuste do pH, de forma a precipitar a β -Lg, ficando um sobrenadante rico em α -La em conjunto com outras proteínas (GRANDISON e LEWIS, 1996).

Alguns métodos para o fracionamento da proteína do soro foram desenvolvidos baseando-se na baixa solubilidade da α -La entre os pH de 3,5 a 4,5, faixa na qual a β -Lg permanece solúvel. Outros métodos baseiam-se em precipitação pelo calor onde a β -Lg é recuperada facilmente por UF, mas a recuperação do precipitado de α -La é difícil devido à sua baixa massa específica. Além disso, em soros ácidos ocorre uma desnaturação significativa da α -La (OUTINEN *et al.*, 1996).

BRAMAUD *et al.* (1997) mostraram que é possível isolar a α -La e a β -Lg de uma solução de soro através de ajuste de temperatura e pH (pH 3,9; 55 °C por 30 min), associada à centrifugação (4000 g, 30 min, 20 °C). Na fase solúvel permanece parte da β -Lg, lactose e minerais e na fase precipitada α -La, BSA, Ig e β -Lg. Na fase solúvel a β -Lg é purificada através de UF associada a diafiltração, e a α -La é purificada por centrifugação e ressolubilização em NaCl ou CaCl₂ obtendo um grau de pureza de β -Lg e de α -La próximos a 55 e 80%, respectivamente.

A precipitação de α -La por acidificação de soro e proteína de soro concentrada foi estudado por LUCENA *et al.* (2007). Três ácidos diferentes (HCl, ácido cítrico e ácido láctico) foram considerados para a precipitação, sendo que os dois ácidos orgânicos foram capazes de complexar os íons de Ca²⁺, enquanto que quando o ácido clorídrico foi usado, a precipitação ocorreu devido à desnaturação irreversível das proteínas. Quando o processo de precipitação foi levado para um valor de pH próximo ao ponto isoelétrico da α -La, e foi combinado com complexação dos íons cálcio, a α -La precipitou juntamente

com BSA e Ig; a β -Lg, por sua vez, permaneceu em solução devido à estabilização desta proteína em baixas concentrações de Ca^{2+} .

2.3 Processos de Separação por Membranas (PSM)

Os objetivos principais de qualquer Processo de Separação por Membranas (PSM) são a separação, a concentração e/ou a purificação de componentes presentes em solução e estes objetivos podem ser alcançados devido à capacidade da membrana de transportar um determinado componente da fase de alimentação mais prontamente que outro componente presente. Isso ocorre devido às diferenças existentes entre as propriedades físicas e/ou químicas da membrana e dos componentes que permeiam.

A membrana é uma barreira seletiva que separa duas fases (alimentação e permeado) e restringe, total ou parcialmente, o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nestas fases. Elas podem, ainda, apresentar inúmeras características, podendo ser naturais ou sintéticas, neutras ou carregadas, espessas ou finas, de estrutura homogênea ou heterogênea, com mecanismo de transporte ativo ou passivo, entre outras.

A corrente que atravessa a membrana é denominada de permeado ou filtrado e a que fica retida pela membrana, que é a corrente enriquecida em um ou mais componentes, é chamada de retido ou concentrado.

Nos sistemas de PSM, basicamente, duas configurações de escoamento são utilizadas: o modo convencional ou *dead-end* e o modo tangencial ou *cross-flow*. No primeiro, a solução de alimentação escoava perpendicularmente à superfície da membrana, promovendo a formação de uma camada na superfície da membrana semelhante a uma torta, devido ao acúmulo das partículas retidas. No modo tangencial, a alimentação escoava tangencialmente à superfície da membrana, gerando o acúmulo de apenas parte das partículas retidas.

Os PSM podem ser divididos em dois tipos: aqueles que envolvem a difusão do solvente (água) e os que envolvem a difusão do soluto. Os primeiros, mais comumente utilizados industrialmente, são denominados de processos de osmose e envolvem a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF), a nanofiltração (NF) e a osmose inversa (OI); os demais se denominam processos de diálise (D) e envolvem a eletrodiálise (ED), a pervaporação (PV) e a permeação gasosa (PG) (MULDER, 1996).

A Tabela 2.11 apresenta a faixa de tamanhos de poros das membranas para os PSM que envolvem a difusão do solvente e as faixas de pressão aplicáveis para cada processo.

Tabela 2.11: PSM relacionados pelo tamanho de poros das membranas e respectivas pressões de operação.

PSM	Tamanho de poros (nm)	Limites de pressão (Pa)
MF	50 - 10000	$(0,1 - 3,5) \times 10^5$
UF	1 - 100	$(1,0 - 5,0) \times 10^5$
NF	1 - 10	$(5,0 - 20) \times 10^5$
OI	< 2	$(10 - 100) \times 10^5$

Fonte: MULDER (1996).

O movimento de qualquer espécie através da membrana é causado pela ação de uma força motriz sobre os componentes da alimentação. A maioria dos processos utiliza como força motriz, o gradiente de potencial químico (MF, UF, OI) – que pode ser expresso em função do gradiente de pressão, de concentração ou de temperatura – ou o gradiente de potencial elétrico (ED).

A força motriz utilizada, bem como a morfologia da membrana, determina o mecanismo de transporte através dessa, que pode ser convectivo e/ou difusivo. No caso de membranas de MF e UF, o fluxo é essencialmente convectivo, uma vez que estas membranas utilizam como força motriz o gradiente de potencial químico expresso em termos da diferença de pressão através da membrana.

Atualmente os PSM são largamente utilizados para diferentes aplicações principalmente, como um processo alternativo aos processos de separação convencionais, tais como a destilação, a centrifugação e a evaporação. Esse crescimento se dá devido a algumas vantagens apresentadas pelos PSM, tais como: a economia de energia, visto que a maioria destes ocorre sem mudança de fase; a seletividade da membrana; a separação de compostos termolábeis (operam à temperatura ambiente); a simplicidade de operação e escalonamento, pois são sistemas modulares.

A MF, a UF, a NF, a OI e a ED são abordados com mais detalhes nas seções seguintes.

2.3.1 Microfiltração, Ultrafiltração e Nanofiltração

O processo de MF promove a separação de partículas de diferentes tamanhos através da aplicação de um gradiente de pressão como força motriz e se caracteriza como o PSM mais parecido com o processo convencional de filtração. O diâmetro de poro destas membranas varia entre 0,05 e 10 μm , o que o torna o processo capaz de reter suspensões e emulsões.

As partículas retidas pelas membranas de MF são, normalmente, maiores que as retidas nos processos de UF e OI. Além disso, nos processos de MF, a pressão osmótica pode ser desprezada e a diferença de pressão aplicada normalmente varia entre 100 e 350 kPa.

As principais aplicações industriais das membranas de MF envolvem a esterilização de soluções farmacêuticas, a clarificação de bebidas, a purificação de fluidos na indústria de semicondutores, além de algumas aplicações analíticas e biotecnológicas.

Semelhantemente ao processo de MF, o PSM de UF é um processo baseado na separação através da diferença de tamanho entre as partículas e os poros da membrana e na utilização do gradiente de pressão como força motriz. Este processo é geralmente utilizado para a retenção de macromoléculas e colóides presentes em solução e pode ser considerado como um processo intermediário entre os processos de MF e NF, uma vez que o diâmetro de poro das membranas de UF varia entre 0,05 μm e 0,001 μm (HO e SIRKAR, 1992; MULDER, 1996).

As membranas de UF comerciais são especificadas através da sua massa molar de corte (MMC) cuja unidade mais utilizada é o Dalton (Da). A MMC é definida como a massa molar para a qual a membrana apresenta uma retenção igual a 90 a 95%. A MMC de uma membrana é normalmente determinada através de medidas de rejeição utilizando-se soluções homogêneas de solutos (por exemplo, polietilenoglicol ou dextranas) com massa molar variada e conhecida.

A importância de se caracterizar membranas está em determinar a utilização da membrana no processo de separação e de se ter a determinação prévia do comportamento e interação da membrana com a solução da alimentação, visto que no processo de

fabricação de membranas não existem procedimentos padronizados e cada fabricante tem um modo de caracterização diferente para a classificação nominal de suas membranas.

A UF é adequada à concentração de soluções, em pressões transmembranas inferiores a 1.000 kPa. As membranas de UF são capazes reter partículas cuja massa molar varia entre 300 e 500.000 Da. Assim, compostos tipicamente retidos nesse processo incluem: açúcares, biomoléculas, proteínas, polímeros e partículas coloidais. As membranas de UF são comumente utilizadas na indústria alimentícia, de bebidas e láctea, em sistemas de tratamento de efluentes, em aplicações médicas e biotecnológicas.

A principal diferença entre os processos de MF e UF situa-se na resistência hidrodinâmica que é maior na UF, pois esta possui uma camada superior mais densa (menor diâmetro de poro e porosidade menor na superfície) e, conseqüentemente, uma resistência hidrodinâmica maior.

Uma extensão do emprego da UF é a adição de água em alguma fase durante o processo de concentração, processo denominado de diafiltração (DF). O objetivo da DF é “lavar” os componentes de menor massa molar, e aumentar a purificação do retido. As indústrias que utilizam essa operação são as de alimentos, bebidas, biotecnológica e farmacêutica, com finalidade de purificar produtos de interesse. A DF está associada com alto consumo de líquido diafiltrante, normalmente água, com alto teor de pureza. Na indústria de laticínios, por exemplo, a DF é normalmente empregada após a pré-concentração do soro por MF, UF ou NF o que permite maior separação de lactose e sais minerais elevando a proporção e conseqüentemente a pureza de proteínas no retido.

A NF é um processo de separação que permite separar alguns tipos de íons divalentes, como Mg^{+2} , de moléculas orgânicas com massa molar na faixa de 100 Da a 500 Da, com base na carga e no tamanho destas partículas. Os íons permeiam a membrana segundo suas características de difusão e carga. A membrana de NF pode ser considerada uma membrana de UF mais densa. Assim, a massa molar de corte das membranas de NF situa-se entre o da OI e o da UF. As NF operam na faixa de 1.000 e 2.000 kPa.

2.3.2 Osmose Inversa (OI)

O processo de OI é utilizado para a separação de solutos de baixa massa molar, tais como sais inorgânicos ou pequenas moléculas orgânicas (glicose e sacarose). Estes tipos de membranas apresentam uma estrutura mais fechada, acarretando em uma maior resistência à permeação e também necessitando de pressões de operação mais elevadas do que as usadas na MF e na UF. A membrana de OI apresenta características intermediárias entre as membranas porosas usadas em MF e UF e as membranas densas empregadas em pervaporação e permeação de gases. As membranas de OI operam a pressões de aproximadamente 10.000 kPa. (HABERT *et al*, 2006; MULDER, 1996).

Quando se aplica pelo lado da solução mais concentrada uma pressão maior que a pressão osmótica, o potencial químico do solvente na solução concentrada será maior do que o potencial químico do solvente puro ou do solvente na solução mais diluída. Neste caso o solvente se desloca do lado da solução mais concentrada para o lado do solvente puro, esta inversão do fluxo osmótico é o responsável pela denominação de osmose inversa.

Os processos que envolvem a OI visam gerar tanto água pura (permeado) quanto soluções aquosas ricas em sais minerais e outras moléculas de massa molar maior (concentrado). A utilização da OI na dessalinização e tratamento de efluentes municipais têm levado muitas indústrias a visualizar nesta tecnologia uma possibilidade de reduzir poluentes e reutilizar seus insumos. A aplicação industrial da OI é economicamente atrativa porque ambas correntes geradas – permeado e concentrado – são produtos valiosos que podem ser reusados, eliminando, dessa forma, a necessidade de tratamentos posteriores.

2.3.3 Eletrodialise (ED)

A eletrodialise (ED) caracteriza-se por empregar membranas íon-seletivas e utilizar um campo elétrico de corrente contínua como força motriz da separação. As membranas íon-seletivas são permeáveis a determinados íons dissolvidos em solução aquosa e impermeáveis a outros. A aplicação de um campo elétrico tem por finalidade promover a migração dos íons na solução e através da membrana. O princípio básico da ED consiste em transformar uma solução aquosa em duas outras, uma mais concentrada e outra mais diluída em eletrólitos do que a original (STRATHMANN, 2001).

A aplicação de um campo elétrico de corrente contínua perpendicularmente às membranas (diferença de potencial elétrico) faz com que cátions e ânions migrem através das membranas. Ao final do processo a solução no compartimento de concentrado pode estar até dez vezes mais concentrada do que a alimentação. A capacidade é determinada pelo tamanho do *stack* (módulo de membrana), área de membranas e corrente aplicada.

As membranas íon-seletivas utilizadas em ED são sistemas carregados quimica ou fisicamente através da fixação das cargas em matrizes poliméricas por reações de reticulação em polímeros não funcionalizados. Estas membranas são efetivamente resinas de troca iônica em forma laminar, tendo como principal característica a propriedade de discriminar os íons migrantes pelo sinal de sua carga (SATA, 2000). As membranas catiônicas são permeáveis a cátions e repelem os ânions, e o contrário acontece com as membranas aniônicas que repelem os cátions. As membranas devem ser resistentes à osmose e impermeáveis à água (SMITH, 1992).

Na membrana seletiva a cátions, os ânions são fixados na matriz polimérica e a eletro-neutralidade é obtida com cátions móveis (contra-íons) nos interstícios do polímero. Os ânions móveis (co-íons) são parcialmente excluídos da matriz polimérica. Este tipo de exclusão é referido como exclusão de *Donnan* em homenagem ao trabalho pioneiro de F.S. Donnan. Devido à exclusão de co-íons na membrana trocadora de cátions, a qual transporta grupos fixos carregados negativamente, os cátions carregam toda a corrente elétrica através da membrana. Na membrana seletiva a ânions, cargas positivas são fixas sobre a matriz polimérica excluindo os cátions, assim a corrente é principalmente carregada pelos ânions (PENG *et al.*, 2004).

Na solução ambos os íons (cátions e ânions) transportam a corrente elétrica, porém nas membranas somente um íon pode transportar a corrente, o cátion ou o ânion, dependendo do tipo de membrana. A velocidade de transporte dos íons no interior da membrana é duas vezes maior que a velocidade de transporte na solução. Esta diferença de velocidade pode ocasionar polarização na interface membrana-solução.

Os eletrodos localizados nas extremidades de um *stack* de eletrodiálise (ligados a uma fonte de corrente contínua) são os responsáveis pelo transporte dos íons através das membranas. Porém, em suas superfícies ocorrem reações eletroquímicas, as quais irão variar em função do pH e dos íons presentes. Como os produtos gerados nessas reações

podem ser danosos ao sistema, é importante conhecer as principais reações que podem ocorrer.

As reações que ocorrem sobre o cátodo e o ânodo dependem da corrente aplicada e da solução com a qual os eletrodos estão em contato. No cátodo, normalmente de aço inoxidável (por ser um material de fácil aquisição e baixo custo) a reação mais comum é a formação de H_2 em meio ácido e a formação de íons OH^- em meio alcalino. O cátodo também pode ser de platina, o que encarece a fabricação do *stack*, mas pode ter vantagens em relação à durabilidade do eletrodo, e diminuição de reações indesejáveis que ocorrem neste compartimento. O material do qual é feito o ânodo normalmente é o titânio platinizado, que é bastante durável, e que normalmente, não apresenta formação de componentes indesejáveis.

2.4 Princípios e definições para os PSM

A seguir são apresentadas algumas definições comumente utilizadas em PSM para melhor entendimento da leitura deste trabalho. As equações apresentadas foram retiradas de MULDER (1996).

2.4.1 Fluxo Permeado e Permeabilidade Hidráulica

O fluxo permeado representa a vazão (volumétrica, mássica ou molar) de permeado por unidade de área da membrana e é determinado pela força motriz aplicada e pela resistência apresentada pela membrana (ou por sua permeabilidade), que muitas vezes, são proporcionais. O fluxo através da membrana pode simplesmente ser definido como o volume de permeado que flui através da membrana por unidade de área e tempo, como mostrado na Equação 2.1.

$$J_p = \frac{1}{A} \frac{dV}{dt} \quad (2.1)$$

onde J_p é o fluxo do permeado ($m.s^{-1}$); A é a área da membrana (m^2); V é o volume de permeado recolhido (m^3) em função do tempo para permeação (s).

O fluxo permeado depende das propriedades da membrana, do produto a ser separado e das condições de operação tais como a pressão transmembrana, velocidade de

escoamento tangencial e fator de concentração. Também é fortemente influenciado pela temperatura da solução de alimentação.

Outros parâmetros importantes que afetam o fluxo através da membrana são o pH e a força iônica. Estes parâmetros influenciam, principalmente, na solubilidade dos componentes da alimentação, alterando as interações entre essa solução e a membrana.

A Lei de Darcy adaptada para membranas (modelo das resistências) é uma descrição fenomenológica que pode ser utilizada para descrever o fluxo através da membrana (J_p) sendo este diretamente proporcional à pressão aplicada (ΔP), como mostra a Equação (2.2).

$$J_p = \frac{\Delta P}{\mu R_m} \quad (2.2)$$

onde J_p é o fluxo permeado (m.s^{-1}), ΔP é a pressão transmembrana (Pa), μ é a viscosidade dinâmica do fluido (Pa.s), R_m é a resistência da membrana (m^{-1}).

Essa constante de proporcionalidade entre o fluxo e a pressão mostrada na equação (2.2), quando o fluido é exclusivamente a água, é chamada de permeabilidade hidráulica (L_p), como mostra a Equação (2.3). A permeabilidade hidráulica pode ser obtida a partir do fluxo permeado medido em diferentes pressões.

$$J_p = L_p \Delta P \quad (2.3)$$

A constante de permeabilidade engloba fatores estruturais, tais como a porosidade da membrana, o diâmetro de poro e a distribuição destes; além disso, esta constante inclui, também, a viscosidade do líquido que permeia.

2.4.2 Seletividade

A seletividade de uma membrana aos solutos e ao solvente de uma determinada solução pode ser expressa por dois parâmetros: a retenção (R) ou o fator de separação (α). Para misturas aquosas diluídas, que consistem em um solvente (água, na maioria das vezes) e um soluto, é mais conveniente expressar a seletividade em função da retenção em relação ao soluto. Nestes casos, o soluto é parcialmente, ou totalmente, retido pela membrana, enquanto que as moléculas de solvente passam livremente por ela (MULDER,

1996; HO e SIRKAR, 1992). Este parâmetro será discutido com mais detalhes no Capítulo 5.

2.4.3 Fator de Concentração Volumétrico

O fator de concentração volumétrico (*FCV*) é uma variável limitante do processo porque está diretamente ligado ao fluxo permeado, isto é, a medida que a solução é concentrada o fluxo permeado diminui. O *FCV* é definido conforme a Equação 2.4.

$$FCV = \frac{V^{in}}{V^R} = \frac{V^{in}}{V^{in} - V^p} \quad (2.4)$$

onde V^{in} é o volume inicial da solução; V^R é o volume do retido; V^p é o volume de permeado.

No processo de concentração de um dado componente através da membrana a concentração de um soluto durante o processo varia tanto em função tanto da redução de volume, como da retenção do soluto pela membrana.

2.5 Problemas que afetam os PSM

As alterações no desempenho dos PSM podem ser causadas por diversos fatores, os mais comuns são a polarização por concentração e o *fouling*. Estes fatores induzem a resistências adicionais ao transporte através da membrana no lado da alimentação. A extensão destes fenômenos é fortemente dependente do tipo de PSM e da solução de alimentação.

Quando uma solução, contendo solutos dissolvidos, total ou parcialmente, e sobre pressão, entra em contato com uma membrana, o soluto é levado à superfície desta película seletiva por transporte convectivo. O solvente e as partículas de dimensões menores do que o diâmetro dos poros da membrana a atravessam, enquanto os macrosolutos são retidos na superfície. Observa-se que há um aumento da concentração de solutos na região próxima à superfície da membrana (interface membrana/solução), que é superior em relação à concentração no seio da solução que está sendo filtrada. Este fenômeno é conhecido como polarização por concentração. Isto cria um gradiente de

concentração que é compensado, em parte, por uma difusão destes solutos no sentido contrário ao do solvente que permeia a membrana.

A seguir, são apresentadas as principais consequências deste fenômeno:

- diminuição na retenção devido ao aumento da concentração de soluto na superfície da membrana a retenção observada pode diminuir; isso ocorre, principalmente, na separação de solutos de baixa massa molar (sais);
- aumento na retenção pode ocorrer na separação de misturas contendo solutos macromoleculares, onde a polarização por concentração pode ter influência decisiva na seletividade do processo; ou seja, as partículas de maior massa molar, retidas completamente, acabam por formar uma camada extra na superfície da membrana, que acaba retendo um número maior de partículas menores;
- diminuição do fluxo através da membrana, como o fluxo é proporcional à força motriz exercida sobre o processo, e a constante de proporcionalidade pode ser considerada como o inverso da soma das resistências.

Pode-se considerar este fenômeno bem mais severo em membranas de MF e UF, pois nestas, o coeficiente de difusão das macromoléculas retidas, ou das partículas suspensas, é pequeno, quando comparado aos valores aplicados aos componentes retidos nos processos de OI e pervaporação. Além disso, o fluxo, através das membranas de MF e UF, é consideravelmente maior, aumentando as consequências deste fenômeno.

A polarização em ED descreve o conjunto de fenômenos que ocorrem quando uma corrente elétrica passa através de uma interface a uma densidade de corrente maior do que aquela que a interface pode prontamente transmitir (SPIEGLER, 1971). Como a ED normalmente apresenta células com fluxos de solução, a polarização não ocorre no seio da solução, onde seria destruída pelo fluxo turbulento, mas sim na camada limite formada na interface junto à membrana. Se uma corrente elétrica excessivamente alta for aplicada, a concentração de íons na camada estagnada próxima a membrana cai à zero. Da mesma forma, no outro lado da membrana, vai ocorrer um acúmulo de íons, uma vez que estes chegarão a uma taxa maior do que conseguem difundir para o seio da solução. Quando esta situação for atingida, o processo passa a ser limitado pela difusão dos íons até a

membrana através da camada estagnada (LINDSTRAND *et al.*, 2000). A Figura 2.2 mostra um esquema simplificado da polarização por concentração para uma membrana catiônica.

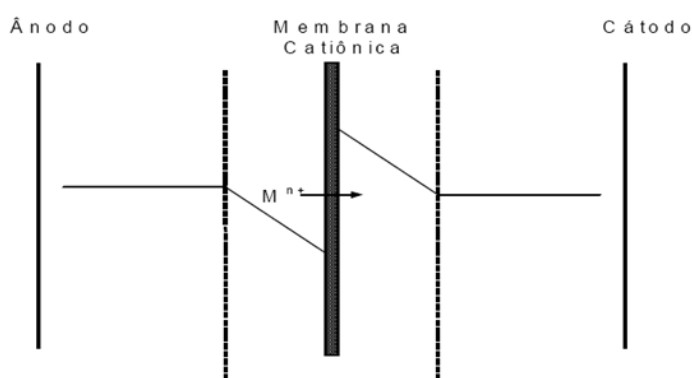


Figura 2.2: Esquema simplificado de polarização por concentração em uma membrana catiônica no processo de ED.

Estudos sobre polarização por concentração em ED foram realizados por diversos autores (SPIEGLER, 1971; COWAN e BROWN, 1959). Esses estudos podem ser classificados de acordo com o método utilizado para as medidas (TANAKA, 2005), e podem variar desde curvas de corrente-voltagem, até cronopotenciometria ou determinação do índice de refração.

O valor de corrente elétrica em que a polarização ocorre é denominado de corrente limite. A corrente limite é, portanto, definida como o primeiro valor de corrente no qual o processo passa a ser limitado por difusão. Um método bastante empregado para a determinação da corrente limite foi desenvolvido por COWAN e BROWN (1959). Esse método baseia-se na relação entre a voltagem total da célula e a corrente. A corrente é aumentada ponto a ponto em incrementos pequenos o suficiente, de modo que valores quase-estacionários de corrente e potencial sejam obtidos. A curva apresenta-se linear até o ponto em que começa ocorrer polarização por concentração. A curva se caracteriza por apresentar três regiões distintas: a primeira região é linear dada pela resistência ôhmica da solução e da membrana entre os eletrodos; a segunda região é caracterizada por um platô causado pela diminuição dos íons na camada limite e uma terceira região na qual a corrente aumenta linearmente. A Figura 2.3 mostra as três regiões obtidas por este método.

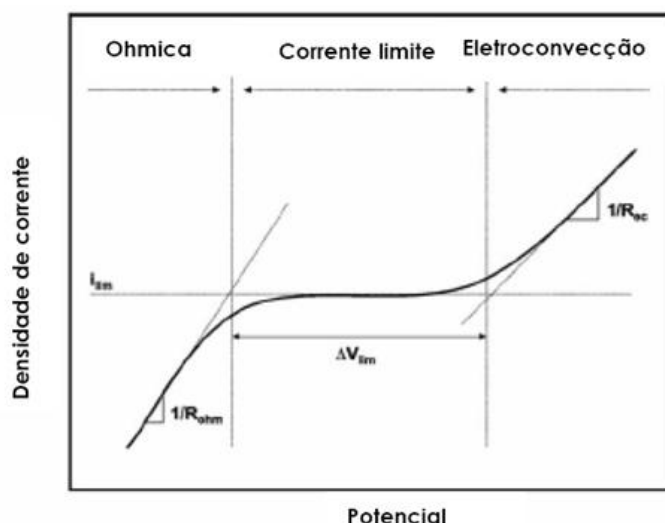


Figura 2.3: Gráfico de densidade de corrente em uma curva corrente-potencial.

Se for aplicada uma corrente elétrica acima da corrente limite a dissociação da água vai ocorrer na interface da membrana a fim de fornecer os íons necessários para o transporte elétrico. Como resultado desta dissociação alguns fenômenos são observados: aparecimento de um sobre potencial de polarização opondo-se ao fluxo de corrente que resulta em um aumento da resistência elétrica do sistema e consequentemente do consumo de energia; alterações de pH na interface membrana-eletrólito; desenvolvimento de cargas na membrana, o que pode acarretar danos irreversíveis.

Nas membranas sujeitas a alto fluxo, como aquelas utilizadas na UF e na MF, segundo BACCHIN *et al.* (2006) a zona de polarização não pode ser evitada, mas os seus efeitos na redução do fluxo permeado podem ser controlados através das condições operacionais, como baixa pressão e alta turbulência junto à superfície da membrana.

A polarização por concentração é um fenômeno reversível, ou seja, quando o estado estacionário é atingido, o fluxo através da membrana é menor do que o existente inicialmente, mas este não diminui mais com o passar do tempo e cessa quando o processo deixa de operar. O que se observa, normalmente, em um PSM, entretanto, é um declínio contínuo do fluxo, mesmo após o estado estacionário ser atingido. Este declínio contínuo decorre da existência de outro fenômeno: o *fouling* (MULDER, 1996).

O *fouling* pode ser definido como a deposição indesejável e (ir)reversível de partículas dissolvidas, suspensas ou coloidais na superfície da membrana e/ou no interior dos poros. O *fouling* inclui os fenômenos de adsorção, bloqueio de poros, precipitação e

formação de torta e ocorre, principalmente, nos processos de MF e UF, onde membranas porosas, mais susceptíveis ao fenômeno, são utilizadas (MULDER, 1996; RAUTENBACH e ALBRECHT, 1989).

A deposição de alguns componentes da alimentação na superfície da membrana ou dentro de seus poros acaba formando uma camada delgada. Neste estágio, geralmente a concentração de partículas próxima à superfície filtrante não varia mais e estabelece-se, então, a camada gel, conhecida também como membrana dinâmica secundária. O transporte da solução permeante através da membrana é perturbado pelo aparecimento de uma resistência adicional a resistência devido à camada de gel, além daquelas já oferecidas pela membrana e pelo fenômeno de polarização por concentração. À medida que a espessura da camada de gel aumenta esta resistência ao fluxo permeado torna-se maior (BACCHIN *et al.*, 2006).

A natureza e a extensão do *fouling* são influenciadas consideravelmente pela composição química da membrana e pelas interações soluto-membrana. Os principais fenômenos que contribuem para o *fouling* estão apresentados a seguir:

- adsorção das moléculas de soluto na superfície da membrana e/ou no interior de seus poros devido à interações físico-químicas com o material da membrana;
- entupimento de poros por moléculas ou partículas em suspensão, trata-se da ação mecânica de bloqueio de poros, que pode ocorrer tanto na superfície como no interior da membrana, dependendo de sua morfologia;
- depósito de material em suspensão sobre a superfície da membrana com formação de uma torta de filtração (camada gel).

Em membranas de ED, também pode ocorrer *scaling*, o *fouling* mineral, que é a formação de um precipitado cristalino de sal inorgânico usualmente do lado da membrana aniônica onde a concentração de cátions é alta devido à polarização por concentração. O *scaling* na membrana pode ocorrer em presença de íons de cálcio e magnésio. O *scaling* afeta a eficiência da ED significativamente, sendo que os materiais que precipitam na superfície da membrana necessitam ser removidos com soluções de limpeza, e a frequência dessa limpeza depende da concentração de tais materiais na solução de alimentação (STRATHMANN, 2001). Para que o *scaling* seja evitado deve existir um

controle sobre a tensão/corrente, já que o *scaling* ocorre por consequência da polarização por concentração.

Medidas que visem à redução da incidência destes fenômenos são importantes, uma vez que o declínio de fluxo pode ser responsável por perdas econômicas. Mais importante, entretanto, é o discernimento entre os fatores causadores deste fenômeno, principalmente entre os fenômenos de polarização por concentração e *fouling* (embora ambos não possam ser considerados independentes, pois um fator - polarização por concentração pode ser o causador do outro - *fouling*) (MULDER, 1996).

A fim de reduzir o fenômeno de polarização por concentração algumas ações podem ser tomadas, tais como a manipulação das condições de operação: pode-se tentar diminuir a pressão transmembrana, aumentar a velocidade de escoamento ao longo da membrana, alterar a configuração do módulo (diminuindo seu comprimento, aumentando o diâmetro hidráulico ou testando uma configuração diferente, geometria dos espaçadores) ou, até mesmo, aumentar a temperatura da alimentação (MULDER, 1996).

O controle da camada de gel pode ser feito através do aumento da velocidade tangencial, provocando maior turbulência. A agitação e a mistura da solução, próxima à superfície da membrana, arrasta parte significativa dos sólidos acumulados, na maioria das vezes por adsorção, reduzindo a espessura da camada gel e aumentando a taxa de permeação. Além deste método, a aplicação de baixas pressões e a escolha do material constituinte da membrana são outros fatores bastante efetivos, que reduzem a adsorção de solutos (BACCHIN *et al.*, 2006).

Para prevenir a formação de *fouling* diferentes estratégias foram avaliadas na literatura. BRANS *et al.* (2004) expõem que o método de *backpulsing* é mais eficiente que outros métodos, tais como promotores de turbulência e *backwashing*, pois a remoção dos componentes da superfície da membrana se mostrou mais eficiente podendo ser controlada em larga escala.

Na ED os fenômenos de *fouling* e *scaling* que ocorrem nas membranas podem ser evitados aplicando a eletrodialise inversa. Neste modo de operação, a polaridade da corrente muda em intervalos de tempos específicos, variando de uns poucos minutos para algumas horas. Dessa forma, as correntes dos fluxos são variadas simultaneamente, ou

seja, o compartimento diluído passará a ser o concentrado e vice-versa. A vantagem da reversão da polaridade consiste na redissolução da precipitação nas células da solução concentrada, na medida em que se processar a mudança na polaridade (SATA *et al.*, 2002).

Embora todos os métodos citados acima reduzam o *fouling* de alguma maneira, os métodos que visam à limpeza da membrana devem sempre ser utilizados, porque a diminuição do fluxo através da membrana pode ocorrer mesmo que as condições de operação escolhidas sejam apropriadas. A diminuição do fluxo é um fenômeno inerente aos PSM, o que torna necessário uma limpeza periódica da membrana (MULDER, 1996).

A limpeza hidráulica, a limpeza mecânica e a limpeza química são os métodos de limpeza que podem ser utilizados. Dentre estes métodos, a limpeza química é o mais importante, envolvendo uma grande variedade de agentes químicos que podem ser usados separadamente ou em conjunto. Alguns exemplos são ácidos (como o H_3PO_4 e o ácido cítrico), bases (NaOH), detergentes (alcalinos, não iônicos), enzimas (proteases, amilases, glicanases), agentes complexantes (EDTA), desinfetantes (H_2O_2 , NaOCl) e vapor de água.

2.6 PSM aplicados aos Alimentos

Os PSM são amplamente estudados por pesquisadores, e vêm sendo utilizados nas indústrias de alimentos, em aplicações que envolvem desde tratamento de efluentes até a concentração e a purificação de substâncias presentes em solução. Na literatura existe uma diversidade e uma quantidade muito grande de trabalhos que tratam dos mais diferentes ramos da indústria de alimentos: sucos, laticínios, óleos, etc. Nesta seção é apresentada uma revisão considerando os artigos publicados mais relevantes para o desenvolvimento deste trabalho.

CHOVE *et al.* (2007) estudaram o uso da MF para obter frações de isolados de proteína de soja. Concluíram que as membranas podem ser utilizadas como um método competitivo à precipitação seletiva das espécies de proteína por mudanças de pH, resultando em uma fração de determinada espécie de proteína mais pura e consequentemente características funcionais realçadas. Enquanto, ALICIEO *et al.* (2002) estudaram a aplicação de membranas de UF na produção de óleo de soja.

Para VAN REIS e ZYDNEY (2001), a MF pode ser usada para clarificação de soluções e a UF, em muitos processos biotecnológicos. As membranas também têm o seu uso difundido para eliminar bactérias de alimentos líquidos. A filtração estéril dos meios de fermentação, a purificação de soluções tampão e a produção de produtos proteicos são praticadas na indústria utilizando membranas.

GIRALDO-ZUÑIRA *et al.* (2004) relatam que MF pode ser utilizada industrialmente como uma alternativa para a pasteurização ou a esterilização (a frio) parcial de alimentos, pois retém microrganismos durante a operação. E, adicionalmente, as características sensoriais e nutricionais dos compostos processados são mantidas, pois não é necessário calor para a operação.

AFONSO *et al.* (2004) avaliaram a viabilidade econômica e a utilização de membranas de UF e NF para a recuperação da proteína presente no efluente da produção de pescados. Os autores concluíram que a aplicação deste sistema em nível industrial é viável economicamente e observaram que a retenção máxima de proteína pela membrana de UF (MMC de 15 kDa) foi de 60%, enquanto a membrana de NF (MMC 1 kDa) reteve em torno de 65%.

KUCA e SZANIAWSKA (2009) avaliaram a MF no tratamento de efluentes a partir do processamento da indústria do peixe. Os autores concluíram que a seletividade, permeabilidade e o *fouling* das membranas dependem do pH, pressão transmembrana e da presença de cloreto de sódio na alimentação. Foi observado que o aumento do pH e a adição de NaCl causaram uma redução da retenção devido a dificuldade de agregação das proteínas e da redução da adsorção na superfície da membrana.

REIMANN (2005) citou um processo resultante de sucessivos passos para obtenção do ácido láctico purificado após um processo fermentativo. Foram utilizados no estudo os seguintes processos: UF, eluição em resina de troca iônica, ED com membrana monopolar/bipolar e evaporação. O grau de purificação do ácido láctico aumentou quando os PSM foram empregados.

BABU e GAIKAR (2001), através de soluções de BSA estudaram características determinantes de *fouling* em membranas de UF. O declínio do fluxo para as membranas

estudadas foi atribuído a uma polarização por concentração próxima à superfície da membrana e a adsorção das proteínas.

CHOI *et al.* (2005) executaram experimentos bem controlados de filtração para estudar os efeitos do fluxo permeado e do escoamento tangencial no *fouling* de membranas no tratamento de efluentes. As experiências demonstraram que o fluxo permeado decai mais rapidamente com o aumento da concentração de alimentação e tamanho de poro de membrana, e com o decréscimo da velocidade de alimentação.

YUNOS e FIELD (2006) estudaram o efeito de membranas “empilhadas” para o fracionamento de proteínas. O fracionamento da proteína que usa a UF é praticável após a extensiva otimização do processo, contudo a baixa seletividade das membranas é ainda um dos fatores críticos que limitam a aplicação de sistemas da membrana ao fracionamento da proteína.

BARREDO-DAMAS *et al.* (2010) utilizaram membranas de UF para o tratamento de efluentes da indústria têxtil. A solução de alimentação tinha DQO na faixa de 960 a 2525 mg.L⁻¹. Operando com escoamento tangencial e variando a velocidade de escoamento, a DQO foi reduzida entre 62 e 79%.

SHEN *et al.* (2009) investigaram a possibilidade de purificar e concentrar colágeno através de membranas carregadas de UF. A membrana foi fabricada a partir de uma mistura de poliácridonitrila (PAN) sintetizada pela técnica da inversão de fases em água, o que modificou a hidrofiliabilidade para uma melhor eficiência anti-*fouling*. Os autores concluíram que a membrana PAN pode ser utilizada para concentração e purificação do colágeno e que a modificação da hidrofiliabilidade foi efetiva no combate ao *fouling*.

KAPPLER e POSTEN (2007) estudaram o fracionamento de proteínas baseado no tamanho e na carga destas moléculas. Para tanto, fizeram uso de uma célula de eletro-ultrafiltração, onde a solução de alimentação contém proteínas, e um campo elétrico é aplicado visando separá-las através da carga elétrica. Concluíram que esta técnica pode ser usada para obter produtos com alto teor de pureza e tempos de separação curtos, devendo ser amplamente estudada para estender sua utilização para misturas multi-componentes e biomoléculas.

MÜLLER *et al.* (2003) mostraram que altas velocidades tangenciais diminuem a polarização e reduzem a transmissão de lisozima e mioglobina. Os autores também encontraram um aumento na seletividade para velocidades tangenciais elevadas. AGARWAL (1997) estudou a transmissão de BSA e ovalbumina em um módulo de UF com módulo de escoamento rotativo. A transmissão aparente aumentou conforme a velocidade de rotação diminuiu o que significa que a transmissão aumentou com a polarização.

LI *et al.* (1997) estudaram o efeito da injeção de bolhas de gás no fracionamento do HSA e da IgG. Eles observaram uma seletividade invertida, ou seja, o HSA, mesmo sendo a molécula menor, foi o componente com a maior retenção. A seletividade invertida foi explicada pela repulsão elétrica entre o HSA e a membrana. A injeção de bolhas de gás provocou a redução da passagem de ambos os componentes, mas a passagem do HSA foi menor, o que levou a um aumento da seletividade.

GOSH *et al.* (1998) estudaram o efeito da injeção de bolhas de gás no fracionamento do BSA e da lisozima por UF, sendo que o BSA foi o componente menos transmissível. Os autores também descobriram que a injeção de gás reduz a transmissão do BSA e da lisozima, mas o efeito foi maior para o BSA, o que levou ao aumento da seletividade.

KAUR e AGARWAL (2002) estudaram o efeito sobre o fluxo com vórtices de *Dean* na transmissão de proteínas. Os autores encontraram que a transmissão de lisozima aumenta com o decréscimo da velocidade tangencial.

BALAKRISHNAN e AGARWAL (1996A) estudaram o fracionamento de proteínas com módulo de escoamento rotativo, onde mediram a transmissão de lisozima, ovoalbumina e mioglobina. As transmissões de ovoalbumina e mioglobina diminuíram com a velocidade de rotação. No entanto, a transmissão de lisozima aumentou com o aumento da velocidade de rotação. A lisozima também mostrou uma transmissão de 100%. Segundo os autores, estes efeitos diferentes podem ser explicados por interações elétricas. Em um trabalho posterior BALAKRISHNAN e AGARWAL (1996B) estudaram o efeito da rotação no fracionamento de misturas de lisozima e ovoalbumina. A transmissão de lisozima aumentou e a transmissão de ovalbumina foi reduzida com o aumento da velocidade de rotação, levando a um aumento da seletividade.

CHAN *et al* (2002) estudaram a determinação de um fluxo limite aparente, a partir do qual a formação de *fouling* em membranas de UF, utilizadas na separação de diferentes misturas proteicas (binárias), era relevante ao processo. Os autores perceberam, durante os experimentos, que a retenção das proteínas de maior tamanho era determinante para o fluxo limite aparente, devido à formação de uma camada dinâmica pelas partículas retidas.

HWANG e HUANG (2009) caracterizaram membranas de MF com tamanho médio de poros de 0,1, 0,2 e 0,4 μm utilizando uma solução de dextrana com massa molar média de 2000 kDa. O objetivo era determinar os efeitos das condições de operação no fluxo permeado. Foram determinados parâmetros de caracterização das membranas, tais como fluxo permeado, retenção e resistência da membrana, e, também, foi realizada uma análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os autores determinaram valores baixos de retenção, à medida que o fluxo permeado era aumentado.

A ED tem encontrado aplicação em atividades industriais bastante diversificadas como nas indústrias de alimentos e farmacêutica. Além disso, alguns autores apontam a possibilidade de empregar a ED em processos específicos tais como: a recuperação e a concentração de ácidos e a purificação de resíduos radioativos (XU, 2005; AMADO, 2002). Uma das principais aplicações da técnica, é a dessalinização de água, atividade para a qual é considerado um processo econômico para águas com baixas concentrações de sais (até 5000 ppm). Além da dessalinização de água, a ED é utilizada no Japão para a pré-concentração de água do mar para a produção de sal de cozinha (XU, 2005).

Segundo CALLE *et al.* (2002), a ED é largamente empregada por possibilitar a separação de eletrólitos em processos como a desmineralização de vinhos, a neutralização de ácidos em sucos de frutas. Associada a outros processos ou com modificações de polaridade, a ED, também, é utilizada para separar misturas de aminoácidos e proteínas. Normalmente, os aminoácidos são obtidos por hidrólise proteica e síntese microbiológica e química, onde são contaminados por componentes minerais.

De acordo com BOBRESHOVA *et al.* (2002), uma alternativa de desmineralização e fracionamento de aminoácidos é o processo de ED. ELISSEEVA *et al.* (2002), utilizaram a ED para separar aminoácidos, produzidos por processo biotecnológico, de sais minerais e açúcar.

GONÇALVES *et al.* (2003) investigaram a ED para remoção do tartarato de potássio da etapa de estabilização tartárica do vinho, pois este sal gera um precipitado indesejável após o engarrafamento do vinho. A ED pode ser utilizada ainda para: separação de íons de mesma carga ou com cargas diferentes (STRATHMANN, 2001); purificação de ácidos orgânicos e inorgânicos, assim como na obtenção de sais difíceis de sintetizar, a partir de outros facilmente adquiridos comercialmente (GÓMEZ, 1999).

O desempenho de um processo de ED de dois compartimentos, utilizado para concentrar solução de lactato de amônio do caldo de fermentação do lixo de cozinha, foi estudado por CHENG *et al.* (2008). O procedimento experimental indicou que este processo é eficaz na concentração e purificação do lactato de amônio, e, ainda, que o aumento da concentração da solução inicial aumenta a eficiência da corrente elétrica e, conseqüentemente, do processo.

A ED com membranas bipolares tem sido aceita como uma tecnologia limpa para a produção de ácidos orgânicos, pois pode dissociar moléculas de água em H^+ e OH^- sem introdução de outros sais no processo. Porém, este tipo de ED ainda não é amplamente utilizado industrialmente, porque o custo envolvido é bastante elevado.

WANG *et al.* (2010a) empregaram a metodologia de superfície de resposta para determinar as condições ótimas na produção de ácidos orgânicos utilizando ED com membranas bipolares. O ácido glucônico foi escolhido como ácido orgânico modelo, e o delineamento experimental foi utilizado para quantificar os efeitos da densidade de corrente, concentração dos eletrólitos, e concentração de alimentação, no custo do processo. Segundo a análise das curvas, as melhores condições encontradas pelos autores foram as seguintes: densidade de corrente, 44 mA.cm^{-2} ; a concentração de eletrólitos igual a $0,12 \text{ mol.dm}^{-3}$ e a concentração de alimentação igual a $0,15 \text{ mol.dm}^{-3}$. Além disso, os resultados experimentais obtidos mostraram boa concordância com as previsões, sugerindo que a metodologia de superfície de resposta é uma boa ferramenta para modelagem do processo de ED.

WANG *et al.* (2010b) realizaram testes de ED com membranas bipolares para produzir ácidos orgânicos com o intuito de diminuir o custo deste processo. A ED convencional foi integrada a ED bipolar, ou seja, sais concentrados orgânicos gerados na ED convencional serviam como alimentação para a ED bipolar. Para avaliar a

funcionalidade dessa integração, gluconato de sódio foi escolhido como sal modelo para a produção de ácido glucônico. Os resultados indicaram que esta integração poderia aumentar a eficiência de corrente em até 100% e baixar o consumo de energia, devido à concentração de gluconato e das reações de eletrodo da ED convencional. Além disso, o custo do processo de ED convencional associado a ED com membranas bipolares, foi estimado em US\$ 0,31 kg⁻¹, que foi menor do que a ED somente com membranas bipolares (US\$ 0,39 kg⁻¹).

Comparada ao processo de OI, a ED apresenta a vantagem de ser capaz de utilizar membranas mais estáveis química e termicamente, além de representar um consumo menor de energia. O processo pode ser realizado com temperaturas elevadas e em soluções de alto e baixo pH. Além disso, as concentrações do material recuperado podem ser elevadas. A desvantagem é que apenas componentes iônicos podem ser removidos e os aditivos presentes no banho não podem ser recuperados (XU, 2005).

2.6.1 PSM aplicados ao Leite e ao Soro de Leite

As diversas técnicas de separação por membranas existentes hoje em dia permitem extrair do leite e do soro certos componentes com atividades biológicas, funcionais e nutricionais interessantes. Nesta seção foi realizada uma revisão bibliográfica a respeito dos PSM que vêm sendo aplicados para tais fins.

LEITE *et al.* (2006) relatam que os PSM estão sendo utilizados desde a década de setenta na indústria de laticínios, destacando-se a MF e a UF, mas, existe aplicação em potencial para todos os tipos de processos com membranas. De acordo com SMITH (2003), hoje, a separação por membranas é uma tecnologia estabelecida. Estima-se que a área superficial de membranas instalada mundialmente na indústria de laticínios atinja 500.000 m²; cerca de 70% desta área é usada para o tratamento de soro de leite.

BRANS *et al.* (2004) fizeram um estudo sobre o fracionamento do leite utilizando membranas, e concluíram que esta tecnologia é uma escolha adequada para o fracionamento do leite, pois muitos dos seus componentes podem ser separados por diferenças de tamanho. A UF, por exemplo, é uma tecnologia que pode ser aplicada na indústria de laticínios para o processamento do leite integral, semi-desnatado ou desnatado, sendo inclusive utilizada, segundo ERDEM *et al.* (2006), CHEANG e ZYDNEY (2003), GUADIX *et al.* (2004) e AKOUM *et al.* (2004), na separação de lactose do leite, na

padronização do valor nutricional de diferentes tipos de leite, na concentração do leite para a fabricação de queijos, na recuperação de proteínas, na pré-concentração do leite para a produção de iogurte e no fracionamento de proteínas do leite.

De acordo com GIRALDO-ZUÑIRA *et al.* (2004), YADA (2004) e BRANS *et al.* (2004), a MF pode ser empregada na indústria de laticínios adequando-se ao fracionamento de proteínas do soro e à separação de microrganismos e glóbulos de gordura do leite e do soro. A MF reduz a quantidade de bactérias e esporos sem afetar o sabor do leite e promove a durabilidade do produto tanto quanto a pasteurização do leite, além de promover a separação dos glóbulos de gordura que possuem diâmetro entre 0,1 μm a 15 μm . Segundo estes autores, a MF em comparação com os métodos convencionais, tal como a centrifugação, para a remoção de glóbulos de gordura, é mais eficiente, pois não provoca a quebra de moléculas que fornecem o sabor aos alimentos.

GIRALDO-ZUÑIRA *et al.* (2004) ainda relatam que no processo de concentração por UF é conveniente remover previamente os glóbulos de gordura por MF para evitar a obstrução dos poros das membranas de UF, e desta forma aumentar a eficiência do processo. Segundo YADA (2004), a MF também pode ser utilizada para reter as micelas de caseína, para isto membranas cerâmicas podem ser utilizadas obtendo-se a caseína concentrada e pura. No entanto, para se obter um concentrado com as proteínas totais do leite membranas de UF são mais adequadas, porque essas retêm, além das caseínas, as proteínas solúveis.

BACCHIN *et al.* (2006) fazem uma revisão sobre o fluxo crítico. Entre as suas conclusões os autores relatam que a estabilidade da solução (envolvendo pH e força iônica), assim como a concentração e a massa molar das partículas em solução são fatores relevantes para determinar o fluxo crítico. Normalmente, um aumento de pH acima do ponto isoelétrico de soluções proteicas, aumenta o fluxo crítico. Por exemplo, nas soluções de concentrados proteicos do soro e suspensões de caseinatos de sódio há um aumento do fluxo crítico com o aumento de pH.

CHOLLANGI e HOSSAIN (2006) examinaram o fracionamento do efluente da indústria leiteira rico em lactose e proteína usando membranas de UF. Três membranas de MMC de 3, 5 e 10 kDa foram testadas para determinar a eficiência do processo. A recuperações de lactose no permeado de 80, 90 e 100 % pode ser conseguida usando as

membranas de 3,5 e 10 kDa, respectivamente. Segundo BUTYLINA *et al.* (2006), a UF e a NF são aplicadas no processamento de leite a fim de aumentar a quantidade de proteína no concentrado de proteína do leite.

De acordo com BALANNEC *et al.* (2005), AKOUNM *et al.* (2004) e KHIDER *et al.* (2004), a NF vem sendo usada no tratamento de águas residuais na indústria de laticínios. REKTOR E VATAI (2004) e ATRA *et al.* (2005) expõem que a NF pode ser usada para concentrar o permeado da UF do leite ou do soro. ATRA *et al.* (2005) obtiveram na NF alta concentração de lactose no concentrado com uma recuperação de 90% e o permeado propício para a reutilização na linha de produção. KHIDER *et al.* (2004) estudaram a aplicação de membranas de UF e NF para o tratamento do efluente proveniente da indústria leiteira. Nos experimentos de UF, os autores puderam observar que quanto maior a diferença de pressão utilizada, maior a retenção de proteína e lactose (sendo a retenção de proteína maior que a de lactose, para qualquer ΔP); a retenção máxima obtida ficou em torno de 80%.

MINHALMA *et al.* (2007) utilizaram a NF para a recuperar os nutrientes orgânicos do soro do queijo tipo Serpa. Segundo os autores, a NF tem uma vantagem quanto aos outros processos, já que proporciona simultaneamente a concentração e desmineralização do soro, levando a uma redução nos custos finais e à redução do desperdício de água. O experimento de concentração mostrou que o processo permitiu uma recuperação de 80% de água, e concentração de nutrientes cinco vezes maior que o valor inicial.

Processos como ED e OI também encontram aplicações na indústria leiteira. Segundo STRATHMANN (2001), na indústria de laticínios, a ED pode ser largamente empregada por possibilitar a separação de eletrólitos em processos como a desmineralização do soro do leite. GREITER *et al.* (2004) compararam o desempenho de uma unidade de ED com uma de troca iônica na desmineralização do soro e relataram o melhor desempenho da primeira técnica em relação à separação de íons e o menor consumo de energia no processo. Uma etapa de pré-concentração do soro, anterior a desmineralização, eleva o conteúdo de sólidos para 20 a 30%, como consequência aumenta a capacidade de utilização da unidade e reduz o consumo de energia. Conforme YADA (2004) e GRANDISON e LEWIS (1996), uma importante aplicação da ED na indústria de laticínios é o fracionamento de proteínas baseado no seu ponto isoelétrico.

Os sais minerais afetam o sabor, a funcionalidade e o valor dos produtos. A desmineralização é, portanto, um processo importante na produção de produtos de soro de leite. No entanto, o *fouling* é um dos problemas comuns em ED (ATAMANENKO, 2004 e BAZINET *et al.*, 2001) e este fenômeno pode alterar irreversivelmente a integridade da membrana e diminuir a eficácia do processo.

Estudos para a compreensão dos fenômenos de *fouling* na ED, foram realizados por diversos autores (CASADEMONT *et al.*, 2009, CASADEMONT *et al.*, 2008; BAZINET e ARAYA-FARIAS, 2005; AYALA-BRIBIESCA *et al.*, 2007; AYALA-BRIBIESCA *et al.*, 2006). Todos estes autores mostram a presença de *fouling* mineral em estudos com soluções modelo de soro de leite o que aumenta a resistência aparente do sistema e diminui a eficiência do processo de ED.

A ED que utiliza membranas bipolares é um processo diferente da ED convencional, uma vez que usa as propriedades da membrana bipolar para dividir moléculas de água. Foi utilizada por BAZINET *et al.* (2001) para produzir isolados de caseína com alta pureza. Nos estudos destes autores o *fouling* formado foi identificado como a mistura de CaCO_3 e Ca(OH)_2 e foi observado em ambos os lados e na estrutura da membrana catiônica.

AYALA-BRIBIESCA *et al.* (2007) estudaram o efeito do pH da solução de eletrodos e da composição da solução a ser tratada por ED, no *fouling* de membranas trocadoras de íons. A condutividade elétrica, a resistência do sistema, o pH da solução que está sendo diluída e a migração de cátions, foi monitorada para acompanhar a evolução do processo de desmineralização. A migração de cátions total foi semelhante para todas as condições, embora diferentes formas de *fouling* fossem identificados após três tratamentos de ED de 100 min. A natureza do *fouling* e a superfície da membrana contaminada dependem do valor de pH do concentrado (solução de eletrodos), da composição mineral do diluído e a composição do isolado proteico de soro do leite. Algumas condições que ajudam a provocar o *fouling* na membrana foram identificadas e uma configuração de célula de ED alternativa foi proposta. Estes autores mostraram em seus estudos que condições ácidas e neutras levam à formação de *fouling* de natureza proteica no lado do diluído da membrana aniônica, e que condições alcalinas impedem esta formação. Enquanto, nas membranas catiônicas estas incrustações não foram claramente visíveis. As membranas catiônicas (na face em contato com o concentrado – solução de eletrodos) apresentaram *scaling* em

condições básicas, especialmente quando o cálcio estava presente, e este teria precipitado como hidróxido de cálcio. *Scaling* na face voltada para a solução de eletrodos da membrana aniônica, deve-se à recirculação e à mistura de ânions e cátions. A configuração da célula com membranas paralelas e o modo de operação envolvendo recirculação, faz com que o cálcio migre através da membrana catiônica e precipite na superfície da membrana aniônica possivelmente como hidróxido de cálcio. Os autores sugerem, de acordo com essas observações, a separação dos compartimentos da solução de eletrodos, em dois circuitos diferentes, isto, segundo eles, impediria a formação de ambos *foulings*, o de origem mineral e o de origem proteica. E, ainda, acrescentam que manter o pH do sistema neutro pode evitar o *scaling* nas membranas.

CASADEMONT *et al.* (2008) estudaram o tratamento de soluções padrão com diferentes concentrações de Mg e Ca em diferentes pHs. *Scaling* foi identificado em condições básicas e neutras sob a membrana aniônica, na superfície em contato com a solução de eletrodos. O modo de operação com recirculação das soluções e o uso de soluções supersaturadas em cálcio e magnésio pode agravar este tipo de *fouling*.

BAZINET *et al.* (2001) utilizaram membranas bipolares de ED para produzir isolados de caseína com elevada pureza. Observaram, em seus experimentos, depósitos de sais de cálcio e magnésio nas membranas catiônicas quando a solução de eletrodos era alcalina. Com análises de microscopia eletrônica associada à espectrometria de massas descobriram que havia depósitos em ambas as superfícies da membrana catiônica assim como no seu interior. O *fouling* foi identificado como carbonato e hidróxido de cálcio. BAZINET e ARAYA-FARIAS (2005) concluíram em seus estudos que devido ao pH básico na superfície da membrana em contato com a solução de eletrodos, o cálcio teria precipitado para formar hidróxido de cálcio na membrana catiônica, enquanto o cálcio que migra através da membrana catiônica, é bloqueado pela membrana aniônica onde provoca a formação de *fouling*.

ATAMANENKO *et al.* (2004) estudaram o *scaling* em membranas após a dessalinização de águas. Os autores observaram que houve um depósito significativo de CaSO_4 solúvel na superfície de membranas catiônicas de ED. Este *scaling* resultou na obstrução de cerca de 50% dos mesoporos da membrana, com tamanho de cerca de 50 Å. No caso das membranas aniônicas os bloqueios de micro e macroporos foram insignificantes. Os autores observaram que o *fouling* formado não foi localizado somente

nas superfícies das membranas, houve também, penetração profunda na matriz polimérica (bloqueio de poros) e, portanto, aumento de resistência nos sistemas de permeação.

DEC e CHOJNOWSKI (2007) estudaram a valorização de soro de leite ácido (do queijo *Twarog*) através de membranas de NF. O processo foi caracterizado através das taxas de desmineralização e desacidificação do soro. O uso de NF foi aplicado para concentrar os seus teores de sólidos em torno de três vezes. A desmineralização obtida foi de 40% durante a NF e de 60% durante a DF. Os níveis de desacidificação obtidos foram de 30% para a NF e 44% para a DF. A redução de ácido láctico obtida mostrou que o soro ácido deve ser neutralizado após a NF. Devido a estas características de pH, o soro de leite ácido concentrado tem mais limitações de uso que o soro de leite doce, mas é ideal para ser utilizado em alimentos como: sorvetes, iogurtes e xaropes.

SPRINCHAN (2009) estudou a valorização da porção proteica do soro de leite. A recuperação dos componentes do soro de leite pode ser realizada a partir de diferentes técnicas: química, térmica, diálise, eletrodiálise, troca iônica, e outros métodos com membranas. Os métodos térmicos e químicos, correspondentemente, provocam a desnaturação e a contaminação de proteínas com reagentes químicos, que reduzem o valor biológico dos produtos obtidos e restringem a sua aplicabilidade. Os métodos de membranas (especialmente a UF) permitem recuperar a quantidade máxima de proteína, mas tem custo elevado. Os métodos de troca iônica tem como vantagem o fracionamento das proteínas, mas também são caros. A ED para recuperar proteínas do leite envolve a regeneração regular das membranas, o que também tem como desvantagem, o elevado custo. Segundo o autor o método mais eficaz de recuperação de proteínas do soro do leite é aplicar técnicas baseadas na combinação de dois ou mais métodos. Nas investigações realizadas o autor estudou o método de recuperação do soro de leite através de técnicas eletrofísicas (utilizando características da ED, troca iônica e métodos químicos, a conversão de lactose e a redução de proteínas em aminoácidos). O método permitiu recuperar cerca de 60% das proteínas contidas no soro de leite inicial na forma de um concentrado proteico, e produzir soro desproteínizado que contém uma grande quantidade de aminoácidos, elevada porcentagem de lactulose (que é produzida a partir da lactose durante o processo) e lactose residual.

RICEA *et al.* (2009) estudaram a NF do permeado da UF de leite desnatado para produzir um concentrado de lactose com elevado teor de cálcio, com a retirada simultânea

de indesejados sais monovalentes. No trabalho dos autores, experimentos em escala de bancada foram utilizados para identificar a extensão e a natureza do *fouling* que podem ocorrer durante operações deste gênero. Foi demonstrado que o *fouling* de soluções reais é substancialmente diferente do *fouling* de soluções simuladas (modelo), indicando que pequenas quantidades de proteínas nativas permeiam. O *fouling* ocorre mais rapidamente em altas temperaturas (50°C) e em pHs alcalinos (8,9), devido, especialmente, à precipitação de fosfato de cálcio que forma uma camada espessa de *fouling* visível na membrana.

A OI, de acordo com BRANS *et al.* (2004), é usada na remoção da água do soro. GIRALDO-ZUÑIRA *et al.* (2004) indicam que a OI pode ser usada na pré-concentração ou concentração do leite e do soro, da lactose e de proteínas do soro, e, também pode ser utilizada no tratamento de efluentes da indústria de laticínios.

BALANNEC *et al* (2005) estudaram a aplicação de membranas de NF e OI (em um único estágio) no tratamento do efluente proveniente da indústria leiteira. Em todos os experimentos, o fluxo diminuiu severamente logo no início da filtração, mas uma lavagem com água a 25 °C mostrou-se eficiente para o restabelecimento do mesmo na maioria dos casos. As membranas de OI se mostraram mais eficientes na redução da carga orgânica. A retenção de lactose ficou entre 98 e 99%.

Parâmetros como temperatura, pressão transmembrana, fluxo e pH vêm recebendo atenção dos pesquisadores. CHOLLANGI E HOSSAIN (2006) testaram a influência da ΔP na retenção, em soluções contendo proteína e lactose. Constataram que para uma membrana de UF de 10 kDa a retenção da proteína é baixa (aproximadamente 60%) em ΔP menores que 2 bar, isto pode ser melhorado para aproximadamente 95% em ΔP de 2,5 a 3 bar. Ainda concluem que a membrana de UF de 10 kDa é eficiente para produzir duas frações: o permeado com teor elevado de lactose (aproximadamente 100%) e o retido com elevado teor de proteína (aproximadamente 95%).

CHEISON *et al.* (2007) realizaram a hidrólise do isolado proteico do soro de leite com a enzima protease, através de escoamento tangencial utilizando um reator de membranas. Os resultados mostraram que o fluxo permeado no reator aumentou com o aumento da temperatura do retido e com a concentração da enzima.

SIMMONS *et al.* (2007) estudaram o efeito da temperatura na agregação das proteínas do soro e suas implicações no *fouling* do leite. No leite, a composição e a produção da camada de *fouling* são controladas pelas reações que formam os agregados das proteínas do soro. Em temperaturas inferiores a 75 °C os agregados formados são pequenos e possuem ligações fracas, enquanto os agregados formados em temperaturas mais elevadas são densos e mais rígidos. Isto foi atribuído a ligações fracas (forças de *van der Waals*) entre as partículas em baixas temperaturas e ligações fortes (por pontes dissulfito) em temperaturas mais elevadas. O crescimento dos agregados ocorre em dois estágios, primeiro ocorre a formação de pequenas partículas devido à desnaturação da proteína nativa, depois ocorre a aglomeração e a agregação destas partículas devido a colisões que ocorrem durante o escoamento e que acabam formando partículas maiores. A adição de minerais em uma solução de concentrado proteico com 35% de proteína resultou na formação de agregados menores e depósitos maiores, isto é explicado pelos autores por ligações de cálcio com a β -Lg.

LEITE *et al.* (2006) afirmam que o sistema de filtração tangencial é largamente utilizado em processamento do leite e soro de queijo, porque facilita o arraste dos solutos, evitando que estes se acumulem sobre a superfície da membrana.

RAO (2002) constatou que o fluxo permeado de soro é fortemente influenciado pelo pH. O autor descreveu que o fluxo aumenta inicialmente com o aumento do pH, mas também aumenta o *fouling* posterior, provocando uma redução do fluxo. A diminuição do pH implica em uma redução do fluxo inicial, mas diminui o *fouling* posterior. O aumento no fluxo inicial em altos valores de pH, para o soro, pode ser explicado por mudanças no estado das proteínas.

MOUROUZIS e KARABELAS (2006) estudaram o declínio do fluxo permeado de soluções de proteínas isoladas do soro em membranas cerâmicas de MF com configuração de escoamento transversal. Os testes envolveram cinco ciclos sucessivos de filtração, com pressão fixa com retrolavagem intermediária. A análise do declínio do fluxo e a resistência da membrana à permeação foram utilizadas para determinar mecanismos de *fouling*. Há evidências de que *fouling* irreversível se desenvolve efetivamente durante o primeiro ciclo de testes e aparentemente não aumenta significativamente no decorrer do experimento, no entanto, o *fouling* reversível ocorre através de toda a série de filtração, sendo mais intenso durante os primeiros minutos de

cada ciclo. Os autores concluem que os agregados de proteínas do soro presentes na solução de alimentação são responsáveis, quase exclusivamente, pelo *fouling* observado na membrana. E, ainda, sugerem que ao se trabalhar com membranas de poros grandes, como no caso da MF o processo deve ser operado em baixas pressões.

BRANS (2006) enfatiza em seu trabalho que na produção de CPS ou de IPS utilizando PSM, o controle do *fouling* é crucial, porque todas as proteínas são retidas, e a formação da “torta” e de uma camada gel ocorrem facilmente. Para isolar as proteínas do soro, a seletividade é muito importante, porque a pureza determina o valor comercial dos produtos, especialmente para aplicações farmacêuticas.

VAN REIS *et al.* (1999) demonstraram que uma seletividade ótima pode ser obtida na região do fluxo dependente da pressão. A seletividade também pode aumentar escolhendo o projeto apropriado do módulo e as condições de processo adequadas. Fatores tais como pH e força iônica também têm um impacto significativo em sistemas de concentração e separação de proteínas por membranas.

Diversas configurações de membranas podem ser utilizadas no processamento de leite e de soro. CHEANG E ZYDNEY (2004) apresentaram uma proposta para obtenção de proteína isolada de soro em uma unidade de produção com dois estágios de UF com recirculação total do concentrado. GUADIX *et al.* (2004) projetaram a instalação de uma unidade de UF de soro em processo contínuo. AKOUM *et al.* (2004) aplicaram sistemas de membranas vibratórias de UF e OI no tratamento de águas de processos da indústria de laticínios. BHATTACHARJEE *et al.* (2006) também utilizaram sistemas de membranas vibratórias e um aumento de 33% do fluxo foi observado em 1 minuto, com o disco da membrana girando a 300 rpm, comparado ao valor correspondente da membrana estacionária. Os autores atribuíram este resultado à redução da polarização por concentração, um dos principais fatores limitantes dos PSM.

BUTYLINA *et al.* (2006) afirmam que a NF, devido à MMC apropriada, é útil para separação de peptídeos do leite com massas molares entre 1 e 2 kDa que possuem atividade biológica (são apropriados para uso em alimentos infantis devido à ausência de alergenicidade). As membranas negativamente carregadas foram aplicadas para enriquecer peptídeos catiônicos com propriedades antibacterianas no soro de queijo. Os autores concluíram que a melhor maneira de fazê-lo era pela filtração através da

membrana de UF com uma massa molar de corte razoavelmente baixa (2,5 kDa) e, então, usar a NF para a purificação. No processo de UF ficaram retidas moléculas maiores que os peptídeos de até 2 kDa e usando a NF os peptídeos foram separados da lactose.

A NF, de acordo com MARTINEZ-FEREZ *et al.* (2006), pode ser usada na produção de derivados de lactose como os oligossacarídeos do leite de cabra através da filtração tangencial usando dois estágios com membranas cerâmicas de UF e NF obtendo um concentrado com mais de 80 % de oligossacarídeos, que são adicionados em formulações de produtos alimentícios infantis.

RICHARDS (2002) relata que é possível fabricar iogurte com baixo teor de lactose através dos PSM como UF e NF, e assim atender consumidores que apresentam má absorção ou intolerância à lactose.

Os PSM também podem ser utilizados na produção de queijos. Segundo CASTRO e GERLA (2005) e ATRA *et al.* (2005) as principais vantagens atribuídas à utilização da UF para produção de queijos, em relação ao processo tradicional, consistem em um aumento de rendimento, possibilidade de fabricação contínua e automatizada de queijos, economia de mão de obra e ingredientes, e a produção do soro com menor poder poluente. A UF é usada na recuperação e no fracionamento das proteínas do soro e na produção de queijos de leite ultrafiltrado, como Minas Frescal, *Cottage*, *Feta* e *Cream cheese*.

Segundo LEITE *et al.* (2006), o Brasil, apesar de ser um país relativamente novo, na implementação de PSM, já possui plantas de membranas de UF, inclusive no processamento de queijos. O queijo Minas Frescal, por exemplo, é produzido com auxílio da técnica de UF e vem sendo comercializado no Brasil desde 1988, podendo ser encontrado na forma tradicional e também com baixo teor de gordura. VEIGA e VIOTTO (2001) estudaram a fabricação de queijo *Petit Suisse* por UF de leite coagulado; também mencionam a produção do queijo *Quark* por UF, que resulta em economia de energia, maior rendimento e valor nutritivo.

De acordo com LEITE *et al.* (2006) a UF pode ser usada para se obter concentrados de proteínas a partir do soro de leite, que posteriormente serão adicionados a iogurtes, queijos, carnes processadas, alimentos infantis e bebidas. A MF serve para controlar o

conteúdo de gordura do soro antes da UF, e remover microrganismos do leite e do soro sem necessidade da alta temperatura de pasteurização.

REKTOR e VATAI (2004) aplicaram métodos de filtração por membranas para tratar o soro proveniente do queijo tipo Mussarela e encontrar uma aplicação potencial. Os autores utilizaram a MF para remover gorduras e bactérias, a NF foi usada para a concentração do soro microfiltrado, a UF foi usada para a concentração de proteínas e associada a DF obtiveram proteína purificada e concentrada e, finalmente, a OI foi usada para reduzir o teor de água do soro.

De acordo com GIRALDO-ZUÑIRA *et al.* (2004) a UF não promove a desnaturação das proteínas do soro mantendo as propriedades funcionais dos CPS inalteradas. A concentração e desmineralização simultâneas do soro pela NF desenvolvem produtos que podem ser utilizados em várias indústrias de alimentos, porém, neste caso, a lactose também é retida. Por este motivo, desde 1981, a UF se tornou a técnica mais utilizada para recuperar as proteínas solúveis do soro. A vantagem de se aplicar a UF é reforçada pela sua relativa simplicidade, baixo consumo energético e, segundo ATRA *et al.* (2005) pela elevada eficácia na separação de proteínas do soro.

ZYDNEY (1998) mostrou que, através de um sistema de membranas e com modificações no pH e força iônica das soluções, é possível fracionar os constituintes proteicos do soro, isto é, isolar β -Lg e α -La, BSA, Lactotransferrina, Lactoperoxidase e Imunoglobulinas em frações distintas. Esta é uma técnica que pode ter aplicação em larga escala se as condições adequadas (pH e força iônica) forem utilizadas.

BHATTACHARJEE *et al.* (2006) realizaram um estudo com o objetivo de obter uma fração rica em β -Lg a partir do concentrado de proteína do leite, através do fracionamento da proteína usando a UF em dois estágios: o primeiro com membranas planas na forma de discos, com MMC de 30 e 10 kDa sob agitação e o segundo por cromatografia de membrana de troca iônica (IEMC). Antes do fracionamento foram realizadas centrifugação, MF e UF esta última operando no modo de DF descontínua em quatro estágios, para obter o concentrado de proteína do leite livre de lactose. A centrifugação e a MF foram realizadas para remover os principais poluentes, como por exemplo: matérias coloidais, partículas suspensas de caseína e lipídios. Na DF os autores usaram uma membrana de polietersulfona de 5 kDa, com objetivo de obter um concentrado rico em

proteínas e remover a maioria da lactose e dos minerais. Os efeitos de vários parâmetros, como o pH da solução, a pressão transmembrana, a velocidade de agitação e a velocidade de rotação da membrana, sobre o fluxo permeado e a retenção da membrana de UF foram estudados. Um fluxo permeado 36% mais elevado foi obtido com uma alimentação em pH 2,8 comparado àquele em pH de 5,6 com uma pressão transmembrana de 5×10^5 Pa, resultado esse decorrente do efeito do pH no equilíbrio do monômero-dímero da β -Lg. Uma pureza de 87% da β -Lg foi obtida no filtrado da cromatografia de membrana de troca iônica.

CHEANG e ZYDNEY (2004) fizeram um estudo para examinar o uso de um sistema de filtração em dois estágios com fluxo tangencial para a purificação de α -La e β -Lg da proteína isolada do soro. Para a separação foram usadas membranas de 100 e 30 kDa em série. Duas estratégias de purificação foram examinadas: na primeira, uma membrana de 100 kDa foi usada na primeira etapa para remover BSA enquanto α -La e β -Lg permeavam; o permeado desta primeira etapa foi então usado como alimentação para a etapa 2, onde a α -La e β -Lg eram separadas usando uma membrana de 30 kDa. Na segunda estratégia, a combinação de membranas foi invertida, a membrana de 30 kDa foi utilizada na etapa 1 para obter α -La pura no permeado da solução, enquanto ficavam retidas β -Lg e BSA; o retido coletado era, então, separado na etapa 2 usando a membrana de 100 kDa. Para alcançar elevada purificação e rendimento, as filtrações nas etapas 1 e 2 foram operadas no modo de DF para “lavar” a proteína mais permeável pela membrana. Como resultado foi obtido um rendimento de α -La de 95% na Estratégia I e 85% na Estratégia II; na Estratégia II, contudo, obtiveram um produto de α -La significativamente mais concentrado porque a α -La foi recuperada diretamente da primeira etapa usando uma única DF. Os rendimentos para β -Lg, o componente com massa molar intermediária, ficou em torno de 70% em ambas as estratégias. O rendimento menor de β -Lg foi relacionado à presença de α -La residual da primeira etapa, juntamente com uma transmissão relativamente alta de BSA pela membrana.

ROMÁN *et al.* (2009) realizaram experimentos de NF associada a DF para desmineralização do soro de leite ácido (*Cottage*). A concentração da solução de alimentação foi realizada com diferentes valores de razão entre o volume de água diafiltrante e o volume de permeado. Portanto, nos testes de DF contínua, variavam o

volume de água adicionada: (a) a cada 1 L de permeado retirado, adicionavam 0,75 L de líquido diafiltrante (água deionizada) ao retido, (b) a cada 1 L de permeado retirado, adicionavam 0,5 L de água deionizada. Para esta razão volume de líquido diafiltrante/volume permeado, deram o nome de α , que para o caso (a) era 0,75 e para (b) era 0,5. O experimento (a) durou 15 hrs e o (b) 26 hrs. O fator de concentração final de ambos os experimentos ficou em torno de 3,5. O fluxo decaiu rapidamente em função do tempo para $\alpha = 0,5$ onde o fator de concentração final foi atingido mais rapidamente. Quando se comparou o decaimento do fluxo em função do fator de concentração para os diferentes α , não houve diferença significativa. O fluxo decresce em função do aumento do fator de concentração o que aumenta a densidade e a viscosidade do retido, e ainda a polarização por concentração. Quanto a desmineralização, a diafiltração contínua foi mais eficiente para desmineralizar o soro no caso de $\alpha = 0,75$. O grau de desmineralização de cátions monovalentes para $\alpha = 0,75$ e fator de concentração de 2,5 foi de aproximadamente 90%. Enquanto para $\alpha = 0,5$ foi de 70%. A concentração de sólidos totais e de lactose para os experimentos, não teve diferença significativa. A quantidade de íons multivalentes aumentou continuamente durante a NF combinada a DF. A retenção dos compostos do soro de leite, como proteínas e lactose foi maior que 90%. E ainda, houve retenção de íons, como cálcio, magnésio e fósforo, o que foi considerado positivo pelos autores, já que a intenção era retirar os íons monovalentes.

ANTUNES (2003) concluiu em seu trabalho que para o processo de obtenção de CPS com 80% de proteína é necessário o emprego da DF para promover uma remoção mais eficiente de lactose e sais minerais. A DF além de proporcionar a produção de um concentrado proteico mais puro, permite também melhor controle da composição final do CPS.

CHEANG e ZYDNEY (2004) obtiveram uma recuperação acima de 90% para as proteínas α -La e β -Lg quando a DF foi utilizada; XU *et al.* (2000) usaram duas etapas de DF no concentrado do soro de queijo da UF para concentrar as proteínas como as Igs e glicomacropéptidos, esses dois compostos passaram pelo processo de secagem por *spray drier* e no permeado restaram proteínas como α -La, β -Lg e BSA.

YEE *et al.* (2007) investigaram o uso de uma planta de UF multi-estágios, com produção contínua, para obter uma concentração de proteínas por volta de 80%. Parte do

retido de cada estágio foi reciclada para manter a corrente de entrada desejada naquele módulo de membrana. Os permeados de todas as correntes foram combinados e parte foi reciclada e misturada com a nova corrente de alimentação. A proporção de permeado reciclado foi usada para controlar a vazão do retido e a sua composição ao nível desejado. A adição de água capacita que espécies não proteicas, que não são desejadas no retido, permeiem pela membrana, aumentando a concentração de proteína nos sólidos totais do retido. No entanto, quanto mais espécies não proteicas permeiam pela membrana, a quantidade de sólidos totais presente no retido diminui.

NARONG e JAMES (2008) investigaram os efeitos do pH, coagulantes e surfactantes na eficiência da UF de solução de soro (concentração inicial 2 kg.m^{-3}). Após a passagem da solução pela unidade de filtração, o permeado e concentrado foram coletados para análises de turbidez e carbono orgânico total (TOC). O tamanho de poro nominal da membrana era de $0,05 \text{ }\mu\text{m}$. A turbidez e o TOC reduziram em 98 e 28%, respectivamente. Porém, as condições que produziram a menor turbidez não produziram a menor redução de TOC.

MORTENSON *et al.* (2008) realizaram testes cromatográficos e sensoriais para determinar se o tipo de queijo e as diferentes técnicas de processamento influenciam no *flavor* de produtos derivados de soro como CPS e IPS. Segundo os autores o *flavor* de concentrados e isolados proteicos tem sido considerado o principal fator limitante do uso destes produtos na indústria alimentícia. Após a fabricação do queijo, o soro foi drenado, separado, pasteurizado e fracionado. A UF foi utilizada para reduzir a massa do produto e para remover lactose e sais a fim de que a massa de proteínas representasse pelo menos 35% da massa seca do CPS. Os autores encontraram que o *flavor* não foi afetado pelas diferentes técnicas de processamento do CPS e IPS, porém, no teste sensorial as amostras de CPS foram classificadas como mais doces do que as de IPS, provavelmente devido a uma maior concentração de lactose, por este motivo o IPS foi classificado com menos *flavor* que o CPS. Os testes cromatográficos indicaram que o CPS tem um número maior de substâncias aromáticas, em particular moléculas de baixa massa molar, o que pode limitar a sua utilização em produtos alimentícios, por isso uma maior purificação proteica amplia as possibilidades de utilização deste produto.

ZYDNEY e PUJAR (1998) tratam em seu trabalho do transporte de proteínas por membranas porosas e os efeitos de interações coloidais. Eles afirmam que análises

tradicionais do transporte de solutos através da membrana geralmente consideram somente as interações estéricas (baseadas no tamanho) entre o soluto e os poros, porém eles demonstram a importância de considerar interações coloidais na taxa de transporte dos solutos. Estas interações podem afetar o desempenho da membrana drasticamente, mudando as características de retenção da membrana de completamente permeável para completamente retentiva, para um determinado soluto. Para uma mistura de proteínas, os sistemas de membrana devem ser operados sobre certas condições, pois a magnitude das forças coloidais é diferente para proteínas diferentes. Isto é alcançado facilmente para interações elétricas operando no ponto isoelétrico (ou próximo deste) de uma das proteínas. Também é possível, explorar as diferenças das interações por forças de *van der Waals* em sistemas de membranas devido ao diferente caráter de hidrofiliicidade e hidrofobicidade das proteínas, por exemplo, é possível aproveitar as interações entre grupos hidrofóbicos das proteínas com grupos correspondentes nas membranas.

ZYDNEY e VAN REIS (2001) utilizam o conceito de fluxo tangencial de alto desempenho (HPTFF), que é uma tecnologia emergente que possibilita a separação de proteínas com massas molares semelhantes. HPTFF promove a separação de proteínas com alta resolução, explorando interações estéricas (tamanho) e eletrostáticas (carga). Segundo os autores, seletividades elevadas podem ser alcançadas facilmente para modelos de sistemas binários com proteínas com cargas superficiais muito diferentes, quando características de pH e força iônica da solução são ajustadas e usando membranas carregadas para aumentar a retenção da proteína também carregada. O modo DF é empregado para separação das proteínas a fim de eliminar problemas de associação em altas concentrações no produto retido, gerando alta purificação e ao mesmo tempo bons fatores de rendimento.

Segundo EBERSOLD e ZYDNEY (2004), estudos experimentais recentes demonstram que sistemas de membrana podem ser usados para separar variantes de proteína que diferem em um único resíduo de aminoácido, embora a seletividade e o fator de purificação sejam relativamente baixos. Uma seletividade significativamente maior é obtida reduzindo o tamanho de poro e aumentando a densidade de carga da superfície da membrana. As interações eletrostáticas que surgem fazem diferença nas pequenas mudanças de carga que ocorrem entre uma proteína nativa e sua variante.

URIBE *et al.* (2007) realizaram um trabalho para prever a retenção da lactose através de dois modelos: *Donnan Steric Partitioning Model* (DSPM) e *Kedem-Spiegler Model* (KSM). A retenção e o fluxo permeado foram medidos utilizando soluções de alimentação de lactose pura e de soro ultrafiltrado; os experimentos foram realizados com o pH constante e com membranas de NF. Os dois modelos foram capazes de prever razoavelmente bem, tanto para o padrão quanto para o soro ultrafiltrado, as tendências de retenção da lactose em função do fluxo permeado, porém os melhores resultados foram previstos pelo modelo KSM. Vale ressaltar que no modelo KSM a retenção de lactose pode ser predita na presença ou na ausência de íons, mas não é fornecida qualquer informação sobre a estrutura da membrana. Já o modelo DSPM fornece informações sobre a carga, a espessura, a porosidade e tamanho dos poros das membranas. Este estudo contribui para um melhor entendimento do mecanismo de transporte em processos de nanofiltração; por exemplo, no caso do estudo realizado os autores concluíram que na presença de sais o valor de raio médio dos poros aumentou e que para todas as membranas testadas a retenção de lactose foi menor no caso do soro ultrafiltrado, o que mostra o efeito da presença de sais no desempenho da membrana.

ROMÁN *et al.* (2010) investigaram a combinação de NF e DF para a desmineralização parcial do soro do leite considerando dois fatores importantes: tempo de duração do processo e o consumo de água. Durante a NF integrada a DF, foram avaliados dois casos, com razões de volume diafiltrante/volume de permeado diferentes (0,75 e 0,5). No primeiro caso, o experimento terminou depois de 18,9 hs, e atingiu um FCV = 2. No segundo caso, o experimento durou 10 hs, e o FCV atingido foi de 2,65. O grau de purificação do retido foi duas vezes maior para a razão de volumes de 0,75; mas este processo utilizou 3 vezes mais água que para a razão e volumes de 0,5. A comparação dos dois processos mostrou que a maior diluição do retido, do início ao final do experimento, contribuiu para uma maior purificação, mas aumentou significativamente o tempo do processo e o consumo de água. Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por JAFFRIN e CHARRIER (1994). Estes autores sugeriram que em um processo ideal uma fase de pré-concentração seria interessante, onde certo teor de macrossolutos fosse atingido antes do início da DF, a seguir a realização de DF contínua com a diminuição do volume aumentaria o grau de purificação; o que também foi sugerido por FOLEY (2006). Este último pesquisador executou DF contínua após uma

etapa de concentração inicial, e conseguiu uma redução significativa no consumo de água sem aumentar demasiadamente o tempo de processo.

ALVAREZ *et al.* (2006) utilizaram um CPS comercial com 65% de proteína como matéria-prima para obtenção de uma solução enriquecida com α -La. O processo proposto consiste das seguintes etapas: (1) precipitação, (2) primeira centrifugação, (3) lavagem do precipitado, (4) segunda centrifugação e, finalmente, (5) solubilização do precipitado. Na etapa 1: α -La, Ig e BSA foram precipitadas simultaneamente acrescentando ácido láctico como sequestrante do íon Ca^{2+} em pH de 4,0. A precipitação de α -La neste caso é reversível, ou seja, quando o pH original foi restabelecido a proteína tornou-se solúvel novamente. A solução obtida nesta etapa continha basicamente α -La e β -Lg, com variações da temperatura de lavagem (etapa 3), foi removida boa parte da β -Lg. A solução obtida no final apresentou uma pureza de 74% de α -La, além disso, mais de 99% da β -Lg presente na solução de alimentação foi removida do processo.

BRANS *et al.* (2004) relatam que é possível empregar propriedades específicas da proteína para aumentar a seletividade do processo de UF. O ajuste do pH e adição de sal influenciam nas interações eletrostáticas e estéricas entre as proteínas e a membrana. Segundo BACCHIN *et al.*, 2006, na separação de uma solução proteica, por exemplo, quanto mais o pH da solução se aproximar do pH isoelétrico das proteínas presentes, menos solúveis estas se encontrarão e maior será a tendência ao *fouling*, diminuindo, por consequência, o fluxo permeado.

PAGNO *et al.* (2009) utilizaram a UF associada à diafiltração DF, com o objetivo de obter concentrados proteicos de soro de leite (CPS) e caracterizar suas propriedades funcionais tecnológicas. Para isso, realizaram-se três experimentos, com volume inicial de soro de 30 L, que foram concentrados até o volume de 5 L. No Experimento 1 executaram-se 4 DF, duas de 5 L e duas de 2,5 L, obtendo-se CPS1 com 56% de proteína. No Experimento 2, duas DF de 10 L e duas de 5 L foram realizadas, obtendo-se CPS2 com 71% de proteína. Para o Experimento 3, os ciclos foram aumentados para 6 DF de 5 L cada, obtendo-se CPS3 com 80% de proteína. A solubilidade dos CPS variou de 70% a 85% (40°C/pH 6,8); o índice de atividade emulsificante (I.A.E.) variou de 12 a 30 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e a estabilidade da emulsão de 7 a 16%. Índices semelhantes encontrados na literatura, indicam bom potencial para utilização em formulações alimentares.

REZAEI *et al.* (2011) estudaram os efeitos dos parâmetros de operação no mecanismo de *fouling* e no fluxo permeado de membranas de MF, em escoamento tangencial do soro de leite. A microfiltração foi operada a pressão constante, em módulo plano com membrana de polietersulfona com tamanho médio de poro de 0,45 μm . Em estado pseudo-estacionário o fluxo permeado aumenta com o aumento do número de Reynolds e com a pressão de operação. Mas, para evitar a formação de torta, os autores recomendam que sejam utilizadas baixas pressões de operação e elevadas velocidades tangenciais. Para o estudo, a melhor condição de operação foi atingida com um número de Reynolds de 2500 e pressão de 1,5 bar.

METSÄMUURONEN *et al.* (2011) testaram membranas de ultrafiltração com diferentes MMC para o enriquecimento de α -lactoalbumina no permeado a partir de soluções de soro de leite fresco. As membranas testadas pelos autores tinham as seguintes características: 30 $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ (hidrofílica), e 50 e 100 $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ (hidrofóbicas). Os autores esperavam que as três membranas apresentassem alta seletividade entre β -Lg e α -La. Porém, todos os permeados continham, em adição a estas proteínas, muitos peptídeos e fragmentos de outras proteínas de variados tamanhos. A recuperação e a pureza da α -La era avaliada por diferentes métodos espectroscópicos (absorção de UV, Bradford, Lowry e ninidrina) e por HPLC de fase reversa. Devido a presença de fragmentos de diversas proteínas, e a desnaturação e/ou aglomeração de proteínas que pode ocorrer durante o processo de filtração nem todos os métodos de análise são eficazes para avaliar o teor de proteínas das amostras, o que pode afetar a interpretação dos resultados de retenção. Dentre os métodos testados, o que foi considerado mais preciso e sensível para as proteínas do soro foi o método de Lowry.

KARASUA *et al.* (2010) descreveram um modelo para predição do fluxo permeado de soro em um escoamento tangencial. Os pesquisadores assumiram que a espessura da camada gel é controlada pela tensão de cisalhamento exercida pelo fluxo de alimentação. Ainda, assumem que a resistência à permeação pode ser dividida em dois momentos: inicialmente a obstrução dos poros é a responsável pela maior resistência ao escoamento, enquanto que em um segundo momento, a resistência principal é devido à deposição de componentes na superfície da membrana (formação de “torta”). Os autores fizeram um modelo para cada período de filtração, e, depois combinaram os dois modelos. Comparando dados experimentais com os dados obtidos pelos investigadores, os

resultados mostraram que o processo de permeação foi bem descrito nas condições desse estudo e que há a possibilidade de aplicar o modelo para sistemas de UF.

ESPINA *et al.* (2010) descrevem um processo de dois estágios para separar as proteínas do leite pasteurizado e desnatado em três frações: micelas de caseína, β -Lg e outras proteínas do soro (por exemplo, α -La). Micelas de caseína foram retidas através de MF por membranas de cerâmica (0,2 μm), e no permeado encontrou-se 81% de α -La e 76% de β -Lg com um FCV = 5,4. A separação entre a β -Lg e α -La foi realizada por UF usando um módulo de disco giratório equipado com uma membrana circular de 50 kDa de polietersulfona. Os fluxos de permeado foram bastante elevados mantendo-se acima de 340 $\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, com FCV = 5 e a 40 ° C. A retenção de β -Lg foi superior a 0,94, dando um máximo de seletividade de 4,2. A transmissão de α -La para o permeado foi moderada, ficou entre 0,2 e 0,13. Os autores concluem que existe potencial de filtração por membranas dinâmicas para separar proteínas do leite desnatado, porém ainda é necessário otimizar condições de pH e força iônica para melhorar a eficiência destes experimentos.

BALDASSO *et al.* (2011A) avaliaram a eficiência de membranas de MF para a obter duas frações de proteínas: uma rica em β -Lg e outra rica em α -La, a partir de um CPS. Duas membranas de MF com tamanho nominal de poro de 0,1 μm foram testadas para o fracionamento; uma com configuração plana e outra com configuração espiral. A membrana plana reteve 78% das proteínas, mas mostrou-se permeável a ambas proteínas, β -Lg e α -La. A retenção de proteína pela membrana espiral foi de 65%, e houve retenção parcial de lactose: no permeado encontrou-se cerca de 50% de α -La, o que mostra que esta proteína passou preferencialmente para o permeado. Os resultados indicaram que alguma agregação das proteínas pode ter ocorrido sob as condições experimentais porque a separação das proteínas em estudo foi parcial.

BALDASSO *et al.* (2011B) realizaram testes de UF em associação com diafiltração descontínua (DF) para concentrar e purificar proteínas do soro de leite. Para isto, foram realizados experimentos alterando o fator de concentração volumétrica (VCF), o número e o volume de água das DF. Os resultados mostraram que o processo de UF é adequado para a produção de concentrados de proteínas. Na melhor estratégia experimental, o concentrado de proteína obtida foi superior a 70% em base seca.

2.7 Considerações finais

Estima-se que atualmente haja uma produção mundial de 200 bilhões de litros de soro de leite por ano. Porém, metade deste soro, ainda, pode estar sendo eliminada como efluente em sistemas hídricos ou como adubo no solo.

Quando incorporado às águas residuais dos laticínios sem tratamento, o soro representa uma grande fonte de poluição devido à alta quantidade de substâncias orgânicas. A carga poluente, representada pela DBO (demanda biológica de oxigênio), pode chegar até 60.000 mg.O₂.L⁻¹. Para se ter uma ideia, esse valor é cerca de 100 vezes maior que o de um esgoto doméstico. Estes fatores tornam bastante elevados os gastos das indústrias com o tratamento deste efluente.

Acredita-se que a outra metade da produção mundial de soro é processada em vários produtos alimentares e farmacêuticos. Sendo que quase 50% deste total é usado diretamente na forma líquida, 30% na forma de pó, 15% como lactose e o restante como concentrados de proteínas (PORTO *et al.*, 2005; RODRIGUES, 2001).

Os Estados Unidos são os maiores produtores mundiais de soro em pó e derivados, seguidos pela União Européia e Austrália (AGROECONÔMICA, 2010). Em conjunto, as indústrias de soro dos EUA são as maiores fornecedoras de soro em pó do mundo. Quase 60% do soro e produtos de soro produzidos nos Estados Unidos no ano de 1980 (há mais de 30 anos atrás) já eram utilizados em produtos alimentícios para humanos, destes mais de 80% como soro em pó.

Enquanto isso no Brasil, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ, 2011), anualmente são gerados cerca de sete bilhões de litros de soro. No entanto, apenas uma pequena parte deste volume (cerca de um terço) é aproveitada pelas indústrias brasileiras, principalmente na fabricação de queijos do tipo Ricota, na produção de bebidas lácteas e um pequeno percentual é seco. O mais comum, ainda, é a sua utilização na alimentação animal ou seu tratamento como efluente. Considerando, que o soro tem no mínimo 0,7% de proteína, isto significa um desperdício anual superior a 40 mil toneladas de proteínas de elevada qualidade. Se for considerado o elevado custo para tratar o soro de modo que possa ser incorporado aos corpos hídricos o prejuízo das indústrias é ainda maior.

Apesar destas estimativas sobre o mau aproveitamento do soro gerado nos laticínios brasileiros, o mercado no país para consumo deste produto está estabelecido. O Brasil importou em junho de 2010, quatro mil toneladas de soro de leite em pó, o que representa 33% do total de produtos lácteos importados no mesmo período. Em termos financeiros isto representa mais de cinco milhões de dólares, somente em um mês (AGROECONÔMICA, 2010; DEERE, 2010; EMBRAPA, 2010).

A expressiva produção brasileira de efluentes pelos laticínios e a elevada importação de soro em pó, relatadas anteriormente, demonstram que o nosso país apresenta um potencial explícito para o aproveitamento deste subproduto.

Esta diferença tão significativa entre o que é feito nos outros países e o que é feito no Brasil, em relação ao soro de leite, mostra o quanto ainda estamos defasados perante a utilização e fabricação de produtos e subprodutos das indústrias de alimentos.

Para mudar tal realidade, é necessária uma legislação nacional mais rigorosa, assim como, um controle governamental mais ativo em termos de tratamento de resíduos. Talvez, desta forma, as empresas passem a encarar seus efluentes, quando possível, como produtos que podem ser incorporados no mercado. Este fato, além de diminuir o problema ambiental, irá gerar lucros expressivos e diminuir os gastos com tratamento de efluentes.

A tecnologia de membranas associada a outros processos de separação representa uma estratégia promissora para aproveitar os componentes do soro, produzir produtos de elevada qualidade, e ainda, diminuir o problema ambiental das indústrias.

Ao longo da fundamentação teórica realizada e das considerações apresentadas anteriormente, fica evidente o grande e crescente número de trabalhos realizados visando o aproveitamento do soro. Esses dados comprovam que existe mercado para o soro de leite e derivados, o que justifica estudos sobre a sua utilização como fonte de matéria prima.

Neste contexto, identificar alternativas para um adequado aproveitamento do soro de leite, dando a este subproduto a importância que ele merece, em função da sua qualidade nutricional e funcional, do volume produzido ao redor do mundo e do seu poder poluente, é de extrema relevância. Definitivamente, um dos maiores desafios é

conscientizar as indústrias brasileiras sobre a importância deste produto, de modo que sejam feitos investimentos para transformar o que hoje é considerado efluente em matéria prima.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os equipamentos, as membranas e os reagentes utilizados na realização dos experimentos. Ainda, são descritas a metodologia experimental para a realização dos experimentos de concentração e purificação das proteínas por UF/DF, purificação da lactose por ED, concentração da solução salina por OI, fracionamento das proteínas do soro de leite por UF e os métodos analíticos para análise das amostras.

A Figura 3.1 mostra um esquema simplificado dos procedimentos realizados nesta etapa do trabalho.

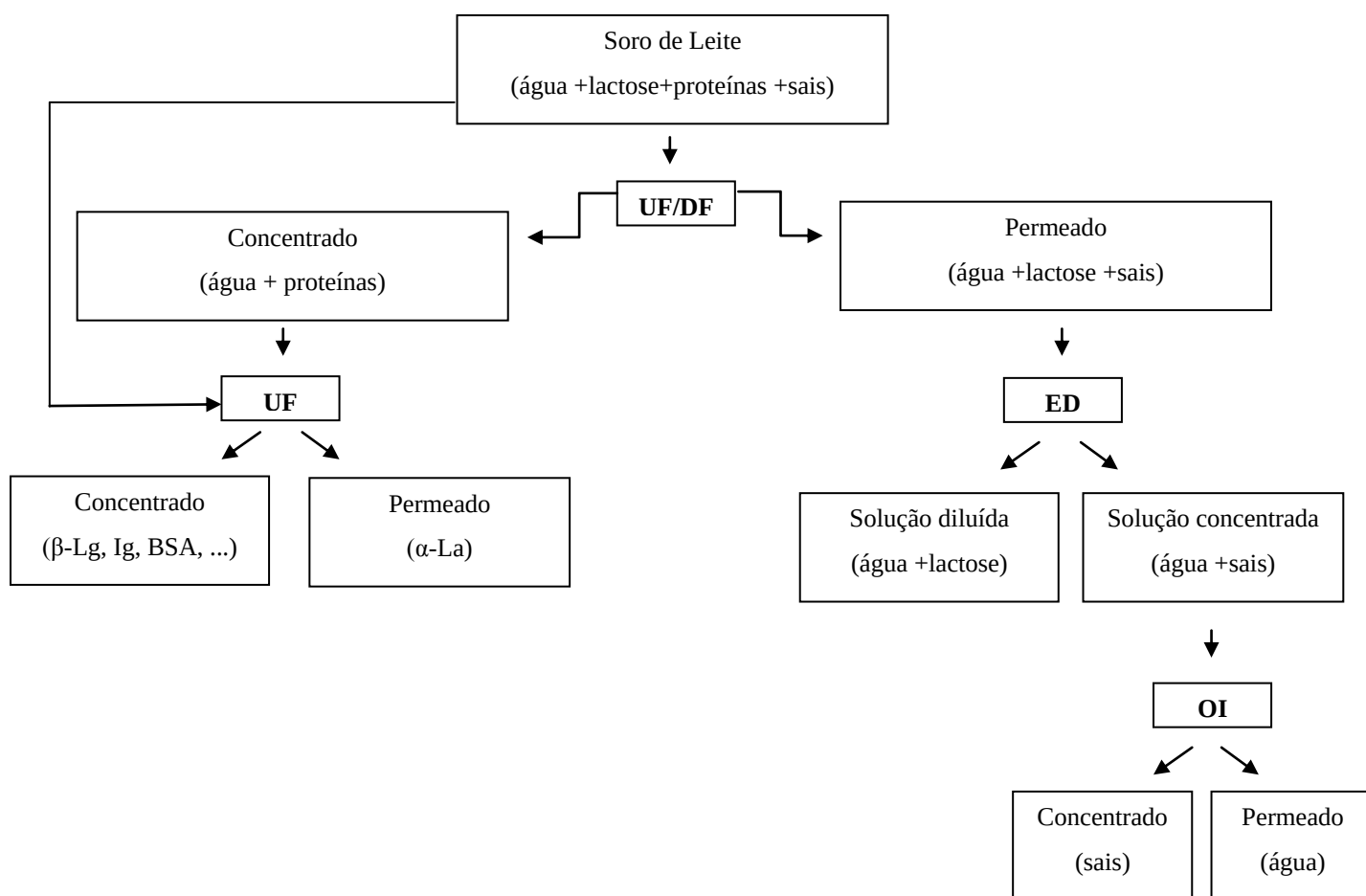


Figura 3.1: Representação esquemática dos procedimentos realizados neste trabalho.

3.1 Ultrafiltração - Concentração e purificação das proteínas

Nesta seção são apresentados os materiais e a metodologia experimental para a realização dos experimentos de concentração e purificação das proteínas do soro de leite. O objetivo desta parte do trabalho é, através de uma solução de soro de leite reconstituído, obter duas correntes, uma rica em proteínas e a outra em lactose.

3.1.1 Solução teste

O soro de leite em pó utilizado neste trabalho é proveniente da fabricação do queijo Mussarela da empresa *Brasil Foods S.A* (Teutônia – RS). O soro em pó foi utilizado por ser estável e homogêneo, pois contém todos os constituintes nas mesmas proporções relativas ao soro original, o que garante as mesmas características da solução

de alimentação utilizada nos experimentos, e evita às variabilidades que ocorreriam se amostras de soro *in natura* fossem utilizadas.

Para a realização dos experimentos, o soro foi reconstituído dissolvendo-se manualmente o soro em pó em água destilada em pH neutro (7) e temperatura de 50 °C, desta forma foi mantido um teor de sólidos em 6%, para simular o soro *in natura*.

3.1.2 Membrana de UF

O soro reconstituído foi ultrafiltrado em membrana polimérica UF-6001 com de 10 kDa na configuração espiral, com espaçador de 80 milésimos de polegadas, da *Koch Membrane Systems*. A membrana pode operar em faixas de pH de 1,8 a 11 e a temperatura máxima de 55 °C.

3.1.3 Equipamento

O processo de UF foi realizado em uma planta piloto WGM-KOCH PROTOSEP IV localizada no Laboratório de Tecnologia Química – LATEQ da UFRGS. A unidade piloto de UF está esquematizada na Figura 3.2.

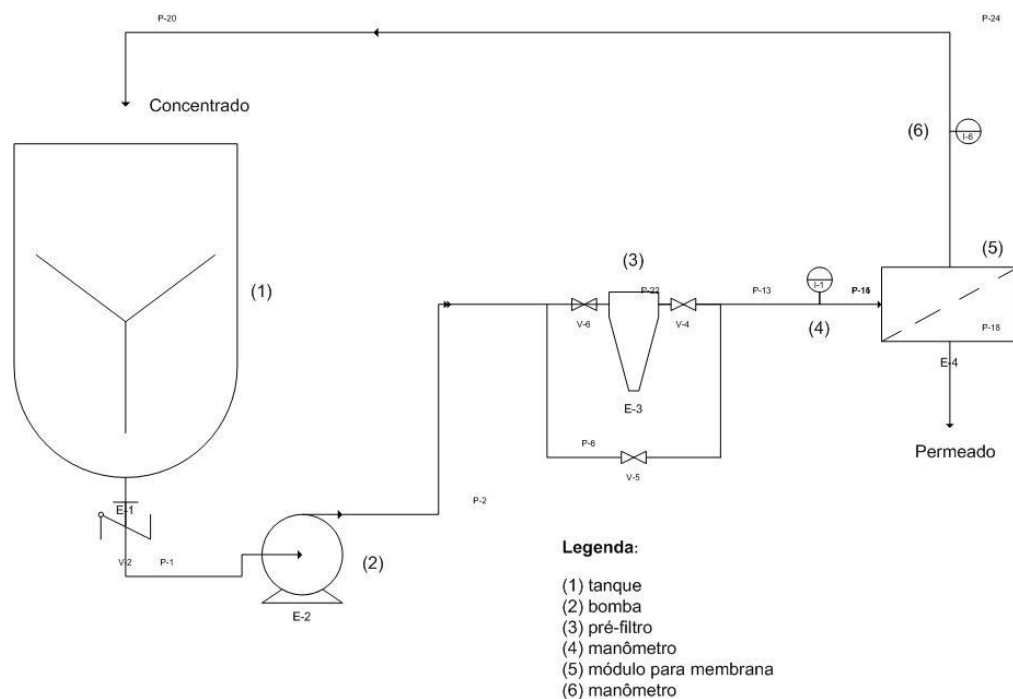


Figura 3.2: Representação esquemática simplificada da unidade piloto de UF.

A unidade piloto possui os seguintes equipamentos, de acordo com a Figura 3.2:

- tanque de alimentação (1) encamisado de aço inoxidável 304, com volume de $0,075 \text{ m}^3$, fabricado pela *Sulinox*; possui um agitador e um sistema de controle de temperatura que opera na faixa de temperatura de 25 a $150 \text{ }^\circ\text{C}$;
- bomba pneumática (2) tipo diafragma, modelo *Versamatic VM.50*, opera com ar comprimido que passa pelo sistema composto por um *Kit FLR* (filtro, lubrificador e regulador de ar);
- pré-filtro de cartucho (3), fabricado pela *Cuno*, constituído de uma carcaça de PVC e elemento filtrante de polipropileno com tamanho de poro nominal de $1\mu\text{m}$;
- manômetros (4) e (6) de aço inoxidável 316, que estão instalados num tê Sanitech com uma câmara com diafragma, que evita contato do manômetro com o fluido de processo. Os manômetros possuem escala de 0 a $10,5 \times 10^5 \text{ Pa}$;
- carcaça para módulo da membrana espiral (5) com 0,3 m de comprimento e 0,058 m de diâmetro, feito em aço inoxidável 316.

3.1.4 Metodologia

O volume inicial a ser ultrafiltrado foi de aproximadamente $0,03 \text{ m}^3$ ($0,027 \text{ m}^3$ de água no tanque + $0,0026 \text{ m}^3$ de água de volume das tubulações + 1,9 kg de soro em pó). A pressão transmembrana foi mantida em 200 kPa e a vazão da corrente de alimentação do soro de queijo foi de aproximadamente $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, condições determinadas em trabalhos anteriores (BOSCHI, 2006; BALDASSO, 2008). A temperatura do soro foi mantida constante em $50 \text{ }^\circ\text{C}$, tendo em vista a temperatura de saída do soro do processo de fabricação do queijo ($60 \text{ }^\circ\text{C}$) e a temperatura máxima admissível para a membrana ($55 \text{ }^\circ\text{C}$).

A solução foi ultrafiltrada até um fator de concentração volumétrico (FCV) de 6, portanto, um volume final de concentrado proteico de $0,005 \text{ m}^3$, e $0,025 \text{ m}^3$ de permeado. O permeado foi recolhido para os testes de ED e OI.

O concentrado proteico permaneceu no tanque e foram realizadas duas diafiltrações de $0,005 \text{ m}^3$, seguidas de duas diafiltrações de $0,0025 \text{ m}^3$, para realizar a purificação proteica, condições determinadas em trabalhos anteriores (BALDASSO, 2008). As amostras de concentrado e de permeado foram monitoradas quanto aos seguintes parâmetros: teor de sólidos totais de acordo como método apresentado em LANARA

(1981); concentração de lactose determinada através do método do ácido dinitrossalicílico (DNS, segundo MILLER, 1959); concentração de proteína determinada através do método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951), ainda foram monitorados o pH e a condutividade elétrica. Estes procedimentos estão descritos posteriormente na seção 3.5 Métodos Analíticos.

Um procedimento de limpeza foi utilizado para restituir as características de fluxo e retenção da membrana e prevenir o desenvolvimento de microrganismos no sistema. A limpeza química consistiu nas seguintes etapas: enxágue com água destilada, limpeza alcalina, limpeza cloro alcalina e limpeza ácida. Estas etapas foram realizadas respeitando os limites de pH e temperatura da membrana recomendados pelo fabricante.

3.2 Eletrodiálise – Purificação da lactose

Nesta seção são apresentados os materiais e a metodologia experimental para a realização dos experimentos de desmineralização do soro de leite. O objetivo desta etapa é desmineralizar a solução contendo lactose e sais, e assim, obter uma solução com alto teor de lactose para aproveitamento na indústria.

3.2.1 Solução teste

O permeado obtido do processo de ultrafiltração, rico em lactose e sais, foi a solução de alimentação (solução teste) para os experimentos de desmineralização por ED.

3.2.2 Soluções de eletrodos

Para realização dos testes de desmineralização foram testados nos eletrodos, quatro tipos de soluções salinas. Os reagentes utilizados são todos com pureza analítica, na Tabela 3.1 estão apresentados os sais utilizados, assim como o fabricante e o valor comercial.

Tabela 3.1: Sais testados no compartimento dos eletrodos no processo de desmineralização do soro de leite, fabricante e valor comercial.

Sal	Fabricante	Valor Comercial (R\$/kg)
K ₂ SO ₄	Dinâmica	40
KCl	Cromoline Química Fina	40
NaCl	Dinâmica	10
CaCl ₂	Dinâmica	30

3.2.3 Equipamento

Os experimentos de ED foram realizados em uma unidade de bancada de ED, no Laboratório de Processos de Separação com Membranas. A **Figura 3.3** mostra uma fotografia da unidade de bancada de eletrodiálise.

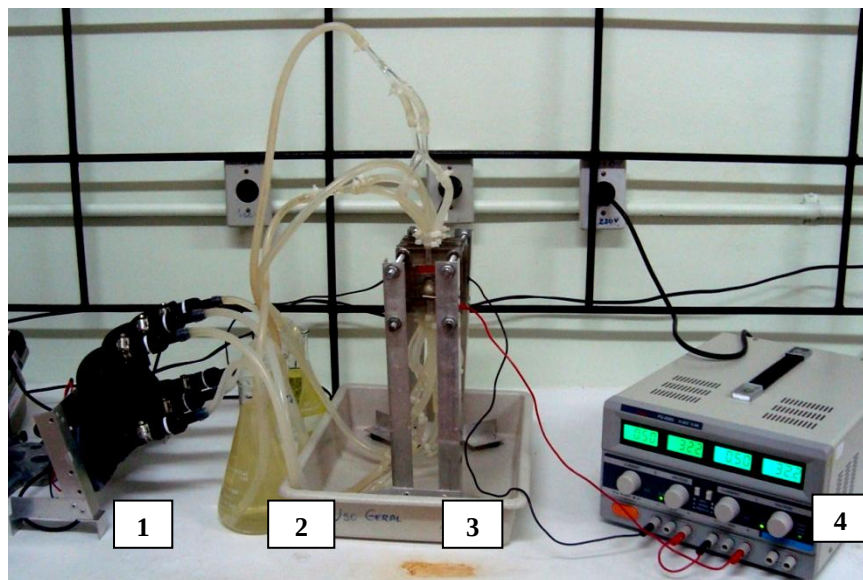


Figura 3.3: Fotografia da unidade de bancada de eletrodiálise. Legenda: (1) bombas; (2) soluções concentrada, diluída e de eletrodos; (3) célula de eletrodiálise de três compartimentos; (4) fonte de corrente contínua.

A unidade de bancada de ED é composta dos seguintes equipamentos:

- sistema de bombeamento para eletrodiálise (1) - com três bombas integradas (*Invensys Brasil - BAV1003-01U*);
- célula de ED de três compartimentos (3) - confeccionada em acrílico ;
- fonte de corrente contínua (4) - *Icel Manaus - Brasil PS-6000*, 0 - 30 V; 0 - 6 A.

3.2.4 Módulo de ED

Para realização dos experimentos de ED foram confeccionadas, em acrílico, células com três compartimentos (equipamento 3 da Figura 3.3). O compartimento intermediário era separado do anódico por uma membrana aniônica, e do compartimento catódico por uma membrana catiônica. Nesta célula, os eletrodos eram de titânio platinizado (ânodo) e de aço inoxidável 316 (cátodo) com área de 16 cm².

O princípio do processo está apresentado na Figura 3.4, a qual mostra o esquema de uma célula de eletrodiálise, consistindo de uma série de membranas íon-seletivas (catiônicas, C, e aniônicas, A), as quais são dispostas alternadamente em um sistema tipo filtro-prensa.

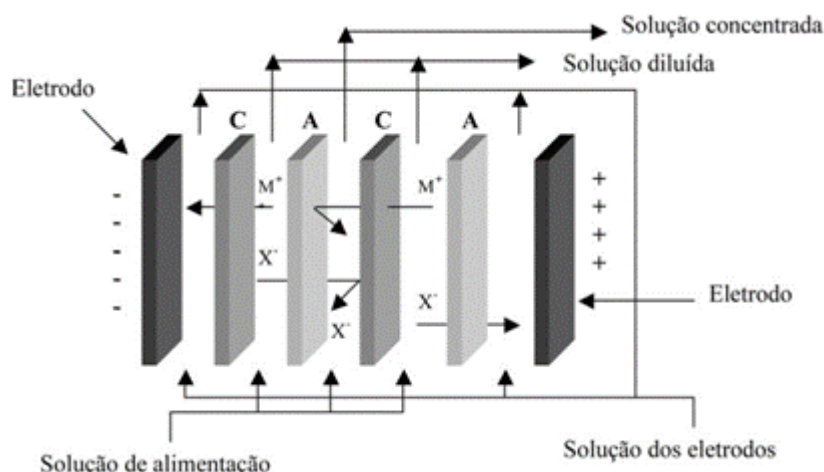


Figura 3.4: Esquema simplificado de uma célula de ED (C=membrana catiônica e A=membrana aniônica).

Este tipo de montagem proporciona a formação de compartimentos pelos quais circula a solução a ser tratada. Os eletrodos ficam posicionados nas extremidades da célula e ficam em contato apenas com uma solução de enxágue (solução de eletrodos), não tendo contato com a solução a ser tratada.

Quando o campo elétrico é aplicado sobre os eletrodos, os cátions migram na direção do cátodo (negativo), passando através da membrana catiônica, ficando retidos no compartimento seguinte, pois a membrana aniônica não permite a passagem de cátions. De mesmo modo, os ânions migram na direção do ânodo (positivo), passando pela membrana aniônica, ficando retidos no compartimento seguinte, pois, a membrana catiônica não permite a passagem de ânions. Este fenômeno origina a formação de um compartimento mais concentrado e outro mais diluído em espécie iônica.

3.2.5 Membranas de ED

Foram utilizadas membranas com 16 cm² de área em contato com as soluções de alimentação e com as soluções de eletrodos. A membrana catiônica utilizada foi a DowexTM MarathonTM C (matriz - estireno-DVB, grupo funcional - ácido sulfônico). A membrana aniônica utilizada foi a DowexTM MarathonTM A (matriz estireno-DVB, grupo

funcional – amina quaternária), fabricadas pela *Dow Water Solutions*. A Figura 3.5 mostra a fotografia das membranas utilizadas para os testes de desmineralização.



Figura 3.5: Membranas de ED, catiônica (esquerda) e aniônica (direita).

3.2.6 Metodologia

A primeira etapa deste trabalho foi a aquisição de alguns equipamentos, como: a fonte de corrente contínua; o projeto dos módulos; a escolha e a montagem dos eletrodos e a montagem do aparato de eletrodiálise. A seguir foram realizados os testes para determinar a corrente limite do sistema.

3.2.6.1 Determinação da Corrente Limite

A determinação da corrente limite do sistema para cada um dos sais em estudo foi de acordo com o método de COWAN e BROWN (1959).

A voltagem foi aumentada, ponto a ponto, em incrementos pequenos o suficiente, de modo que valores quase-estacionários de corrente e potencial fossem obtidos. O valor de corrente limite corresponde ao ponto de mudança da inclinação da curva; é abaixo desses valores de potencial e corrente que se deve trabalhar para minimizar os fenômenos de polarização por concentração, que prejudicam a eficiência do processo.

3.2.6.2 Testes de desmineralização variando sais e concentrações das soluções de eletrodos

O permeado obtido do processo de UF foi tratado com o sistema de membranas de ED para se obter uma fração rica em lactose, livre de sais. Os testes de desmineralização tiveram duração de 300 minutos.

A solução de permeado foi tratada com diferentes soluções de eletrodos: KCl, K₂SO₄, NaCl e CaCl₂, todas com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm⁻¹. Após

avaliar a solução de eletrodos com melhor desempenho, esta foi testada variando-se a condutividade elétrica: 3, 6, 12, 18 mS.cm⁻¹.

3.2.6.3 Testes pra melhoria da eficiência do processo de ED (ED inversa, correção de pH)

Após determinar a solução salina com melhor desempenho e a concentração inicial da solução de eletrodos que permitia a desmineralização mais eficiente, realizou-se testes com objetivo de melhorar o desempenho do processo. Isso inclui, diminuir a resistência aparente e corrigir o pH das soluções utilizadas na ED.

O procedimento de ED inversa é um recurso que foi testado para verificar se o seu uso permitiria uma melhoria na eficiência do processo, pois segundo SATA *et al.* (2002), fenômenos como *fouling* e *scaling* podem ser evitados aplicando este tipo de técnica.

Neste modo de operação, a polaridade da corrente muda em intervalos de tempos específicos, variando de uns poucos minutos para algumas horas. Neste experimento a cada 60 minutos desliga-se a fonte de corrente contínua, e invertem-se os pólos, transformando o cátodo em ânodo e o ânodo em cátodo. Esta condição é mantida por 5 minutos e a seguir a fonte é desligada novamente, e a condição inicial é restabelecida. Dessa forma, as correntes dos fluxos são variadas simultaneamente, ou seja, o compartimento diluído passa a ser o concentrado e vice-versa. A vantagem da reversão da polaridade consiste na redissolução da precipitação nas células da solução concentrada, na medida em que se processar a mudança na polaridade.

Testes de correção de pH também foram realizados. Segundo METSAMUURONEN e NYSTROM (2009) adição de ácidos e bases às soluções de ED pode conduzir a um melhor desempenho do sistema, e evitar que as soluções tornem-se extremamente ácidas ou básicas, o que pode danificar as membranas e ainda descaracterizar os produtos gerados pela ED. Dois testes distintos de correção de pH foram realizados:

- adicionou-se solução alcalina, KOH 0,5M na solução teste, mantendo a solução de eletrodos sem adições;
- adicionou-se solução ácida, ácido cítrico 0,5M na solução de eletrodos, mantendo a solução teste sem adições.

As adições foram realizadas a cada 60 minutos, quando a fonte de corrente contínua era desligada, mas o sistema de bombeamento, mantido. As quantidades de ácido e base adicionados dependiam do pH em que as soluções se encontravam no momento.

Depois de alcançar um pH próximo ao neutro (7), na solução em questão, a fonte de energia, era re-ligada e o teste prosseguia, da mesma forma que os testes de desmineralização iniciais.

3.2.6.4 Caracterização dos testes de ED

Nas células com três compartimentos, a vazão da solução de alimentação e da solução de eletrodos foi de 14 mL.s^{-1} . O processo foi realizado no modo batelada e em cada ensaio foram tratados 0,7 L de permeado do soro. No compartimento catódico e anódico circulavam 2,5 L das soluções salinas. Todos os ensaios foram realizados em temperatura ambiente e no mínimo em duplicata. As características de pH e condutividade elétrica das soluções de eletrodos e de alimentação foram monitoradas a cada 10 minutos. As amostras iniciais e finais da solução teste foram coletadas e avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: teor de sólidos totais de acordo como método apresentado em LANARA (1981); concentração de lactose determinada através do método do ácido dinitrossalicílico (DNS, segundo MILLER, 1959). Estes procedimentos estão descritos na seção 3.5 Métodos Analíticos.

Para caracterizar o processo de ED algumas grandezas são utilizadas e estão apresentadas na sequência.

Condutividade elétrica

O processo de desmineralização foi acompanhado medindo-se a condutividade elétrica da solução de permeado de soro e o teor de remoção de sais foi calculado conforme a Equação 3.1 sugerido por CASADEMONT *et al.* (2009):

$$DR = \frac{ke_0 - ke_t}{ke_0} \times 100 \quad (3.1)$$

onde, DR é a razão de desmineralização expressa em porcentagem, ke_0 e ke_t são, respectivamente, a condutividade elétrica inicial e em determinado tempo (t) do permeado de soro, expresso em mS.cm^{-1} .

Resistência aparente

A resistência aparente representa a resistência da célula de eletrodiálise e é a soma de todas as resistências elétricas presentes no sistema em qualquer momento. Essas resistências elétricas chegam de ambos os lados da membrana e de contribuições da solução e podem ser vistas como um conjunto de resistores em série (AMADO, 2002). A resistência aparente do sistema, R_{ap} , pode ser calculada a partir da Equação 3.2.

$$R_{ap} = \frac{V}{n_m I} \quad (3.2)$$

onde, V (V) é voltagem total observada entre os dois eletrodos, n_m é o número de pares de membranas e I (A) é a corrente que passa pelo sistema.

3.3 Osmose Inversa – Recuperação da água

Nesta seção são apresentados os materiais e a metodologia experimental para a realização dos experimentos de osmose inversa. O objetivo desta etapa é obter o permeado com baixa condutividade elétrica, para aproveitamento desta corrente em outra etapa do processo do tratamento do soro. E, também, diminuir significativamente o volume da solução de alimentação, restando os sais, mas em menor volume, para posterior tratamento ou reutilização.

3.3.1 Solução teste

A solução teste tratada por OI foi a solução de eletrodos obtida no processo de desmineralização por ED (com elevada concentração salina e, portanto alta condutividade elétrica) a fim de recuperar uma corrente rica em sais (concentrado) e uma corrente de água para reuso (permeado). A solução consiste de sulfato de potássio, enriquecida com sais retirados do soro de leite, e com condutividade elétrica inicial de 20 mS.cm^{-1} .

3.3.2 Equipamento

A Figura 3.6: é uma representação esquemática do sistema de bancada de OI.

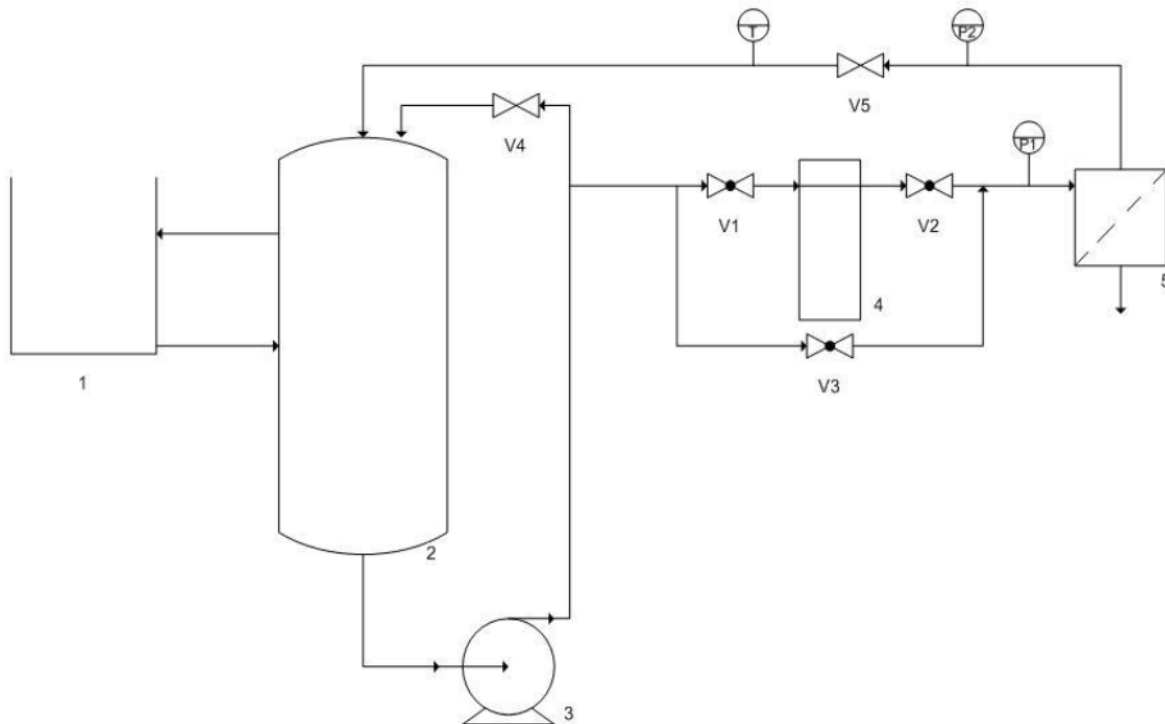


Figura 3.6: Representação esquemática do sistema de bancada de OI. Legenda: (1) banho termostático, (2) tanque de alimentação, (3) bomba de engrenagens, (4) pré-filtro, (5) módulo para membrana, (P1) e (P2) manômetros.

Como pode ser visto na Figura 3.6: , o sistema consiste dos seguintes equipamentos:

- um banho termostático (1), marca RM 12 *Lauda*, com reservatório de 0,02 m³, controle analógico de temperatura, precisão de 2°C, que opera na faixa de temperatura de 20 a 100 °C;
- um tanque de alimentação (2), com capacidade de 0,02 m³.
- uma bomba de deslocamento positivo (3), modelo 113A100F31BB fabricada pela *Procon*, construída em aço inoxidável e grafite, fornecendo uma pressão máxima de $17,23 \times 10^5$ Pa e vazão máxima de $7,89 \times 10^{-3}$ m³·s⁻¹;
- um pré-filtro (4), da marca *Cuno* e fabricante *Engefiltros* (Brasil), constituído de uma carcaça de aço inoxidável e elemento filtrante de polipropileno de 1 µm;
- um módulo espiral para a membrana (5);

- um termopar (T) do tipo J, com limites de erro padrão de $\pm 2,2$ °C ou $\pm 0,75\%$. Este envia um sinal para um indicador de temperatura modelo West 2300, com graduação decimal em graus Celsius;
- dois manômetros (P1) e (P2), de aço inoxidável, localizados nas correntes de alimentação e concentrado, respectivamente, medem as pressões na entrada e na saída do módulo. Os manômetros da marca Wika possuem escala de 0 a 40×10^5 Pa.

3.3.3 Membranas de OI

Neste trabalho foi utilizado o módulo espiral. A membrana de OI utilizada foi a BW30-2514, da empresa *Filmtec*. A área de permeação é de $0,7 \text{ m}^2$. Pode ser utilizada na faixa de pH entre 2 e 11, e com uma temperatura máxima de 45 °C. A Figura 3.7 mostra o esquema interno de um módulo de membrana espiral.

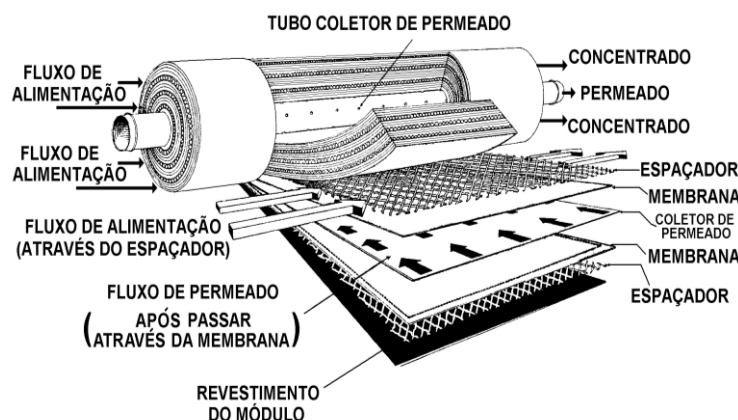


Figura 3.7: Esquema interno de um módulo de membrana espiral.

Este módulo pode ser considerado uma evolução do módulo plano, ou seja, nada mais é do que um módulo plano envolto, de forma espiralada, em torno de um tubo central perfurado de coleta de permeado. A alimentação escoar axialmente através do módulo cilíndrico paralelamente ao tubo central, no qual o permeado escoar radialmente. Este módulo caracteriza-se por um projeto relativamente simples e por uma elevada densidade de empacotamento, a qual depende fortemente da altura do canal, determinada pelo material do espaçador utilizado.

3.3.4 Metodologia

O desempenho do sistema de OI é indicado pela sua capacidade de remover água e reter impurezas. Por sua vez, os parâmetros considerados como sendo indicadores de desempenho dos processos de OI são: o fluxo de água permeada, a permeabilidade hidráulica da membrana e a retenção salina. A fim de avaliar os parâmetros de desempenho, o procedimento experimental consistiu nas seguintes etapas:

1. limpeza química do sistema;
2. medidas do fluxo permeado e da retenção salina ($\text{NaCl } 2 \text{ kg.m}^{-3}$) inicial da membrana, nas pressões transmembrana de 200 a 1.000 kPa (para assegurar a retenção da membrana de OI);
3. testes com solução de eletrodos, e medidas de condutividade elétrica das correntes de concentrado e de permeado, para cálculo da retenção;
4. medidas do fluxo permeado de água e de retenção salina da membrana;
5. limpeza química do sistema;
6. medidas do fluxo permeado de água e de retenção salina da membrana.

Na etapa 3, a pressão transmembrana foi mantida em 600 kPa. Um volume de aproximadamente $0,005 \text{ m}^3$ de solução salina com uma condutividade elétrica inicial de $20,8 \text{ mS.cm}^{-1}$ foi tratada por osmose inversa. Este volume era somado aos $0,003 \text{ m}^3$ de água da tubulação. Os testes de permeação foram realizados em batelada, onde o concentrado retornava para o tanque de alimentação e o permeado era recolhido. O teste era mantido até reduzir o volume inicial ao máximo possível, ou até o fluxo permeado ficar excessivamente baixo.

A limpeza química do sistema foi realizada, como está descrito a seguir:

- água destilada circulando no sistema por 20 minutos;
- limpeza básica: solução de NaOH, pH 9 circulando por 30 minutos;
- água destilada circulando no sistema por 20 minutos;
- limpeza ácida: ácido cítrico 5 kg.m^{-3} circulando por 30 minutos;
- água destilada circulando no sistema por 20 minutos.

Medidas de condutividade elétrica foram utilizadas para estimar a concentração de sais dissolvidos nas correntes de alimentação, permeado e concentrado. Uma vez que a

condutividade elétrica varia de forma linear e proporcional à concentração total de sais em solução, e é uma medida mais fácil de ser realizada do que a determinação da concentração.

3.4 Ultrafiltração - Fracionamento das proteínas do soro de leite

Nesta seção são apresentados os materiais e a metodologia experimental para a realização dos experimentos de fracionamento das proteínas do soro de leite. O objetivo desta parte do trabalho é comparar os resultados de fracionamento das proteínas de soluções de soro de leite reconstituído, de soro de leite *in natura* e de concentrado proteico comercial em diferentes pH.

3.4.1 Soluções teste

Os experimentos de fracionamento de proteína do soro de leite foram realizados com três soluções:

- A.** soro de leite em pó (*Brasil Foods S.A.*) reconstituído em água destilada, as amostras foram assim denominadas: **R1** soro de leite em pó reconstituído com pH inicial 6; **R2** soro reconstituído com pH inicial 5;
- B.** soro de leite *in natura* proveniente de queijo serrano fornecido pela fazenda *São Sebastião* (Vacaria/RS), as amostras foram assim denominadas: **N1** soro de leite *in natura* com pH inicial 6; **N2** soro *in natura* com pH inicial 5;
- C.** concentrado proteico do soro de leite (*Whey Protein Concentrate – Probiótica Professional Line*), as amostras foram assim denominadas: **W1** concentrado proteico de soro de leite comercial com pH inicial 6; **W2** concentrado proteico de soro de leite comercial com pH inicial 5.

As amostras iniciais em todos os experimentos continham entre 6 e 8% de sólidos totais.

3.4.2 Equipamento

O processo de UF foi realizado em uma unidade de bancada localizada no LASEM (Laboratório de Processos de Separação por Membranas) da UFRGS. A unidade piloto de UF está esquematizada na Figura 3.6: . A unidade utilizada é a mesma dos experimentos de OI, no entanto o tanque de alimentação e o módulo de membrana utilizados foram os seguintes:

- tanque de alimentação de vidro (2) com capacidade de $0,002 \text{ m}^3$;
- carcaça para membrana plana (5), construída de aço inoxidável 316, permite a instalação de membranas com área útil de $61,02 \text{ cm}^2$.

A célula para membrana plana (5) consiste de um módulo de placas paralelas com uma membrana permeável entre elas. A membrana é permeável ao solvente e parcialmente permeável aos solutos, de acordo com o coeficiente de retenção local, que depende da velocidade de permeado e da concentração de solutos da solução de alimentação.

3.4.3 Membrana de UF

Nos experimentos de fracionamento das proteínas do soro do leite foram testadas membranas planas poliméricas (poli(etersulfona)) de UF com MMC igual a 30 kDa (UF30). A membrana foi fornecida pela empresa *DBD Filtros* e, conforme indicação do fabricante, deve ser utilizada em temperaturas inferiores a 370 K, em pH que esteja dentro da faixa de 0,5 e 13.

3.4.4 Metodologia

O processo foi operado a temperatura de $30 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ com uma vazão de alimentação média do sistema de $8,11 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, o que representa uma velocidade inicial de escoamento (V_0) de $0,5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. A pressão transmembrana (ΔP) foi um parâmetro que foi variado durante os experimentos. As características de pH e condutividade elétrica das amostras de permeado e concentrado de soro de leite foram monitoradas periodicamente. As amostras iniciais e finais da solução de soro foram coletadas e avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: teor de sólidos totais de acordo com o método apresentado em LANARA (1981); concentração de lactose determinada através do método do ácido

dinitrossalicílico (DNS - segundo MILLER, 1959), a determinação do teor de proteína foi realizada através do método de Lowry (LOWRY *et al.* 1951), a identificação das diferentes proteínas foi realizada utilizando MALDI-TOF/MS. Estes procedimentos estão descritos na seção 3.5 Métodos Analíticos.

Primeiramente, realizou-se a compactação da membrana e verificou-se sua permeabilidade hidráulica, com o objetivo de prepará-la e caracterizá-la para os ensaios de UF do soro. Em seguida, testes com o soro foram realizados. E por fim, realizaram-se medidas de fluxo de água após os experimentos.

O objetivo da compactação é realizar o adensamento da microestrutura das membranas, para que isso não aconteça durante os ensaios, levando a conclusões errôneas sobre fenômenos inerentes a esses processos, como *fouling*, por exemplo. Os testes de compactação são executados a uma pressão maior do que a de operação até que o fluxo permeado de água torne-se constante com o tempo.

O tanque foi alimentado com dois litros de água destilada. A bomba foi acionada e regulou-se a válvula de contra pressão até alcançar a maior ΔP possível (800 kPa) para que o adensamento da microestrutura fosse garantido. A água ficou recirculando em torno de 10 minutos para estabilizar o sistema. Em seguida, foram realizadas medidas de fluxo a cada 10 minutos. As medidas de fluxo de permeado foram realizadas através do método volumétrico direto. A compactação era encerrada quando o fluxo de água tornava-se constante.

Antes e após cada experimento, foram realizadas medidas de fluxo de água, com o objetivo de avaliar a permeabilidade hidráulica e o grau de *fouling* da membrana. Estes testes permitem avaliar, principalmente, o comportamento das membranas em relação à água com respeito aos valores de fluxo de permeado, em diferentes pressões. Além disso, servem para comparar o estado das membranas após a passagem do efluente pelas mesmas, e assim ter uma ideia de quanto o *fouling* foi significativo nos experimentos de separação por membranas e o quanto diminuiu a eficiência do sistema.

Após realizar estes testes preliminares iniciaram-se os experimentos com as soluções de soro de leite. As soluções foram colocadas no tanque de alimentação e, em seguida, foi iniciada a permeação do efluente, com objetivo de analisar a influência da

pressão no fluxo de permeado. As pressões impostas ao sistema foram: 500, 400, 300, 200 e 100 kPa e, para cada uma delas foram realizadas três medidas de fluxo de permeado.

Na etapa de concentração das proteínas, a pressão transmembrana foi mantida em 200 kPa e a temperatura do soro em $30 \pm 3^\circ\text{C}$.

Nos primeiros vinte minutos, o sistema operou em reciclo total, ou seja, as correntes de permeado e concentrado retornavam para o tanque de alimentação, para homogeneizar a solução e para o sistema entrar em equilíbrio térmico. Após, somente a corrente concentrada retornava ao tanque. Medidas diretas de fluxo permeado foram realizadas a cada 20 minutos. Os experimentos foram conduzidos até a coleta de 600 mL de permeado.

3.5 Métodos Analíticos

As características das amostras retiradas durante os processos de ultrafiltração, eletrodiálise e osmose inversa foram analisadas conforme descrito nos procedimentos a seguir. Informações mais detalhadas das técnicas utilizadas estão apresentadas no Apêndice B.

3.5.1 Análise de Extrato Seco Total

O valor de extrato seco total ou de sólidos totais (ST) é o parâmetro adotado para a verificação da concentração total de matéria seca não volátil das amostras de concentrado e permeado de soro de queijo. A medida de sólidos totais foi realizada através da técnica gravimétrica de acordo como método apresentado pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA, 1981), Portaria 001/81; a precisão do método é de $\pm 5\%$.

3.5.2 Análise do Teor de Lactose

As análises de lactose foram realizadas através o método do ácido dinitrossalicílico (DNS), segundo MILLER (1959). Os açúcares redutores foram quantificados por espectrofotometria com comprimento de onda de 570 nm, utilizando-se uma curva padrão de lactose cuja concentração varia no intervalo de 1 a 5 mg.mL⁻¹.

Para a leitura de absorbâncias foi utilizado o espectrofotômetro UV visível modelo CARY 300 da *Varian*. As medidas foram realizadas em cubetas de vidro com 1 cm de caminho óptico.

3.5.3 Determinação do Teor de Proteína Total

A determinação do teor de proteína foi realizada através do método de Lowry (LOWRY *et al.* 1951). É um método colorimétrico para determinação quantitativa de proteínas totais. O princípio do método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico, (reagente *Folin-Ciocalteu*), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (Cu^{+2}), e produz um composto com absorção máxima em 750 nm.

É empregado por se tratar de um método de leitura direto e, por isso, expedito. Os teores de proteínas totais foram determinados por espectrofotometria em um comprimento de onda de 750 nm utilizando uma curva padrão de BSA no intervalo de 0,1 a 0,5 mg.mL⁻¹.

Para a leitura de absorbâncias foi utilizado o espectrofotômetro UV visível modelo CARY 300 da *Varian*. As medidas foram realizadas em cubetas de vidro com 1 cm de caminho óptico.

3.5.4 Análise de pH

As análises de pH foram realizadas através do pHmetro *Denver Instrument UB-10*. O eletrodo utilizado é do tipo *ultra basic electrode* 300729-1 com ponte eletrolítica de KCl e é provido de termo-compensador. A precisão da medida apresenta incerteza de $\pm 0,1$ e confiança de 95 %. O equipamento foi calibrado regularmente com padrões de pH 4 e 10 conforme as instruções do fabricante.

3.5.5 Análise de Condutividade Elétrica

A medida da condutividade elétrica (k_e) é uma medida indireta da concentração de íons na solução. A condutividade elétrica foi determinada para as soluções de alimentação e de permeado. O equipamento utilizado para esta análise foi o condutivímetro *Digimed DM-31*, com eletrodo modelo DMC-010M e $K = 1 \text{ cm}^{-1}$. A precisão da medida tem uma

incerteza de $\pm 3\%$, sendo que o equipamento era calibrado com uma solução padrão de $1413 \mu\text{S cm}^{-1}$ a 25°C .

3.5.6 Determinação de Turbidez

A turbidez se define como a medida da interferência à passagem da luz, provocada pelas matérias em suspensão. O resultado da análise é expresso em NTU (Unidade de Turbidez Nefelométrica). A medida de turbidez foi realizada nas soluções de eletrodos dos experimentos de ED. Detecta a presença de material coloidal e em suspensão na amostra analisada. O método de medição é indicado na técnica 2130-B do *Standard Methods* 20th e o equipamento utilizado para determinação foi o turbidímetro nefelométrico modelo AP-2000, fabricado pela *Policontrol*.

3.5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície de uma amostra. Devido à maneira com que as imagens são criadas, imagens de MEV tem aparência tridimensional característica e são úteis para avaliar a estrutura superficial de uma dada amostra.

Os materiais não condutores de corrente elétrica, para serem analisados no MEV devem ser previamente metalizados. A metalização consiste na precipitação, a vácuo, de uma película micrométrica de material condutor (ouro ou carbono) sobre a superfície do material, possibilitando a condução da corrente elétrica.

Esta análise foi realizada nas membranas de ED. As membranas analisadas foram metalizadas com ouro no dia anterior à análise e previamente secas e armazenadas num dessecador. As imagens eletrônicas de varredura foram obtidas com o equipamento *Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL-JSM 6060* no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As seguintes condições analíticas foram utilizadas para as análises: feixe de elétrons com resolução nominal de 3,5 nm, regulável para tensões de 0,3 a 30 kV; vácuo da análise de 10^{-4} Pa; vácuo da metalização de 10^{-5} bar; faixa de magnificação: 18 a 300.000 x; estágio goniométrico motorizado de 5 eixos, eucêntrico em todas as posições, inclinação de amostras de -10° a $+90^\circ$ e rotação de 360° .

3.5.8 Análise de proteínas através de MALDI-TOF MS

Para a identificação das proteínas da etapa do fracionamento de proteínas foi utilizada a técnica de MADI TOF-MS.

MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*) se trata de um método que torna possível a ionização de macromoléculas biológicas tais como as proteínas que são difíceis de serem ionizadas por não serem facilmente decompostas (o material alvo se dispersa durante a ionização). Tais macromoléculas podem ser analisadas graças à irradiação de uma mistura compilada de substâncias (matriz) as quais absorvem feixes de laser e amostras macromoleculares. Combinado com este método, o sistema TOF/MS (*Time-Of-Fligh/Mass Spectrometer*) é um detector do espectrômetro de massa, o qual utiliza a diferença de tempo de deslocamento graças às diferenças de tamanho das substâncias ionizadas. Em uma análise MALDI TOF-MS as amostras são previamente dissolvidas e dispersas numa matriz (geralmente um ácido orgânico, neste caso ácido fórmico), colocadas numa placa MALDI e, após evaporação do solvente, é introduzida na fonte MALDI onde os cristais da amostra-matriz são irradiados por um feixe laser.

A concentração da amostra para proteínas com massas superiores a 10 kDa devem estar diluídas entre 100 a 200 pmol/ μ L. Utiliza-se sempre reagentes com grau de pureza HPLC e água mili-Q.

As análises foram realizadas em um analisador MALDI TOF-MS *Waters*, modelo *MALDI Micro MX Micromass* na Unidade de Química de Proteínas e Espectrometria de Massas (Uniprote-MS) do Centro de Biotecnologia da UFRGS.

3.6 Reagentes Analíticos

A Tabela 3.2 apresenta os reagentes utilizados para a realização das análises e da limpeza das membranas. Para o preparo de todas as soluções aquosas foi utilizada água destilada.

Tabela 3.2: Reagentes utilizados, fórmula, grau de pureza e fornecedor.

Reagente	Fórmula molecular	Pureza	Fornecedor
<i>Análise de lactose - Método do ácido dinitrossalicílico</i>			
Hidróxido de Sódio	NaOH	95 - 100%	CAQ
Ácido 3,5 - dinitrosalicílico	C ₇ H ₄ N ₂ O ₇	Mín. 99%	VETEC
Tartarato de sódio e potássio	KNaC ₄ H ₄ O ₆ ·4H ₂ O	99 - 100%	VETEC
<i>Análise de Sólidos Totais</i>			
Ácido Nítrico	HNO ₃	Mín. 65%	Dinâmica
Areia fina	-	comercial	-
<i>Análise de proteína - Método de Lowry</i>			
Sulfato de Cobre	CuSO ₄ ·5H ₂ O		
Citrato de sódio	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O	99 - 100%	Cromato
Carbonato de sódio	NaCO ₃	99,5%	Dinâmica
Hidróxido de Sódio	NaOH	95 - 100 %	CAQ
Folin – Ciocalteu	W + Mo + H ₃ PO ₄	N.I*	Cromato
<i>Limpeza</i>			
Hidróxido de Sódio	NaOH	95 - 100 %	CAQ
Ácido Cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	99%	VETEC
Hipoclorito de sódio	NaOCl	Comercial	ALZ
Kit p/ determinação de Cloro	-	Comercial	Lamotte Company
<i>Padrão molecular</i>			
Lactose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ H ₂ O	P.A	CAQ
Albumina do soro bovina	BSA	Mín. 96%	Sigma
β-lactoglobulina	β-Lg	Mín. 96%	Sigma
α-lactoalbumina	α-La	Mín. 96%	Sigma

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos experimentos de UF e DF para concentrar e purificar as proteínas do soro de leite, os resultados dos testes de desmineralização (permeado obtido na UF/DF) através da eletrodialise; na ED foram testadas diferentes soluções de eletrodos, e em diferentes condições, para determinar qual apresentaria o melhor desempenho, tanto em relação a maior desmineralização, quanto em relação a menor resistência elétrica do sistema. Dando sequência ao trabalho, são apresentados e discutidos os resultados do tratamento por OI da solução com alta concentração de sais gerada na ED e os resultados de testes de fracionamento das proteínas do soro de leite, utilizando UF e soluções de soro de leite reconstituído, soro de leite *in natura* e concentrado proteico do soro de leite comercial. Nesta seção são apresentados os principais resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho. Vale ressaltar que todos os experimentos foram realizados no mínimo em duplicata e os dados experimentais encontram-se documentados no Apêndice C.

4.1 Ultrafiltração - Concentração e purificação das proteínas

Nesta seção são apresentados os dados referentes à concentração e purificação das proteínas através da UF associada a DF. Primeiramente foram realizados experimentos medindo-se o fluxo permeado em diferentes pressões transmembranas com água e, posteriormente, com soro. A Figura 4.1 apresenta o fluxo permeado para a água e para o soro de leite em função da pressão transmembrana.

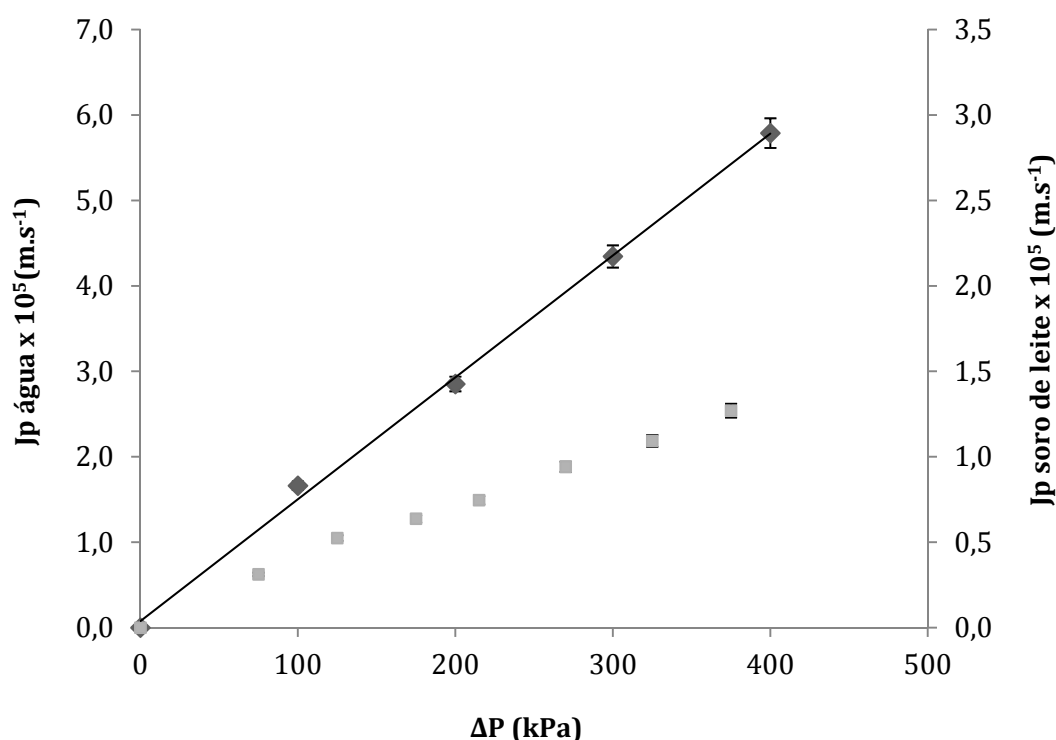


Figura 4.1: Fluxo permeado de água e de soro de leite *versus* pressão transmembrana para a membrana De UF, UF-6001, $T=50^\circ\text{C}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 3\%$.

Através da Figura 4.1 observa-se que o fluxo de água aumentou linearmente com a pressão transmembrana, enquanto o fluxo para o soro não apresenta esta linearidade. Além disso, para as mesmas condições operacionais ocorreu uma diferença significativa nos fluxos permeados do soro e da água. Esse mesmo comportamento foi encontrado por REKTOR e VATAI (2004), ATRA *et al.* (2005), CHOLLANGI e HOSSAIN (2006) e BUTYLINA *et al.* (2006) em seus trabalhos, isto é, os fluxos da solução do soro eram mais baixos do que os fluxos da água pura em todas as pressões. As possíveis causas para este fluxo mais baixo incluem: as interações entre a membrana e a solução, efeitos de viscosidade cinemática e difusividade mássica.

O fluxo permeado do soro menor do que o fluxo de água evidencia que o efeito de polarização por concentração é bastante significativo para o soro mesmo no início do experimento e este efeito tende a se agravar à medida que o soro vai sendo concentrado. Neste caso, pode-se afirmar que o aumento de fluxo é limitado pelo aumento da camada polarizada, isto é, o aumento de pressão transmembrana é contra balanceado pelo aumento da resistência total.

Como resultado destas medidas e tendo em vista trabalhos anteriores (BOSHI, 2006; BALDASSO, 2008; PAGNO *et al.*, 2009) decidiu-se trabalhar na pressão de 200 kPa, quando o fluxo e a pressão ainda apresentam uma certa linearidade. Sabe-se que quanto maior a pressão aplicada maior a quantidade de soluto que chega à superfície da membrana o que pode intensificar o fenômeno de polarização por concentração e a tendência de formação de *fouling* na membrana. Segundo BRANS (2006), o aumento da pressão transmembrana pode acarretar em um aumento inicial do fluxo, entretanto, isto pode provocar a formação de *fouling*, prejudicando o fluxo em operações de longa duração.

A Figura 4.2 mostra o comportamento do fluxo permeado de soro de leite em função do fator de concentração volumétrico (FCV) para a etapa de UF da etapa de concentração de proteínas do soro de leite. O processo de UF foi operado até um FCV de 6 (FCV máximo alcançado de 6 foi em função das limitações da unidade experimental). Decidiu-se concentrar o soro de leite antes de fazer as DF, pois alguns autores (entre estes ROMÁN *et al.* (2010); JAFFRIN e CHARRIER (1994); FOLEY (2006)) sugerem que para um processo mais eficiente uma fase de pré-concentração é interessante, onde um certo teor de macrossolutos seja atingido antes do início das DF.

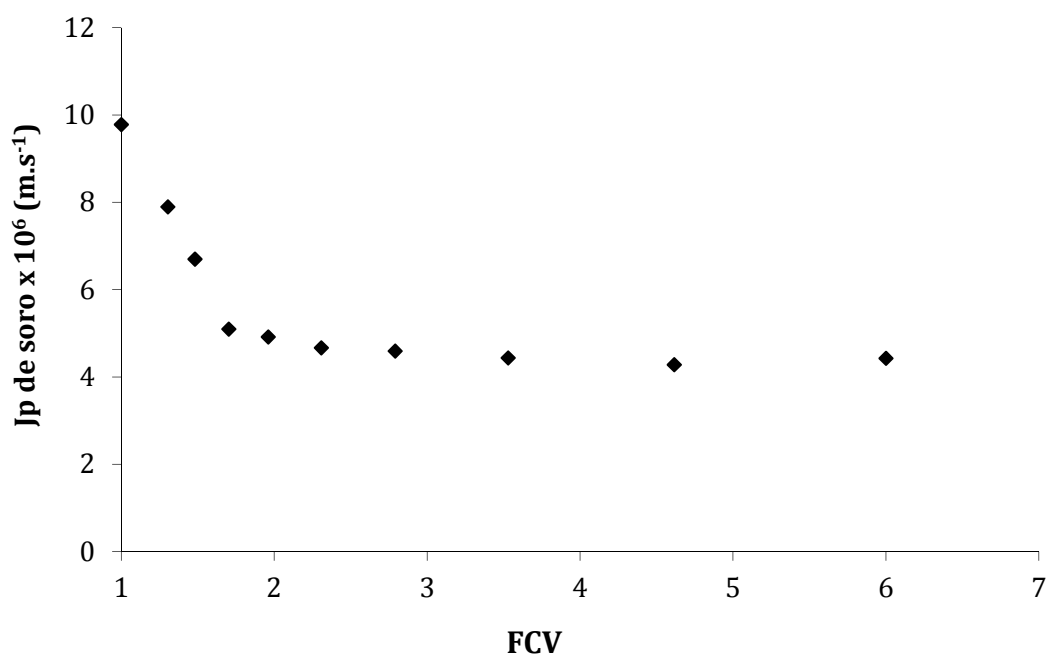


Figura 4.2: Fluxo permeado em função do fator de concentração volumétrico para a UF do soro reconstituído, membrana UF-6001, T=50 °C, $\Delta P=200$ kPa, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

Observa-se que o fluxo permeado diminui sensivelmente (a metade do valor inicial) à medida que o fator de concentração volumétrico aumenta até um FCV de 2. O FCV poderia ainda ser aumentado, se fosse possível diminuir o volume “morto” do equipamento, visto que o fluxo permeado não apresentou tendência de diminuir entre o FCV de 2 e o de 6.

Segundo SMITH (2003) o fluxo permeado pode diminuir com o aumento do FCV. Para REKTOR e VATAI (2004) e BACCHIN *et al.* (2006) quanto mais concentrada a solução de alimentação, menor o fluxo permeado; isso pode ocorrer devido à pressão osmótica mais elevada e ao maior acúmulo de moléculas de soluto na camada polarizada, aumentando sua espessura e, por consequência, sua resistência à permeação.

Segundo ATRA *et al.* (2005), em fatores de concentração mais elevados há um depósito maior e mais denso da camada que reduz o fluxo permeado até que este alcance a condição de estado estacionário. É esta tendência que pode ser observada na Figura 4.2, a partir do FCV igual a 2. ROMÁN *et al.* (2009) realizaram experimentos de NF associada a DF para desmineralização de soro de leite ácido quando compararam o decaimento do fluxo em função do fator de concentração para diferentes razões de volumes adicionados na DF em função do volume retirado no permeado, não houve diferença significativa. Segundo os pesquisadores o fluxo poderia decrescer em função do aumento do fator de concentração, devido ao aumento da massa específica e da viscosidade do retido, e ainda ao fenômeno de polarização por concentração. Mas, não são em todos os casos que o aumento da massa específica e da viscosidade são expressivos a ponto de alterarem as características de escoamento.

A Figura 4.3 apresenta o teor de sólidos totais (ST) em função do tempo de experimento para o concentrado e para o permeado para as etapas de concentração (UF) e purificação (DF). Utilizou-se a linha pontilhada no gráfico para melhor visualização das etapas de UF (lado esquerdo da linha tracejada) e DF (lado direito da linha tracejada).

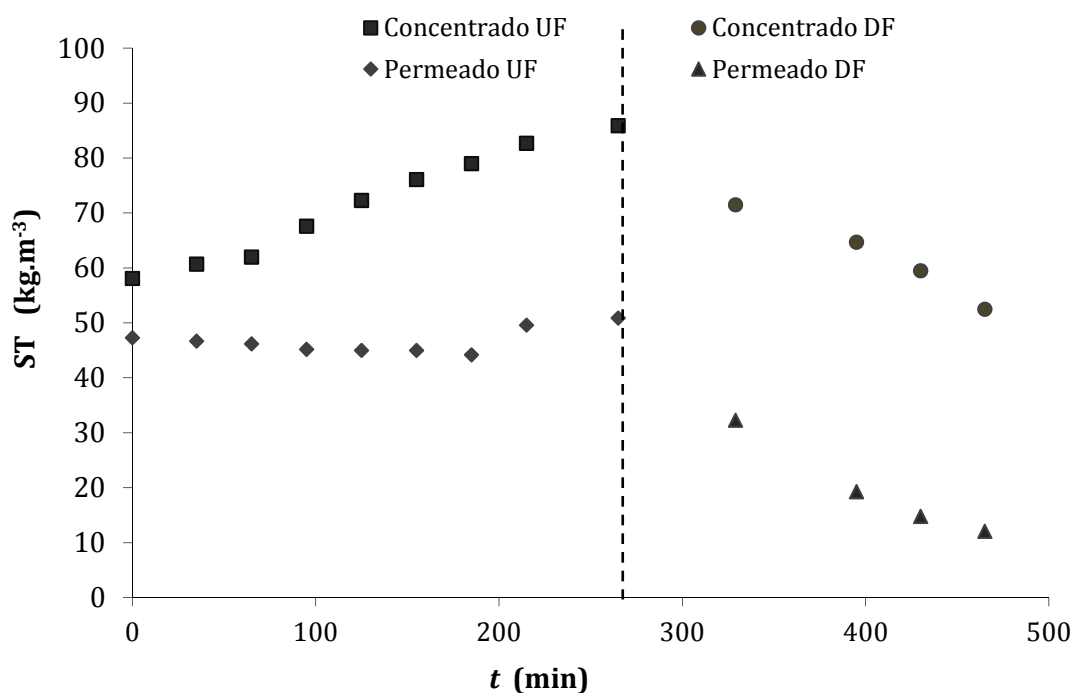


Figura 4.3: Concentração de sólidos totais das amostras de permeado e concentrado em função do tempo para a etapa de UF/DF, membrana UF-6001, $T=50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta P=200\text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4}\text{ m}^3.\text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

Observa-se que houve um aumento de ST na corrente de concentrado durante a UF devido principalmente ao aumento do teor de proteína (este comportamento pode ser visualizado a seguir na Figura 4.4). No permeado a concentração de ST é aproximadamente constante até o final da UF. O retido possui concentrações mais elevadas de ST tanto para a etapa de UF quanto na etapa de DF. Durante as DFs ocorreu a redução de ST para ambas correntes, no concentrado devido à remoção de lactose e sais no permeado e devido ao efeito de diluição.

A Figura 4.4 apresenta a concentração de proteína em função do tempo de experimento para o concentrado e para o permeado das etapas de concentração (UF) e purificação (DF). Analisando os resultados apresentados observa-se que a concentração de proteínas no retido aumenta ao longo do experimento de UF. A concentração inicial de proteínas é de cerca de 9 kg.m^{-3} e no final da UF é cerca de 35 kg.m^{-3} .

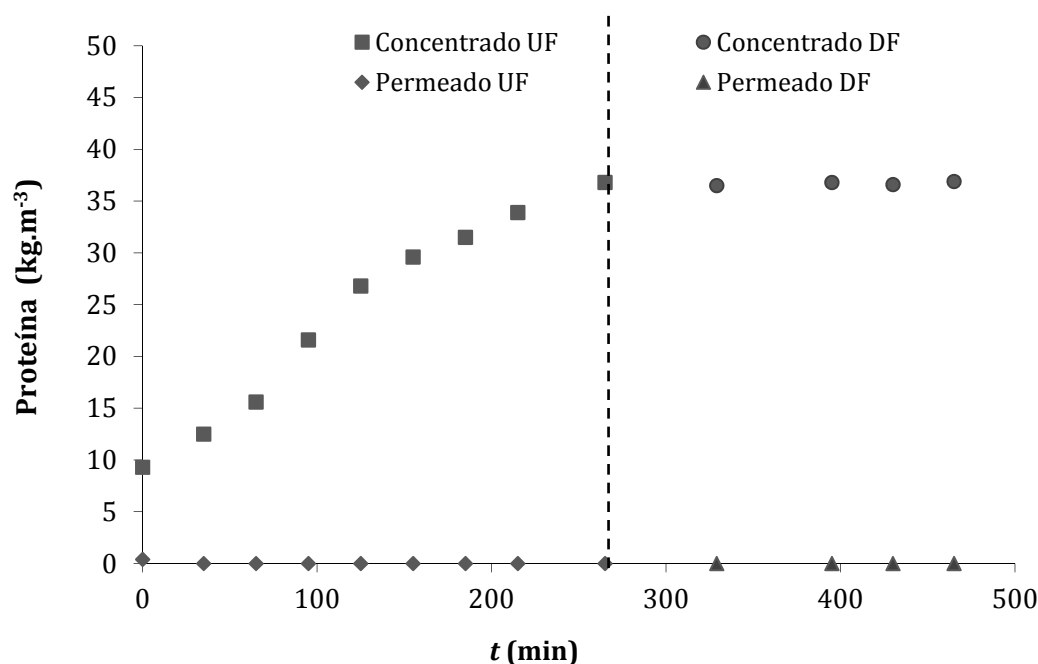


Figura 4.4: Concentração de proteína das amostras de permeado e concentrado em função do tempo para a etapa de UF/DF, $T=50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta P=200\text{ kPa}$, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4}\text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

Nota-se que a concentração de proteína durante as DF permanece constante, no entanto o teor de contaminantes, sais e lactose, diminui significativamente nas DF, o que resulta em uma purificação das proteínas; comportamento similar é apresentado por LEITE *et al.* (2006).

A variação da concentração de lactose em função do tempo pode ser observada na Figura 4.5. A curva mostra um comportamento similar ao encontrado para os ST, pois a lactose é o componente mais abundante no soro, e com massa molar menor que a MMC da membrana, apresenta baixa retenção, deve permear e ter impacto decisivo no teor dos sólidos totais ao longo do tempo, tanto no permeado quanto no concentrado.

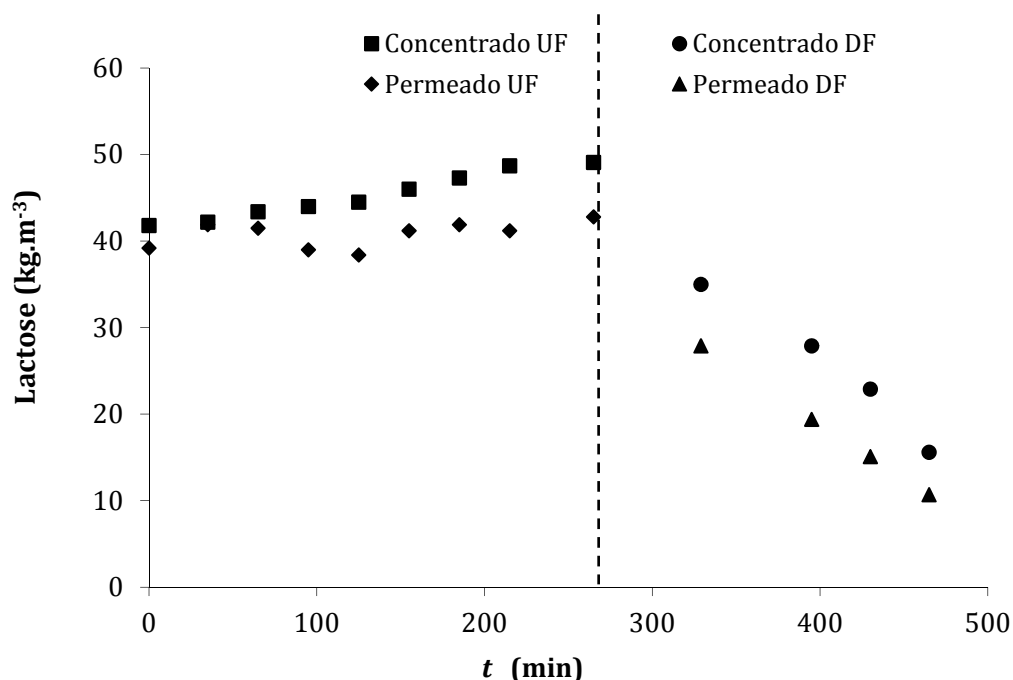


Figura 4.5: Concentração de lactose para as amostras de permeado e concentrado em função do tempo da etapa de UF/DF, $T=50^{\circ}\text{C}$, $\Delta P=200$ kPa, vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

No permeado, durante a etapa de UF, a concentração de lactose permanece ao redor de $40 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$; no retido inicia com cerca de $40 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ e atinge $50 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ao final da etapa de UF. Quando é iniciada a DF a concentração de lactose diminui significativamente tanto no retido quanto no permeado. Ao final das quatro DF a concentração de lactose no retido atinge $15 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, enquanto que no permeado a concentração de lactose fica em torno de $10 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, valor semelhante ao da concentração de sólidos totais, evidenciando que praticamente todo sal é removido, e todos os sólidos que estão sendo retirados no permeado correspondem à lactose.

Os dados confirmam o que alguns autores já haviam observado. REKTOR e VATAI (2004) aplicaram métodos de filtração por membranas para tratar o soro de queijo do tipo *Mussarela*. Os autores utilizaram a UF para a concentração de proteínas e associada a DF obtiveram proteína purificada e concentrada. YEE *et al.* (2007) investigaram o uso de uma planta de UF multi-estágios, com produção contínua, para obter uma concentração de proteínas por volta de 80%. ANTUNES (2003) conclui em seu trabalho que para o processo de obtenção de CPS com 80% de proteína é necessário o emprego da DF para promover uma remoção mais eficiente de lactose e sais minerais. CHEANG e ZYDNEY (2004) obtiveram uma recuperação acima de 90% para as proteínas α -La e β -Lg quando a DF

foi utilizada; XU *et al.* (2000) usaram duas etapas de DF para o concentrado do soro de queijo da UF para concentrar as proteínas como as Igs e glicomacropéptidos, esses dois compostos passaram pelo processo de secagem por *spray drier* e no permeado restaram proteínas como α -La, β -Lg e BSA.

O pH não sofreu alterações significativas durante todo o processo, as amostras de concentrado e permeado permaneceram com pH entre 6,2 e 6,4; este comportamento é um bom indicativo de que a solução não foi degradada durante o tempo do experimento.

A medida da condutividade elétrica permaneceu praticamente a mesma para o permeado e o concentrado durante toda a etapa de UF, pois a membrana não é seletiva para os sais, que são os compostos que mais contribuem para a condutividade elétrica; durante a etapa de DF a condutividade elétrica foi decaindo no concentrado devido a permeação dos sais, e no permeado devido ao efeito de diluição.

As concentrações médias de proteína, lactose e sais, para as soluções de soro reconstituído, concentrado proteico purificado e permeado da UF estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Concentrações médias de proteína, lactose e sais, para o soro reconstituído, o concentrado proteico e o permeado do soro.

Produto	Proteína (kg.m ⁻³)	Lactose (kg.m ⁻³)	Sais (kg.m ⁻³)
Soro reconstituído	9	40	10
Concentrado proteico	35	15	-
Permeado da UF	-	40	10

Como pode ser visto na Tabela 4.1, para o soro reconstituído as concentrações médias iniciais e o percentual em base seca de lactose, de proteína e de sais foram aproximadamente 40 kg.m⁻³ (70%), 9 kg.m⁻³ (15%) e 10 kg.m⁻³ (15%), respectivamente. O concentrado proteico purificado continha em média 35 kg.m⁻³ (70% base seca) de proteína, 15 kg.m⁻³ (30%, base seca) de lactose e não apresentava presença detectável de sais. Enquanto o permeado deste processo não continha proteína, mas era composto de 40 kg.m⁻³ de lactose (em média 80%, base seca) e 10 kg.m⁻³ de sais minerais (em média 20%, base seca), condutividade elétrica máxima de 6 mS.cm⁻¹ e pH em torno de 6.

4.2 Eletrodiálise – Purificação da lactose

Nesta seção são apresentados os principais resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho em relação à desmineralização do permeado do soro de leite obtido por UF/DF. As características iniciais da solução teste (permeado) estão apresentadas na Tabela 4.1.

4.2.1 Desmineralização da solução de permeado de soro de leite para diferentes soluções de eletrodos

O primeiro procedimento realizado nos experimentos de ED foi a determinação da corrente limite para as soluções de eletrodos (cloretos de sódio, potássio e cálcio e sulfato de potássio) utilizadas para desmineralização da solução teste. A curva de densidade de corrente elétrica em função da voltagem aplicada no sistema de ED está apresentada na Figura 4.6.

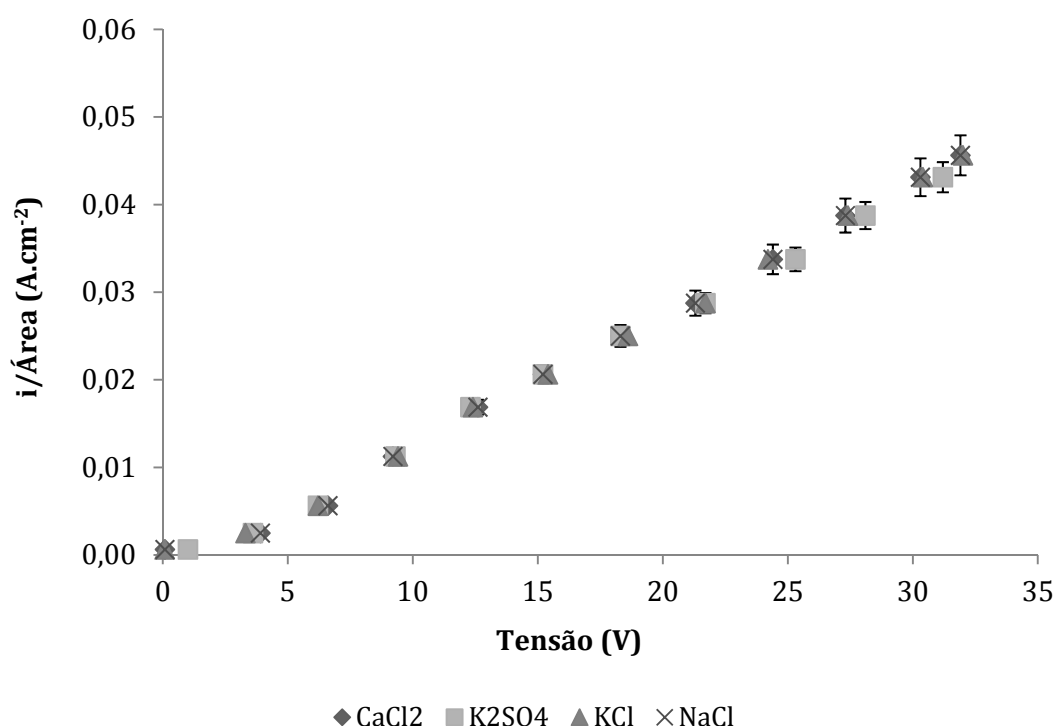


Figura 4.6: Densidade de corrente elétrica (corrente/área) em função da tensão nos testes de ED, para as soluções de eletrodos com condutividade elétrica de 6mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

O procedimento foi realizado para as quatro soluções salinas testadas, todas com condutividade elétrica inicial de 6mS.cm^{-1} , o objetivo foi avaliar se a corrente limite é

atingida, fenômeno que pode diminuir a eficiência do processo e acentuar fenômenos dos processos de separação com membranas.

Como se pode observar todos os sais apresentaram comportamentos semelhantes. Houve um aumento linear da densidade de corrente elétrica com o aumento da tensão. No entanto, as curvas não apresentaram mudança de inclinação, indicando que a corrente limite não foi atingida. Devido a este fator, decidiu-se trabalhar com a maior corrente inicial atingida a 32,2 V que foi em torno de $0,95 \pm 0,05$ A.

A Figura 4.7 mostra os gráficos de condutividade elétrica da solução que está sendo desmineralizada em função do tempo de experimento para as quatro soluções de eletrodos testadas.

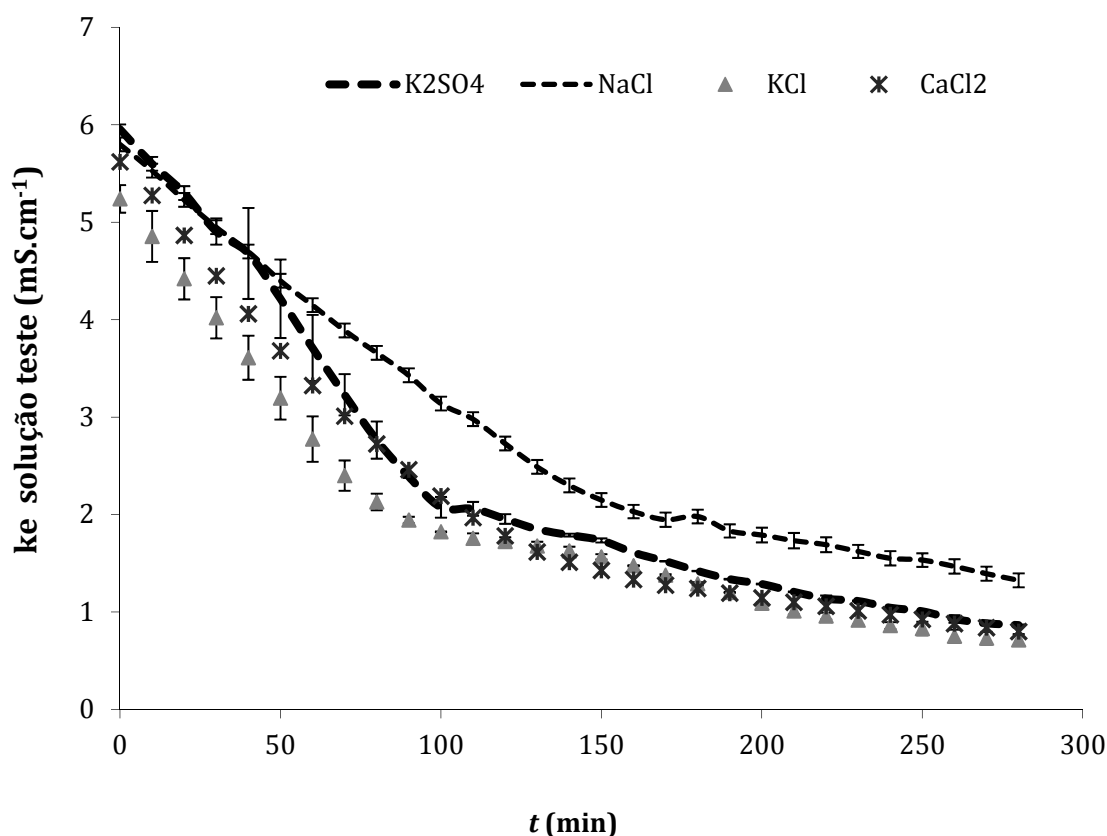


Figura 4.7: Condutividade elétrica da solução teste ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25°C) em função do tempo nos testes de ED variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de $6 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

Através da Figura 4.7 observa-se que, para todas as soluções de eletrodos testadas, a condutividade elétrica da solução que está sendo desmineralizada diminui em função do tempo. As curvas apresentam comportamentos semelhantes, há um decaimento bastante

expressivo nos primeiros 100 minutos de experimento, sendo mais tênue deste momento em diante.

Calculando a porcentagem de desmineralização através da Equação (3.1), chega-se a resultados de remoção de sais, após os 300 minutos de experimento, de cerca de 85% para as soluções de KCl, CaCl₂ e K₂SO₄, e de 77% para a solução de NaCl.

Considerando os primeiros 100 minutos, observa-se que a condutividade elétrica diminui 65% utilizando a solução de KCl; 60% com a solução de CaCl₂; 63% com a de K₂SO₄, e 46% com a solução de NaCl. Com estes resultados observa-se que na primeira terça parte do experimento mais da metade da desmineralização ocorre.

Alguns autores encontraram um comportamento semelhante aos dos experimentos realizados neste trabalho no processo de desmineralização; CASADEMONT *et al.* (2008) mostraram uma redução de condutividade elétrica acentuada e linear até 60 minutos após iniciarem os experimentos, e após este período a condutividade reduziu de forma menos acentuada. Esta redução da taxa de desmineralização ocorre no mesmo momento em que há um aumento da resistência aparente do sistema de ED. A migração de espécies iônicas, como potássio, sódio, cálcio e magnésio, durante o processo de ED foi estudada por CASADEMONT *et al.* (2009), os autores verificaram que a concentração destes cátions diminuiu de modo linear com o tempo de experimento. Além disso, observaram que a migração foi mais rápida para íons monovalentes do que para os íons divalentes, o que também foi apresentado por KABAY *et al.* (2003), isto se deve provavelmente devido a maior mobilidade dos íons monovalentes. Especula-se que o aumento de resistência aparente do sistema de ED pode ser explicado pela ocorrência de *fouling*, *scaling*, polarização por concentração, e diminuição destes cátions em solução.

Na Figura 4.8 observa-se o gráfico de teor de sais em função da condutividade elétrica. O teor de sais é uma função linear da condutividade elétrica. Desta forma, a partir da equação gerada pelos dados experimentais, pode-se calcular o teor de sais que está sendo removida da solução teste.

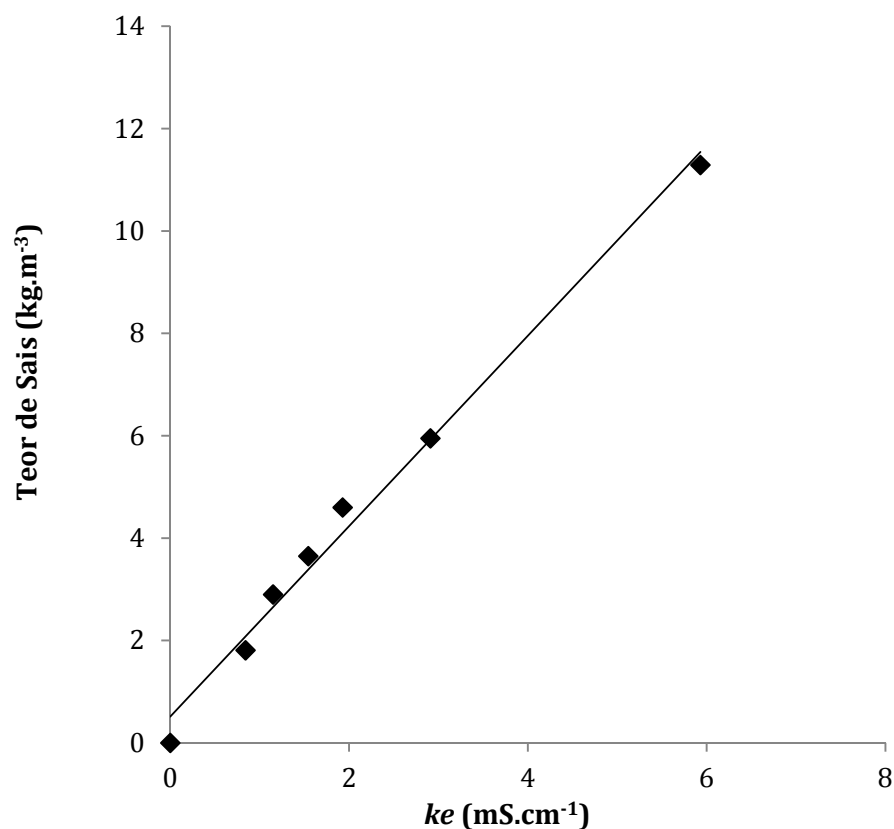


Figura 4.8: Gráfico de teor de sais da solução teste (kg.m^{-3}) em função da condutividade elétrica (mS.cm^{-1}); utilizado como padrão para cálculo do teor de sais do permeado – $R^2 = 0,9901$

Na Figura 4.9 observa-se o gráfico de remoção de sais em função do tempo, calculado a partir da Equação 4.1.

$$C_s = 1,86 \times k_e + 0,5137 \quad (4.1)$$

onde: C_s é o teor de sais em kg.m^{-3} e k_e é a condutividade elétrica em mS.cm^{-1} a 25°C .

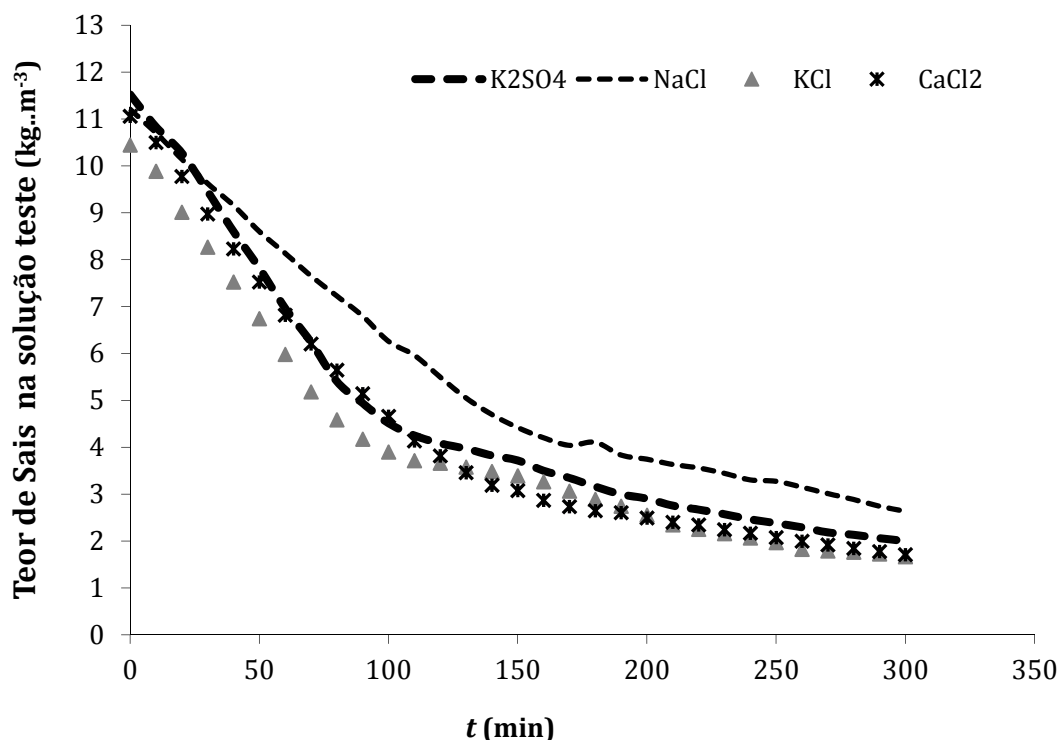


Figura 4.9: Teor de sais da solução teste em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

O comportamento da curva de remoção de sais é semelhante ao da diminuição da condutividade elétrica. O que comprova que a remoção de sais pode ser calculada a partir da condutividade elétrica da solução. Por este motivo, a partir deste momento adotaram-se para cálculo de desmineralização as medidas de condutividade elétrica.

A concentração de lactose ao longo dos experimentos de ED (na solução que estava sendo desmineralizada) foi monitorada no tempo inicial e após o término dos experimentos e se manteve constante, em média 40 kg.m^{-3} . Não há migração da lactose através das membranas de ED, pois além desta ser uma molécula neutra, aparentemente não houve interação com o material das membranas. Portanto, o que promove a purificação da lactose é o deslocamento dos sais da solução teste, em direção à solução de eletrodos. A purificação de lactose nestes experimentos ficou entre 93 e 97%. Para um melhor aproveitamento deste nutriente o ideal seria a concentração e a secagem desta solução, para diminuir a umidade e aumentar o tempo de vida útil do produto.

Na Figura 4.10 apresentam-se fotografias das soluções de eletrodos utilizadas para os experimentos de ED.

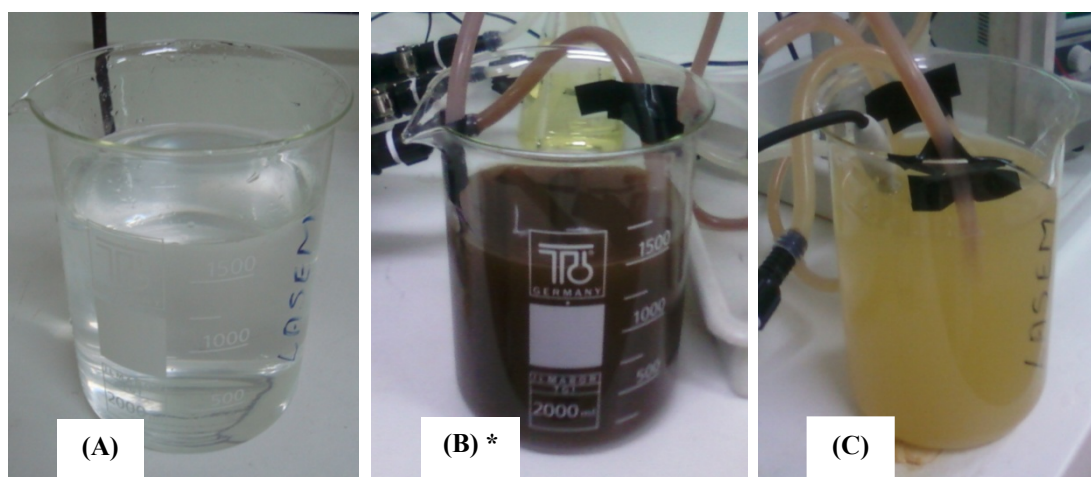


Figura 4.10: Fotografias das solução de eletrodos dos experimentos de ED: (A) Solução de eletrodos inicial; (B) solução de eletrodos dos sais contendo cloreto (no caso da fotografia) ao final do experimento e (C) solução de eletrodos de sulfato de potássio ao final do experimento. (*Na Figura 4.10 optou-se por mostrar a solução feita com NaCl, pois as soluções contendo CaCl_2 e KCl tinham a aparência bastante semelhante).

Na Figura 4.10 (A) mostra-se o aspecto da solução antes dos experimentos. Para todos os sais a solução inicial não apresentava coloração nem turbidez, e todos os sólidos estavam completamente dissolvidos.

As soluções de KCl e CaCl_2 ao final do experimento apresentavam-se com coloração amarronzada, turva e muitas vezes com depósitos de sais no fundo do béquer (representada pela Figura 4.10 (B)). Enquanto as soluções de sulfato de potássio apresentavam-se em tons amarelados e sem sinais de decantação (Figura 4.10 (C)). Na Tabela 4.2 apresentam-se as medidas de turbidez para cada uma das soluções de eletrodos ao final do experimento.

Tabela 4.2: Medidas de turbidez média das soluções de eletrodos.

Solução	Turbidez (NTU)
	$\pm 2,5\%$
KCl	360
CaCl_2	655
NaCl	435
K_2SO_4	175

Como é possível observar na Tabela 4.2, as soluções de eletrodos que continham cloretos apresentaram turbidez superior a da solução de sulfato de potássio (de 2 a 4 vezes maior), corroborando o que já podia ser observado visualmente na Figura 4.10.

Na Figura 4.11 são apresentadas fotografias dos eletrodos ao final de experimentos com algumas soluções de cloretos.

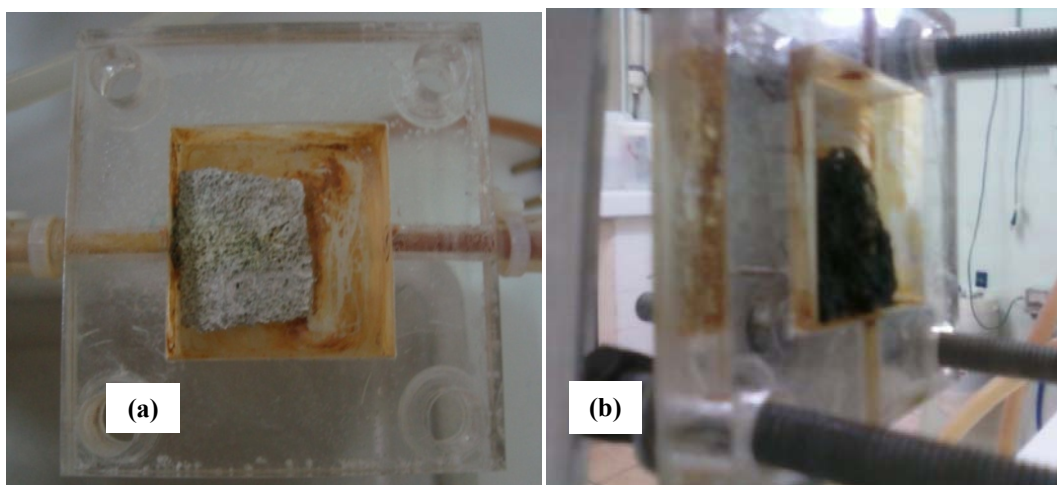


Figura 4.11: Fotografias do aspecto dos eletrodos ao final do experimento. (a) Corrosão do eletrodo de aço inoxidável (cátodo) provocada pelas reações com a solução salina de NaCl. (b) Incrustações formadas no eletrodo de aço inoxidável (cátodo), também presentes no ânodo, mas com menor intensidade.

Com as soluções de cloretos, os eletrodos e as membranas ficavam com camadas de precipitado em suas superfícies o que dificultava a limpeza ao final do experimento (Figura 4.11 (b)). A solução de NaCl, apesar de ser composta pelo sal com menor valor no mercado (como foi apresentado na Tabela 3.1), além de apresentar os fenômenos citados anteriormente, ainda causou a corrosão no eletrodo de aço inoxidável, que pode ser visualizado na Figura 4.11 (a). Este eletrodo teve que ser substituído, devido à impossibilidade de sua utilização para testes posteriores.

Nos eletrodos podem ocorrer reações durante o experimento de ED. Segundo STRATHMANN (2001) na presença de íons metálicos dissolvidos pode ocorrer a eletrodisposição destes sobre o cátodo, o que pode explicar as incrustações observadas na Figura 4.11 (b).

Na Figura 4.12 pode-se observar a condutividade elétrica das soluções de eletrodos durante os experimentos.

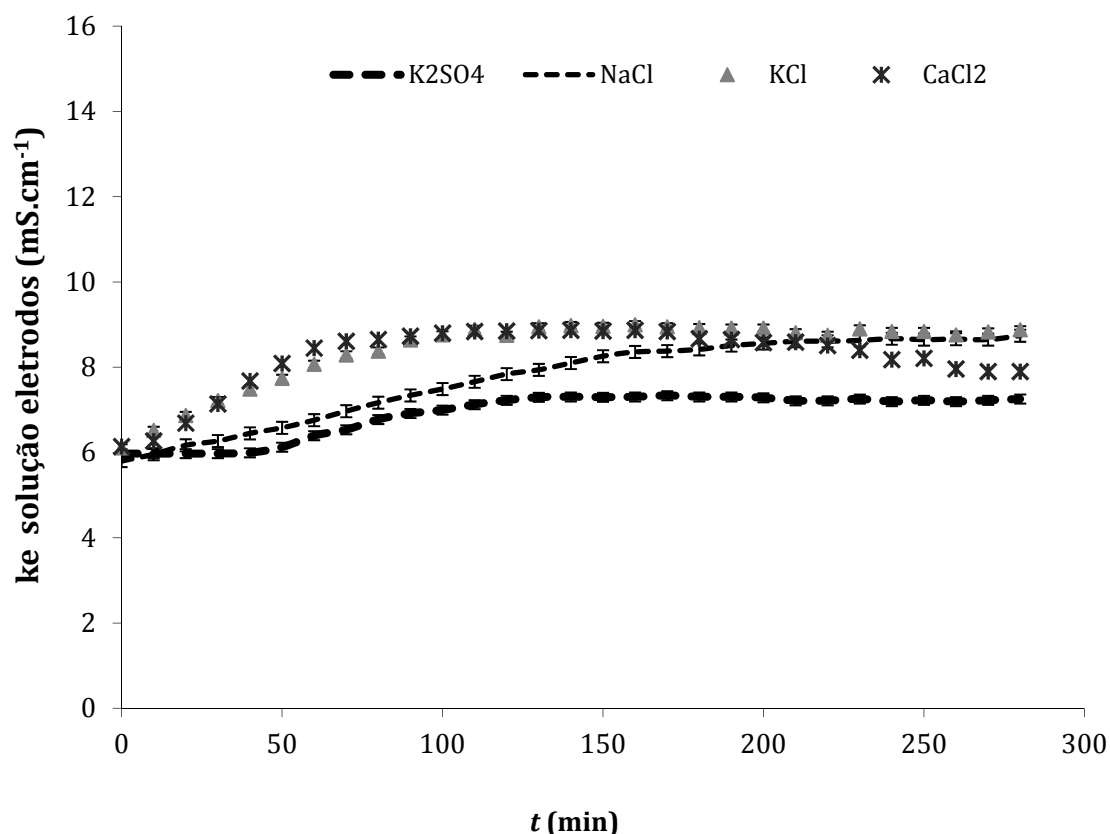


Figura 4.12: Condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo nos testes de ED para diferentes soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} . Soluções utilizadas: CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl . Desvio padrão $\pm 12\%$.

Todas as soluções iniciam com condutividade elétrica de 6 mS.cm^{-1} . Ao final do experimento, devido à migração de espécies com carga em direção aos compartimentos onde circula a solução de eletrodos pode ocorrer um aumento da condutividade elétrica das soluções salinas.

Na Figura 4.12 observa-se pouca variação de condutividade elétrica nas soluções de eletrodos. As soluções de K_2SO_4 e CaCl_2 apresentaram condutividades entre 6 e 7 mS.cm^{-1} . Enquanto que as soluções de NaCl e KCl , chegaram a condutividades próximas aos 9 mS.cm^{-1} .

Os pH das soluções teste e de eletrodos apresentaram variações ao longo dos experimentos de ED, conforme mostram as Figura 4.13 e Figura 4.14, respectivamente.

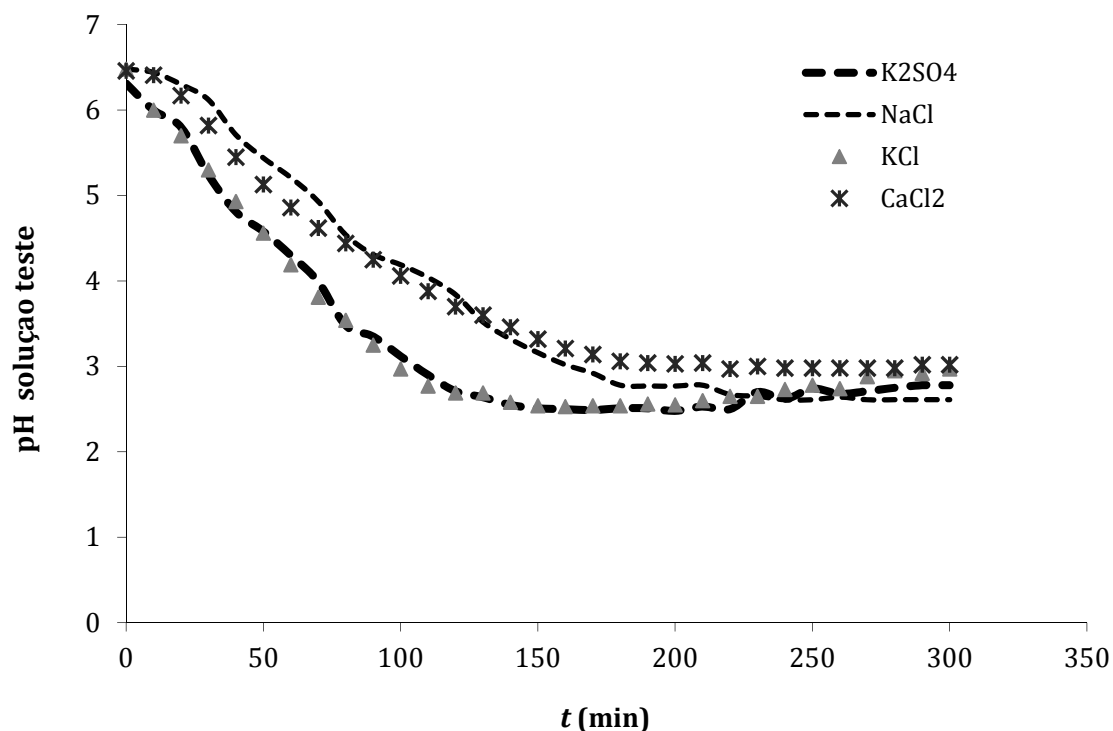


Figura 4.13: pH da solução teste em função do tempo nos experimentos de ED variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} . Soluções utilizadas: CaCl₂, K₂SO₄, KCl, NaCl. Desvio padrão médio $\pm 4,6\%$.

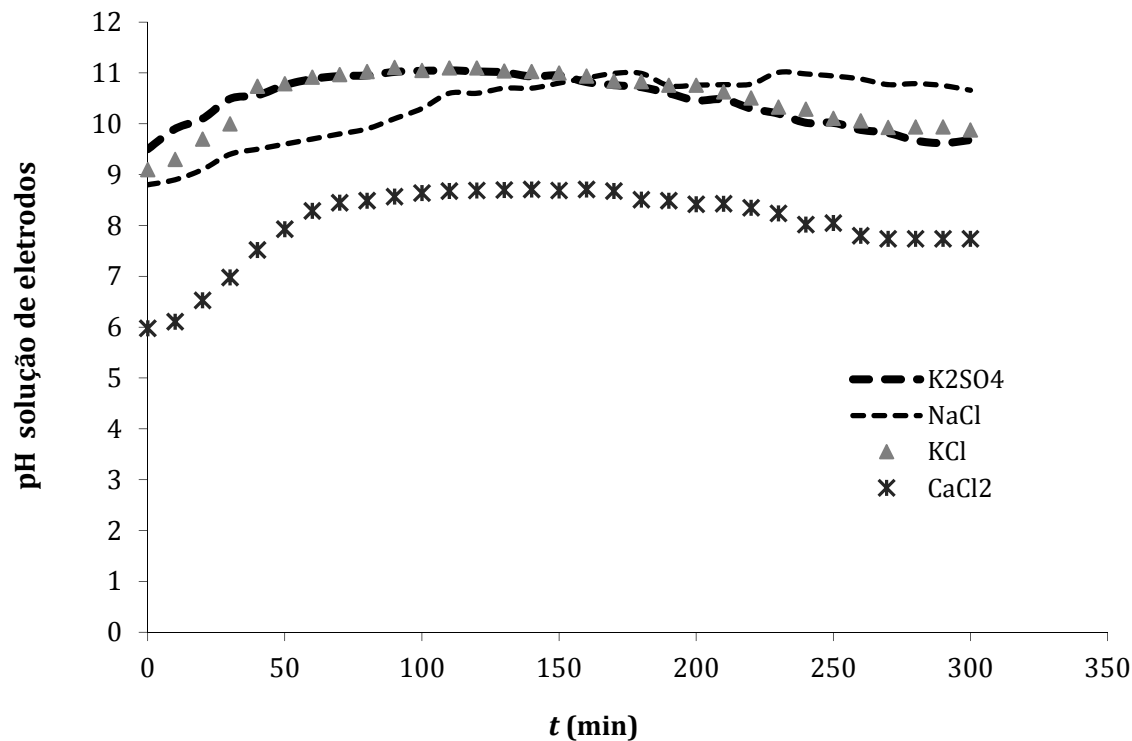


Figura 4.14: pH da solução de eletrodos em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} . Soluções utilizadas: CaCl₂, K₂SO₄, KCl, NaCl. Desvio padrão médio $\pm 3,5\%$.

O pH da solução teste sofreu uma variação acentuada durante a ED. Todas as soluções iniciais estavam com o pH em torno de 6 e ao final dos 300 minutos o pH diminuiu ficando em uma faixa de elevada acidez (em torno do pH 3).

O pH entre o início e o final dos experimentos pode variar de acordo com o pH do compartimento do concentrado (solução de eletrodos) e com o modo de operação da eletrodiálise. O pH das soluções de eletrodos para KCl, K₂SO₄ e NaCl variou entre 9 e 11. Para a solução de CaCl₂, esta variação de pH foi entre 6 e 8.

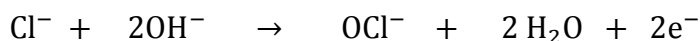
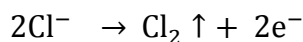
A redução do pH da solução que está sendo tratada, em geral, pode ser explicada pelo deslocamento de grupos H⁺ em direção a este compartimento. Segundo CASADEMONT *et al.* (2009) a difusão de OH⁻ e H⁺ através das membranas de ED, poderia ser o motivo das mudanças de pH durante o período de experimento. Estes grupos poderiam ser provenientes da dissociação da água ou até mesmo em meios muito agressivos (acidez ou alcalinidade excessiva) da perda destes grupos pelas membranas.

No cátodo a reação mais comum é a formação de H₂ em meio ácido ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 \uparrow$) e a formação de íons OH⁻ em meio alcalino (caso do experimento) ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 \uparrow + 2\text{OH}^-$).

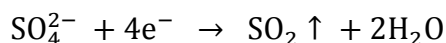
No ânodo normalmente ocorre a reação de formação de O₂. Se o meio for ácido a seguinte reação é observada: $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 \uparrow + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$

E se o meio for alcalino: $4\text{OH}^- \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^-$

Se o meio contiver íons cloreto dissolvidos podem ocorrer as seguintes reações:



Se o meio contiver íons sulfato dissolvidos pode ocorrer a seguinte reação:



As reações que ocorrem sobre os eletrodos tendem a acidificar ou alcalinizar as soluções, pela formação de H⁺ ou OH⁻, dependendo do meio. A alcalinização da solução do cátodo pode levar à precipitação indesejada de sais ou hidróxidos como CaCO₃ ou

$\text{Mg}(\text{OH})_2$, se estas substâncias estiverem presentes. Segundo APLEGATE (1984) para minimizar o efeito de alcalinização ou acidificação das soluções de enxágue utiliza-se a mesma solução nos dois eletrodos, a qual é continuamente misturada e recirculada em circuito fechado. No entanto, esta configuração não impediu a mudança de pH das soluções.

Na Figura 4.15, fotografias do aspecto das membranas após os experimentos estão apresentadas evidenciando os fenômenos ocorridos durante os experimentos de ED. Em todos os casos os depósitos são mais expressivos na membrana aniônica (verde). CASADEMONT *et al.* (2009) também observaram em seus trabalhos que o *fouling* nas membranas catiônicas era inferior ao das aniônicas e em alguns casos, apenas através de microscopia eletrônica de varredura o *fouling* nas membranas catiônicas ficava evidenciado. Segundo os autores o *scaling* nas membranas pode ser composto de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e possivelmente de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e CaCO_3 . A presença de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ poderia ser explicada pelo fato do fósforo estar presente naturalmente em soluções de soro.

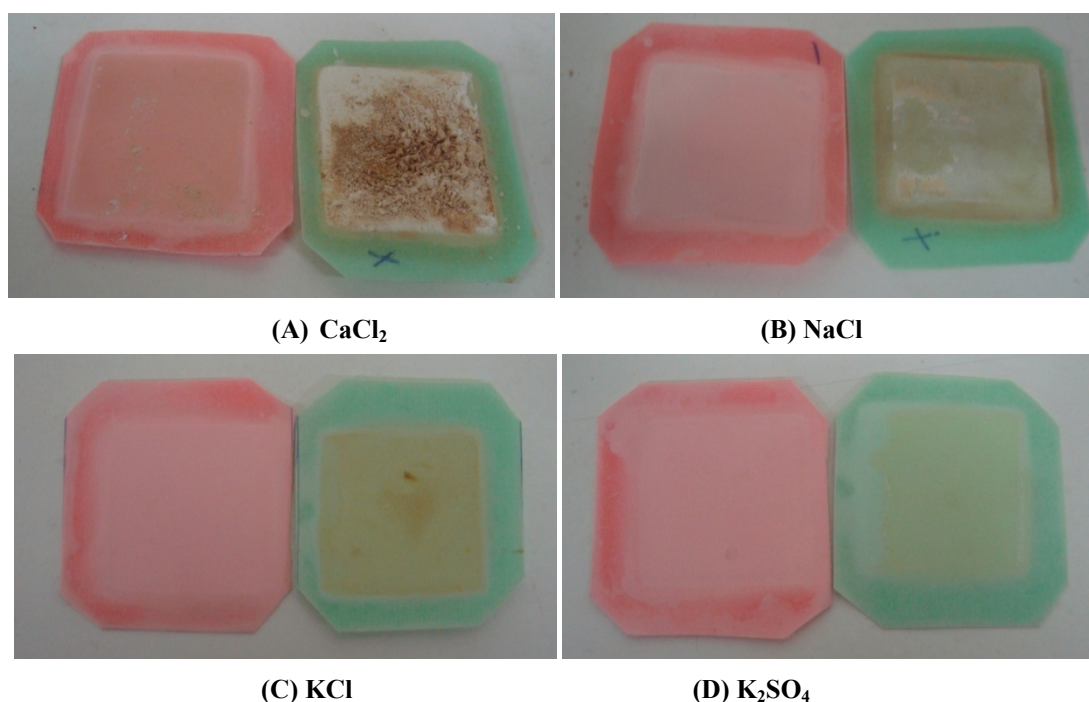
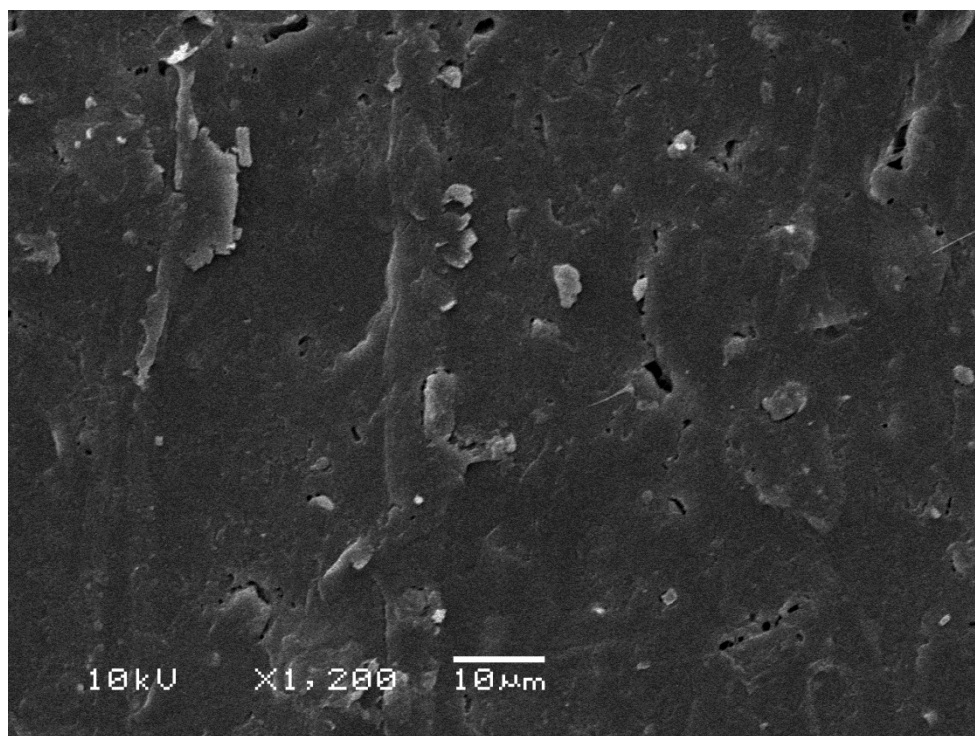


Figura 4.15: Fotografias do aspecto das membranas de ED após os experimentos com diferentes soluções de eletrodos: (A) CaCl_2 , (B) NaCl , (C) KCl e (D) K_2SO_4 .

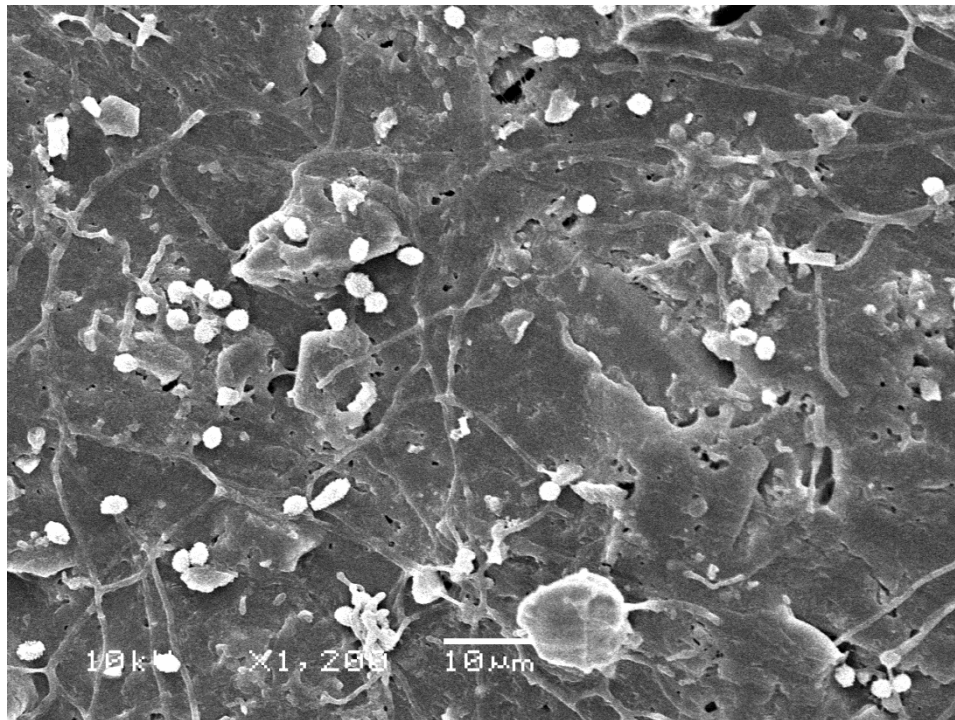
Observa-se na Figura 4.15 (A) que a solução de CaCl_2 provocou *fouling* nas membranas aniônica e catiônica, visível e superior aos outros casos. A membrana por onde circulou NaCl (Figura 4.15 (B)), também apresenta *fouling* visível. As membranas

por onde circulavam soluções de KCl (Figura 4.15 (C)) e de K_2SO_4 (Figura 4.15 (D)), provavelmente, apresentaram *fouling*, e, neste caso, é interessante verificar se o fenômeno ocorreu, através de alguma técnica de microscopia, por exemplo. Análises por microscopia eletrônica de varredura foram realizadas, pois as membranas envolvidas neste processo não apresentaram depósitos tão evidentes.

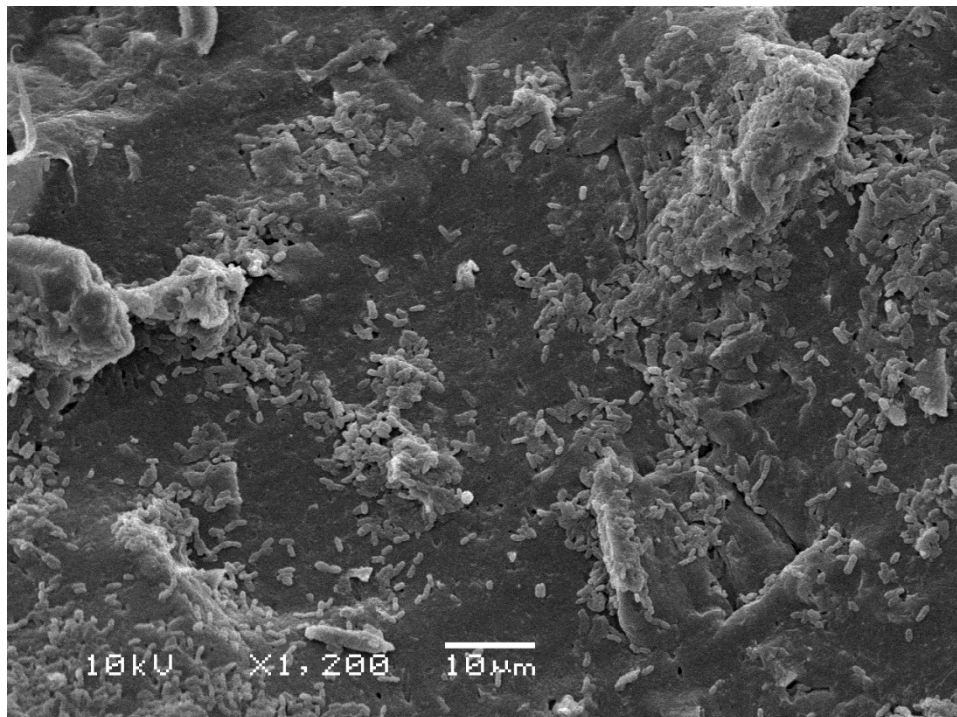
A Figura 4.16 apresenta as micrografias (MEV) das membranas catiônicas de ED, todas com um aumento de 1200 vezes. Para efeito comparativo, e melhor visualização da precipitação dos sais sobre as membranas é apresentada a vista superior: na Figura 4.16 (1) observa-se a membrana nova antes do experimento de ED, enquanto a Figura 4.16 (2) apresenta a membrana após o tratamento da solução com $CaCl_2$, a Figura 4.16 (3) a membrana após o tratamento da solução com NaCl, a Figura 4.16 (4) a membrana após o tratamento da solução com KCl e a Figura 4.16 (5) a membrana após o tratamento da solução com K_2SO_4 .



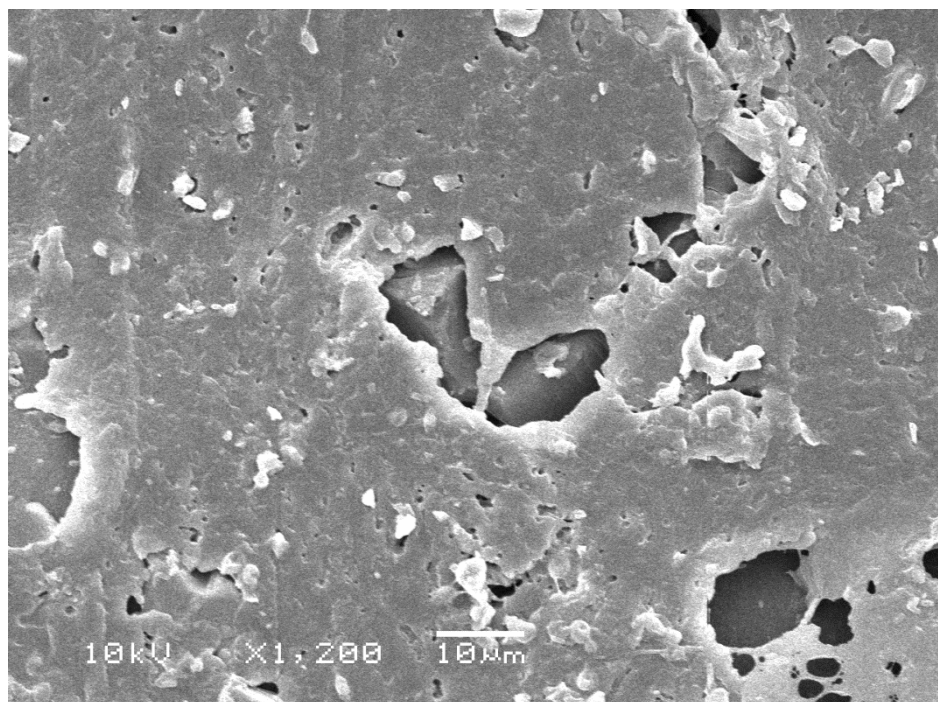
- (1) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana catiônica nova antes dos experimentos de ED, obtida a 10 kV com magnitude de 1200x.



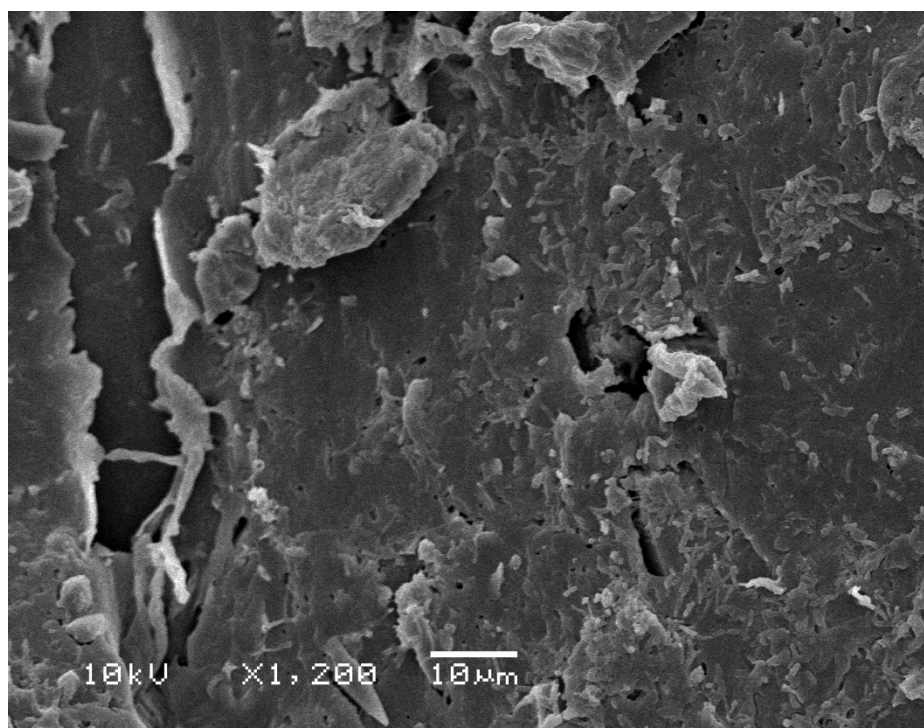
- (2) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana catiônica após o experimento de ED com a solução de CaCl_2 , obtida a 10 kV com magnitude de 1200x.



- (3) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana catiônica após o experimento de ED com a solução de NaCl , obtida a 10 kV com magnitude de 1200x.



- (4) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana catiônica após o experimento de ED com a solução de KCl, obtida a 10 kV com magnitude de 1200x.



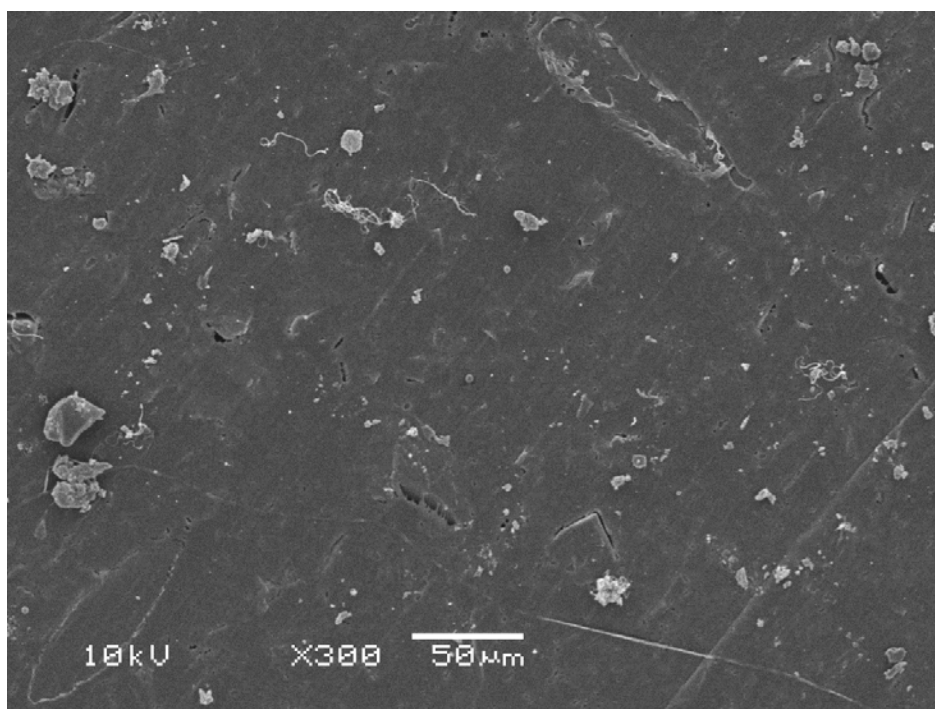
- (5) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana catiônica após o experimento de ED com a solução de K₂SO₄, obtida a 10 kV com magnitude de 1200x.

Figura 4.16: Micrografia (MEV) das membranas catiônicas de ED obtidas a 10 kV com magnitude de 1200x. Vista superior: (1) membrana antes do experimento (2) CaCl₂, (3) NaCl, (4) KCl e (5) K₂SO₄.

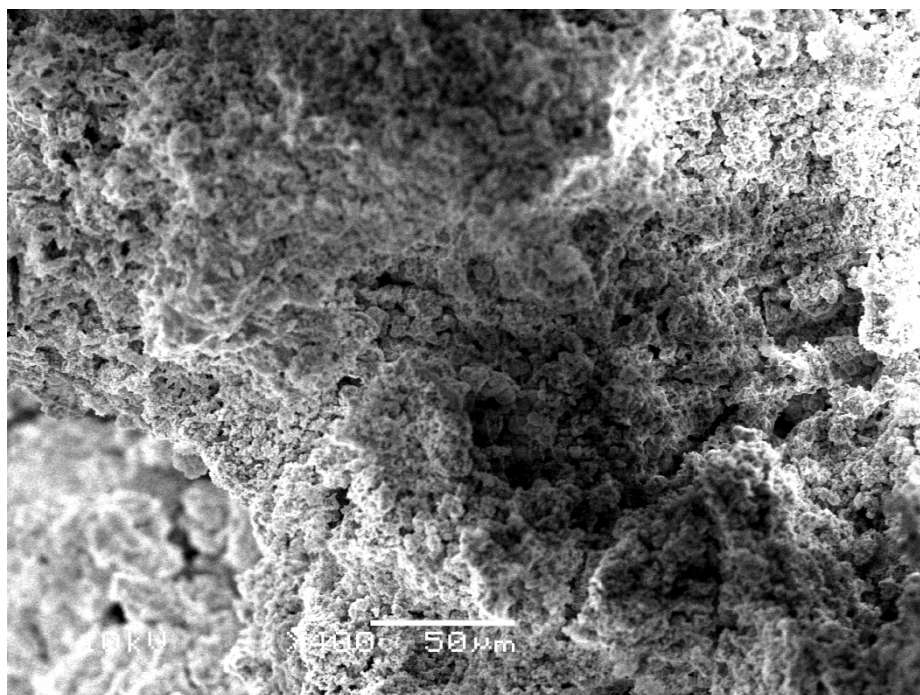
Observando as micrografias da Figura 4.16 verifica-se que a membrana catiônica virgem (1) não possui a estrutura homogênea e uniforme, mas não tem depósitos de

qualquer espécie. Enquanto as membranas que tiveram contato com as soluções eletrolíticas apresentaram algum tipo de incrustação. A membrana por onde circulou CaCl_2 (Figura 4.16 (2)) apresentou os maiores depósitos com formato arredondado. As membranas por onde circularam soluções de NaCl e K_2SO_4 (Figura 4.16 (3) e (5)) apresentaram *fouling* semelhante e que se parecem com substâncias filamentosas. A membrana por onde circulou KCl (Figura 4.16 (4)) parece ter menos incrustações que as outras, no entanto, possui moléculas aderidas a sua superfície das mesmas dimensões observadas na membrana por onde circulou CaCl_2 .

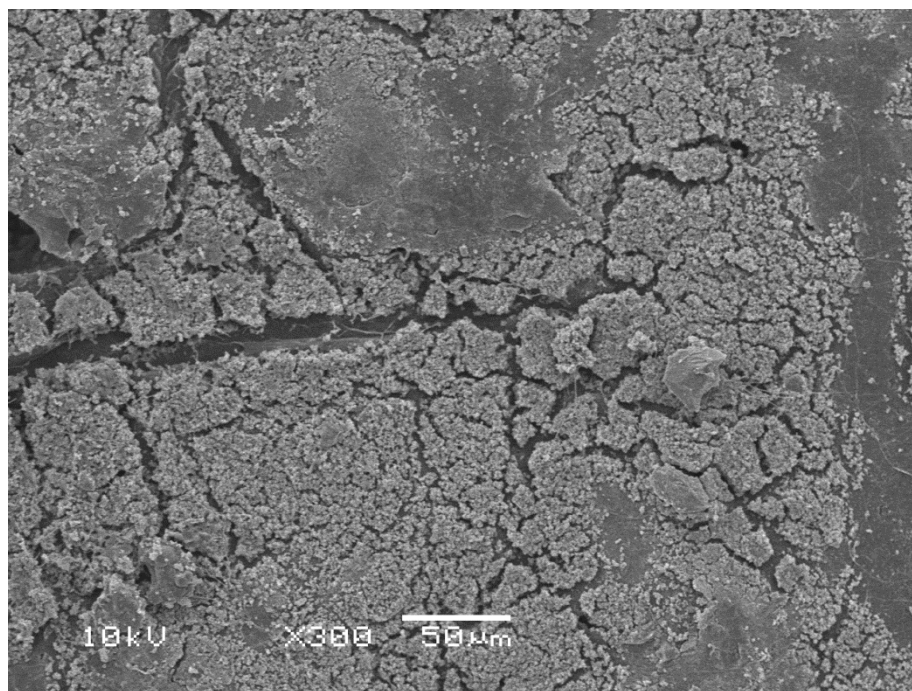
A Figura 4.17 apresenta as micrografias (MEV) da vista superior das membranas aniônicas de ED. Na Figura 4.17 (1), observa-se a membrana antes do experimento de ED, enquanto a Figura 4.17 (2) apresenta a membrana após o tratamento da solução com CaCl_2 , a Figura 4.17 (3) após o tratamento da solução com NaCl , a Figura 4.17 (4) após o tratamento da solução com KCl e Figura 4.17 (5) após o tratamento da solução com K_2SO_4 . O aumento da microscopia não pôde ser superior a 300 vezes no caso das membranas aniônicas porque o *fouling* era demasiadamente superior ao das catiônicas. Para observar o grau do *fouling* foi necessário diminuir a magnitude da ampliação da imagem.



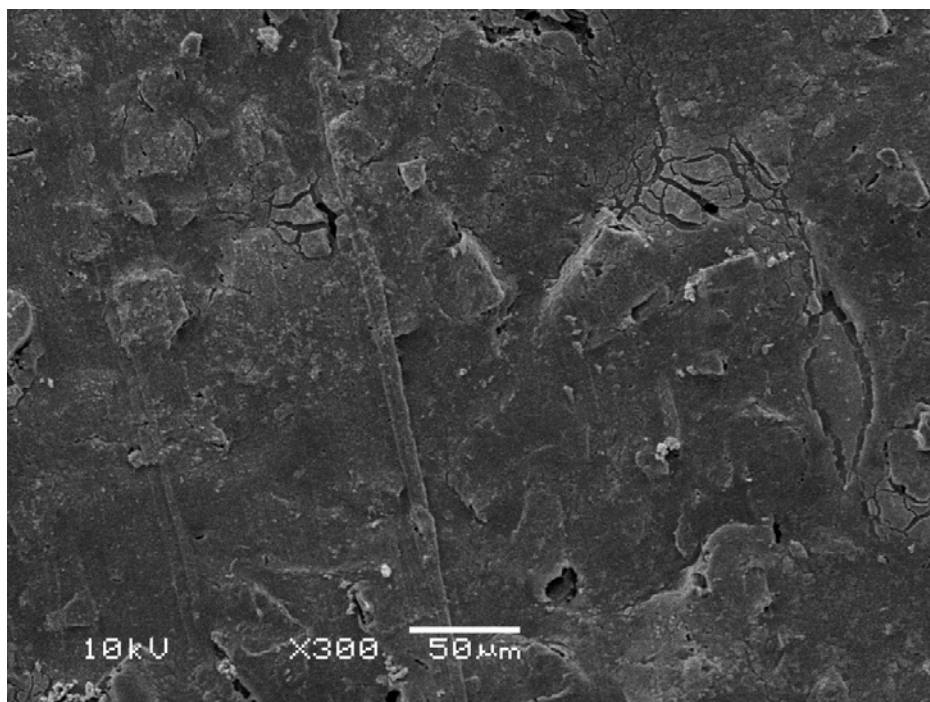
(1) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana aniônica nova antes dos experimentos de ED, obtida a 10 kV com magnitude de 300x.



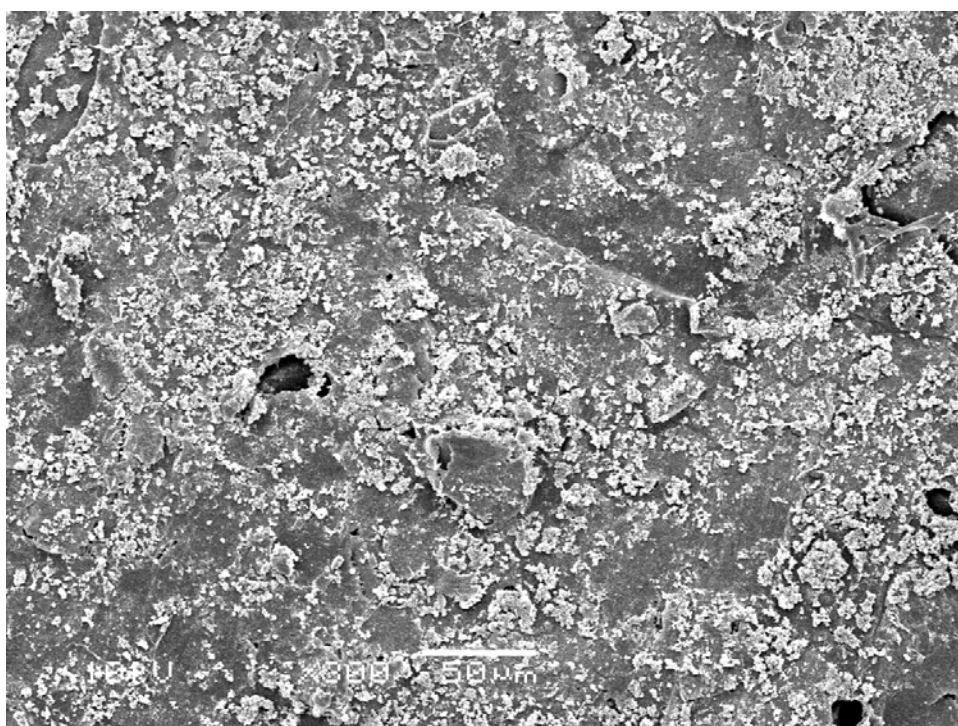
- (2) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana aniônica após o experimento de ED com a solução de CaCl_2 , obtida a 10 kV com magnitude de 300x.



- (3) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana aniônica após o experimento de ED com a solução de NaCl , obtida a 10 kV com magnitude de 300x.



- (4) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana aniônica após o experimento de ED com a solução de KCl, obtida a 10 kV com magnitude de 300x.



- (5) Micrografia (MEV) da vista superior da membrana aniônica após o experimento de ED com a solução de K₂SO₄, obtida a 10 kV com magnitude de 300x.

Figura 4.17: Micrografias (MEV) das membranas aniônicas de ED obtidas a 10 kV com magnitude de 300x. Vista superior: (1) membrana antes do experimento (2) CaCl₂, (3) NaCl, (4) KCl e (5) K₂SO₄.

As micrografias corroboram o que foi observado nas fotografias da Figura 4.15. Além da precipitação visível de substâncias nas membranas aniônicas (especialmente na

membrana em que foi utilizada a solução de CaCl_2) ainda ocorreram precipitações a nível microscópico que podem ser observadas tanto nas membranas catiônicas quanto nas aniônicas. A membrana aniônica que aparentemente teve a menor quantidade de substâncias aderidas a sua superfície pareceu ser a de KCl (Figura 4.17 (4)). As membranas por onde passaram as soluções eletrolíticas de NaCl e K_2SO_4 apresentaram *fouling* como foi apresentado nas Figura 4.17 (3) e (5).

Para entender a formação e a composição do *fouling* formado nas membranas, buscaram-se na bibliografia diversos trabalhos com resultados semelhantes aos apresentados anteriormente. Diferentes trabalhos foram realizados com soluções salinas padrão a fim de compreender os mecanismos do *scaling* e para impedir a sua formação durante processos com eletromembranas. BAZINET e ARAYA-FARIAS (2005), por exemplo, realizaram experimentos com soluções padrão compostas de cálcio e carbonato, elementos naturalmente presentes no soro e no leite bovino, em concentrações elevadas, e que são capazes de gerar CaCO_3 ; observaram a formação de Ca(OH)_2 . A presença de magnésio em solução pode provocar a formação de carbonato de cálcio e ainda, o pH do concentrado pode influenciar a presença ou não de depósitos minerais na membrana de troca iônica (CASADEMONT *et al.*, 2008). AYALA-BRIBIESCA *et al.* (2007) acreditam que em condições ácidas, uma camada gel de proteínas pode ser formada sobre a membrana aniônica, devido ao ponto isoelétrico das proteínas.

O cálcio em contato com o fosfato pode precipitar em condições alcalinas (como era o caso da solução de eletrodos) na membrana aniônica, formando uma forte incrustação. Em muitos experimentos foram observadas incrustações na membrana aniônica, em especial, com a solução de cloreto de cálcio (Figura 4.15 (a)).

Para evitar o *fouling* de minerais e proteínas durante a ED, AYALA-BRIBIESCA *et al.* (2006) sugeriram a separação da solução de eletrodos em circuitos diferentes: um para a solução em contato com o cátodo, outra em contato com anodo e outra para a solução de alimentação, mas esta configuração não chegou a ser testada neste trabalho. Segundo os autores, esta modificação na configuração da célula impediria: o contato de íons divalentes com a membrana aniônica e, conseqüentemente, a sua precipitação; o *scaling* que pode ser formado na membrana catiônica, por manter o pH neutro ou ácido no compartimento do cátodo; e o *fouling* de proteínas na membrana aniônica, por manter o

pH básico no ânodo. Esta configuração de célula de ED é interessante e poderia ser testada para avaliar se ocorre a diminuição do *fouling* e consequentemente aumentar a eficiência do processo.

Na Figura 4.18 está apresentado o comportamento da resistência aparente do sistema durante o experimento de ED. A resistência elétrica do sistema variou de acordo com o campo elétrico aplicado e também com o pH da solução de eletrodos. A resistência elétrica inicialmente, não sofre grandes variações, mas ao final da ED, há um aumento bastante expressivo da resistência elétrica do sistema.

A R_{ap} de um *stack* é calculada considerando-se a diferença de potencial total observada entre os eletrodos. As resistências de soluções dependem do tipo, concentração e temperatura do eletrólito e “espessura” do compartimento da solução. A resistência das soluções diluídas, concentradas e das membranas aumenta se for verificada a presença de moléculas orgânicas com elevada massa molar que causem um impedimento no fluxo da corrente.

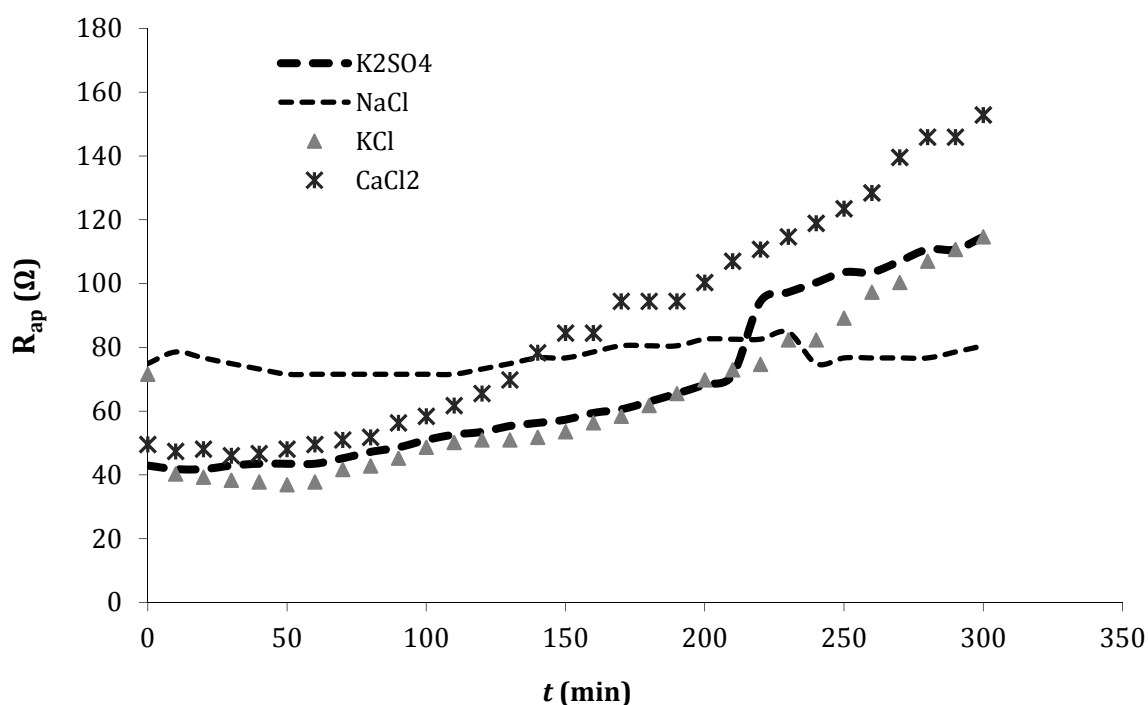


Figura 4.18: Resistência aparente em função do tempo nos testes de ED, variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} . Soluções utilizadas: CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl . Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

O valor inicial de resistência do sistema é intrínseco, ou seja, devido à resistência das próprias membranas, à posição das membranas dentro da célula de ED (espaçamentos entre membranas/membranas e membranas/eletrodos) e à resistência das soluções utilizadas na ED. Enquanto no final do experimento, a resistência está associada à razão de desmineralização. Estes resultados estão de acordo com CASADEMONT *et al.* (2008; 2009), AYALA-BRIBIESCA *et al.* (2006) e BAZINET e ARAYA-FARIAS (2005).

A desmineralização aumenta a resistência global do sistema. Os resultados de resistência final do sistema estão em conformidade com os apresentados para a evolução da condutividade elétrica, pois quanto maior a desmineralização, menos espécies livres com carga, por isso, menor a corrente elétrica e, portanto, a resistência elétrica do sistema se torna maior. O sistema de resistência também pode ser influenciado pelo *fouling* segundo CASADEMONT *et al.* (2009) e BAZINET e ARAYA-FARIAS (2008). Mas segundo estes autores, a resistência mais significativa é em função da taxa de desmineralização. CASADEMONT *et al.* (2008) encontraram em seus estudos que quanto maior a concentração inicial da solução teste maior o grau de *fouling*, e concluíram que isso ocasionava um aumento da resistência do sistema.

A partir destes resultados, considerou-se a solução de eletrodos de K_2SO_4 a melhor opção para continuar os testes de desmineralização. Isto porque apresentou desempenho de remoção de sais comparável ao das soluções com melhor eficiência neste quesito, também, foi aquela que apresentou as melhores perspectivas para ser tratada posteriormente por osmose inversa; e, comparada às outras soluções, apresentou um menor grau de turbidez na solução de eletrodos e resistência aparente do sistema intermediária ao final dos experimentos. Nas próximas duas seções serão mostrados os resultados dos experimentos para melhorar o desempenho do processo de ED utilizando K_2SO_4 como solução de eletrodo.

4.2.2 Desmineralização do permeado do soro de leite com soluções de eletrodos de Sulfato de Potássio

Nesta etapa do trabalho foram estudadas quais são as implicações da variação da condutividade elétrica inicial da solução eletrolítica na eficiência da ED, utilizando soluções de sulfato de potássio, a condutividade elétrica foi variada de 3 a 18 $mS.cm^{-1}$.

Na Figura 4.19 está apresentada a curva de densidade de corrente em função da voltagem aplicada para as soluções de K_2SO_4 , para quatro condutividades elétricas iniciais distintas: 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$. Esses testes foram realizados para avaliar se a corrente limite havia sido atingida.

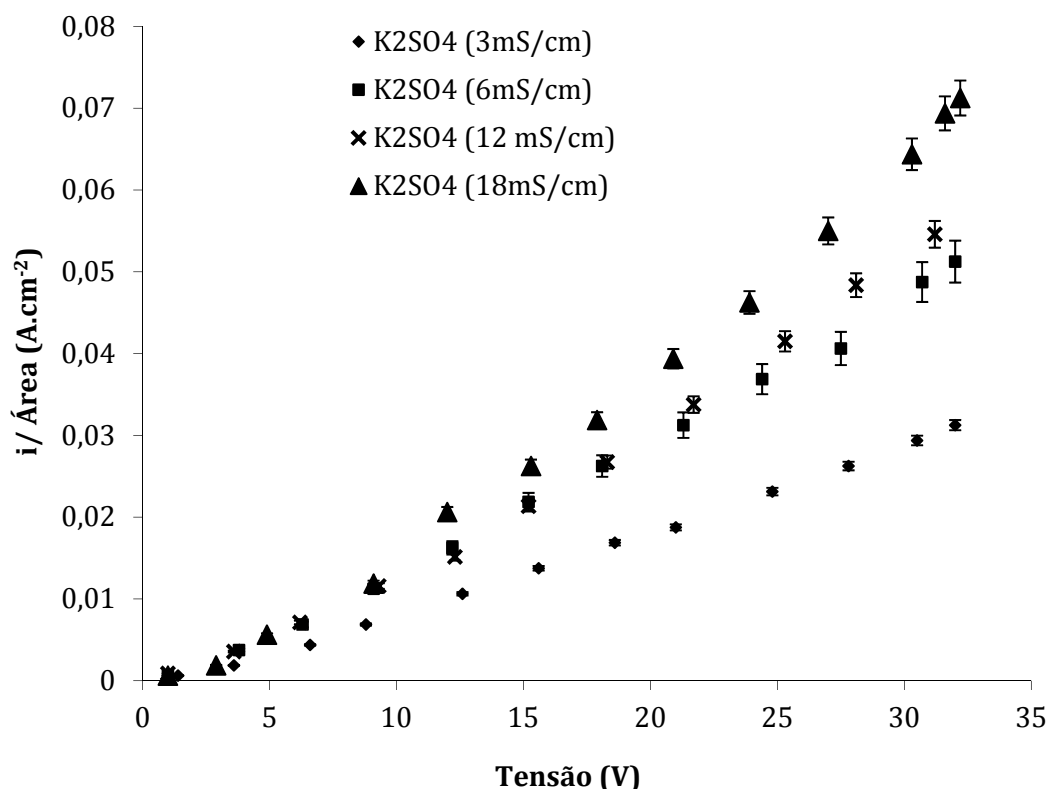


Figura 4.19: Densidade de corrente elétrica (corrente/área) em função da tensão, nos testes de ED, para soluções de eletrodos de sulfato de potássio com diferentes condutividades elétricas inicial: 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$. Desvio padrão médio: 5%.

Como pode ser observado na Figura 4.19 nenhuma das soluções testadas atingiu a condição de corrente limite para o sistema de ED utilizado, o que também foi encontrado anteriormente (Figura 4.6) nos estudos com a variação dos sais da solução eletrolítica. Devido a isto, decidiu-se trabalhar com a maior corrente inicial atingida a 32,2 V que variou de 0,5 A, para a solução com menor condutividade elétrica, até 1,2 A para a solução com maior condutividade elétrica.

Na Figura 4.20 estão apresentadas as curvas de variação de condutividade elétrica em função do tempo de experimento, para as soluções de sulfato de potássio, com

diferentes condutividades elétricas iniciais. Na Tabela 4.3, podem ser observados, o percentual de desmineralização aos 60, 100, 200 e 300 minutos de experimentos.

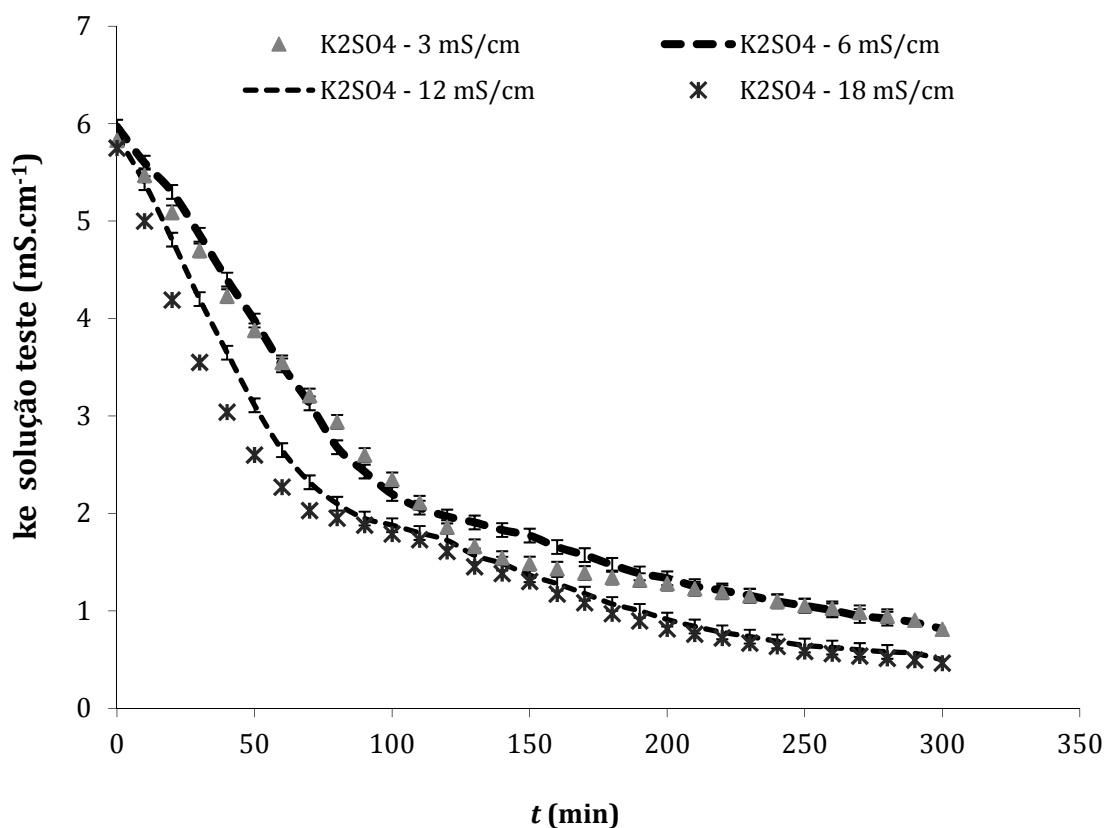


Figura 4.20: Condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo, nos testes de ED para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} . Desvio padrão médio $\pm 7\%$.

Tabela 4.3: Porcentagem de desmineralização em tempos diferentes do experimento de ED, para as diferentes condutividades elétricas iniciais da solução de K_2SO_4 .

	Desmineralização (%)			
t (min)	K_2SO_4 (3 mS.cm^{-1})	K_2SO_4 (6 mS.cm^{-1})	K_2SO_4 (12 mS.cm^{-1})	K_2SO_4 (18 mS.cm^{-1})
60	39	41	55	61
100	64	66	70	70
200	78	78	85	86
300	83	85	90	92

Pode-se observar na Figura 4.20 que as soluções de K_2SO_4 que apresentaram os melhores resultados na diminuição da condutividade elétrica da solução de permeado foram as com condutividade elétrica de 12 e 18 mS.cm^{-1} , com remoção de sais de cerca de 90%. As soluções com 3 e 6 mS.cm^{-1} também apresentaram resultados satisfatórios,

mas com desempenho inferior, ambas com remoção em torno de 85% de sais. As soluções de K_2SO_4 com condutividades de 12 e 18 $mS.cm^{-1}$ levaram 100 minutos a menos que as soluções de 3 e 6 $mS.cm^{-1}$ para atingir a mesma taxa de desmineralização (~85%).

Aos 100 min de experimento, as soluções apresentaram desmineralizações que variaram entre 65 e 70%. Aos 200 minutos as desmineralizações estavam entre 78 e 86%. Assim como, no caso de soluções de eletrodos diferentes, a maior razão de desmineralização ocorre nos primeiros momentos do experimento.

Para o caso deste trabalho, nos primeiros 60 minutos ocorreu a desmineralização mais expressiva: para as soluções de 3 e 6 $mS.cm^{-1}$, que apresentam comportamento bastante semelhante ao longo de todo o processo, cerca de 40% da desmineralização ocorre na primeira hora; para as soluções de 12 e 18 $mS.cm^{-1}$, ocorrem desmineralizações de 55 e 60%, respectivamente, no mesmo período. Nos primeiros 60 minutos a desmineralização tem um comportamento linear, assim como o comportamento encontrado por CASADEMONT *et al.* (2009). Os valores de condutividade elétrica da solução diluída (que estava sendo desmineralizada) diminuíram linearmente a valores que ficaram entre -0,039 e $-0,058 \pm 0,005 mS.cm^{-1}.s^{-1}$.

Os resultados mais satisfatórios tendo em vista o percentual de desmineralização foram os obtidos para as soluções de 12 e 18 $mS.cm^{-1}$.

Na Figura 4.21 apresentam-se os dados do comportamento da condutividade elétrica em função do tempo de experimento. As soluções de sulfato de potássio que no início do experimento estavam com condutividades de 3, 6 e 12 $mS.cm^{-1}$ apresentaram pouca variação de condutividade elétrica ao longo dos experimentos. A solução de 18 $mS.cm^{-1}$ apresentou um acréscimo de condutividade ao longo do experimento, chegando a atingir 20 $mS.cm^{-1}$.

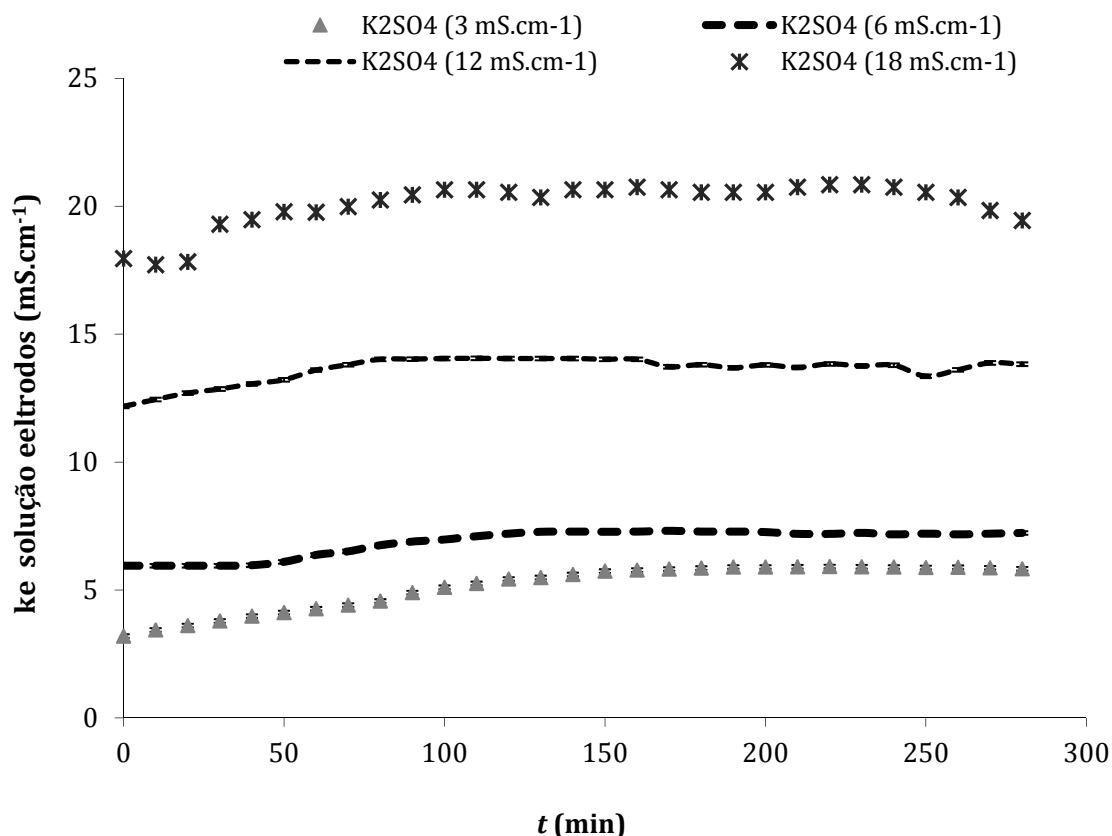


Figura 4.21: Condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm⁻¹ a 25 °C) em função do tempo, nos testes de ED, para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio, variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 mS.cm⁻¹. Desvio padrão médio $\pm 7\%$.

O pH da solução que estava sendo diluída variou entre 6 a 6,5 no início do experimento, até pH 3 no final do experimento, assim como no caso de soluções eletrolíticas diferentes (Figura 4.13). As razões para este fenômeno foram discutidas anteriormente, e devem seguir a mesma lógica para este caso, ou seja, pode ocorrer o deslocamento de grupos H⁺ em direção a este compartimento, o que pode provocar a diminuição do pH.

A Figura 4.22 apresenta a variação de pH das soluções de eletrodos em função do tempo de experimento.

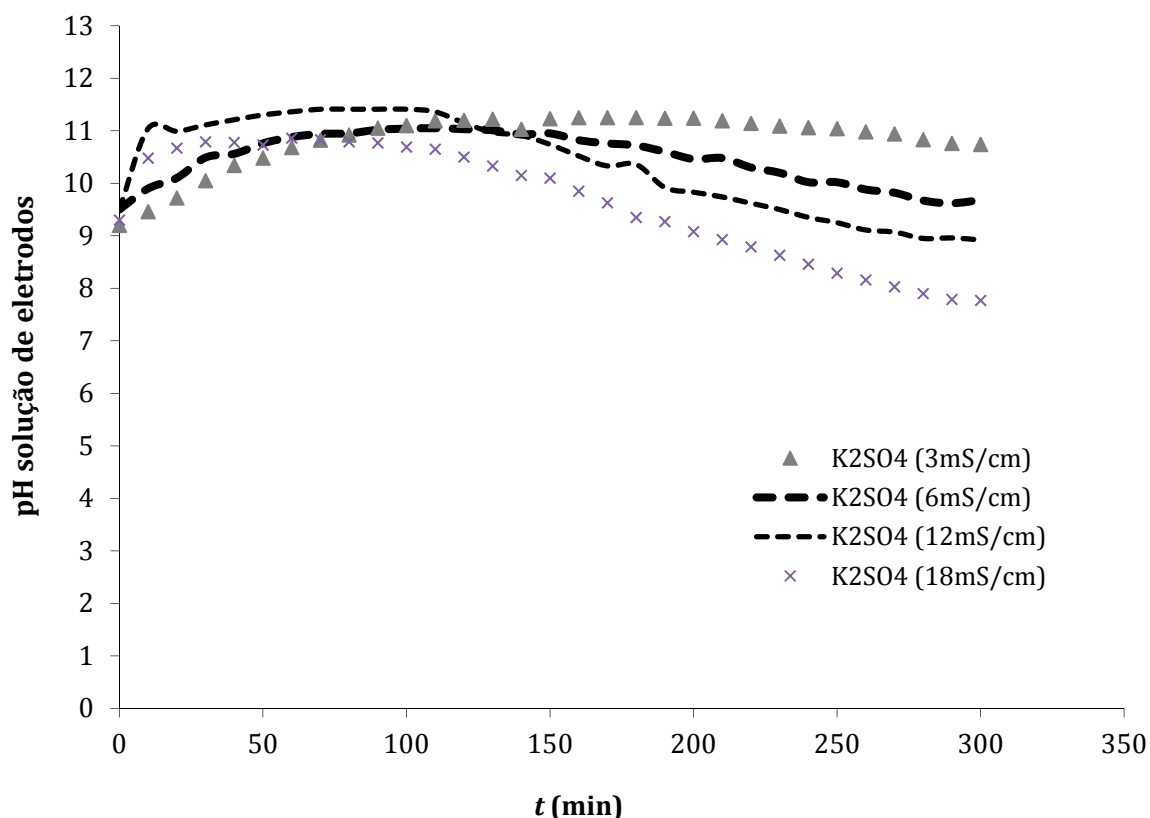


Figura 4.22: pH da solução de eletrodos em função do tempo, nos testes de ED para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio, variando a condutividade elétrica inicial: 3; 6; 12 e 18 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 10\%$.

O pH inicial encontrava-se entre 9 e 10, as soluções de 3 e 6 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, iniciaram com pH de 9 e terminaram com pH entre 10 e 11. As soluções de 12 e 18 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ terminaram o experimento com pH entre 8 e 9. Parece haver uma relação entre o pH e a condutividade elétrica, quanto menor a condutividade inicial, maior o pH da solução final.

Dando sequência ao trabalho, testes para melhorar a eficiência do processo foram realizados com a solução de sulfato de potássio de 18 $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, porque essa apresentou um elevado percentual de desmineralização (cerca de 90%), a condutividade elétrica da solução final foi aproximadamente igual a da inicial, e, ainda, o pH da solução, ao final do experimento, foi o que mais se aproximou da neutralidade.

4.2.3 Melhoria de eficiência do processo de ED: ED inversa e correção de pH

Após determinar a solução salina com melhor desempenho e a concentração inicial da solução de eletrodos que permitiu a desmineralização mais eficiente (solução original, K_2SO_4 - 18 mS.cm^{-1}), realizaram-se testes com objetivo de melhorar o desempenho do processo. Isso incluiu diminuir a resistência aparente e corrigir o pH das soluções utilizadas na ED.

Na ED inversa as correntes dos fluxos foram variadas simultaneamente, ou seja, o compartimento diluído passou a ser o concentrado e vice-versa. A vantagem da inversão da polaridade, segundo SATA *et al.* (2002), consiste na redissolução da precipitação nas células da solução concentrada, na medida em que se processa a mudança na polaridade. Em experimentos subsequentes, foram realizados testes de correção de pH segundo METSAMUURONEN e NYSTROM (2009): adicionou-se solução alcalina (KOH) na solução teste, mantendo a solução de eletrodos sem adições; e por fim, em outro experimento adicionou-se solução ácida (ácido cítrico) na solução de eletrodos, mantendo a solução teste sem adições. É importante o controle do pH, porque a lactose em meios excessivamente ácidos ou alcalinos, pode perder suas propriedades, até mesmo ser degradada irreversivelmente e ser inutilizada para aplicações comerciais.

Na Figura 4.23 apresentam-se os resultados encontrados na desmineralização da solução teste em função do tempo, utilizando estas técnicas encontradas na literatura, para melhoria da eficiência do processo de ED, comparadas com o teste original de K_2SO_4 .

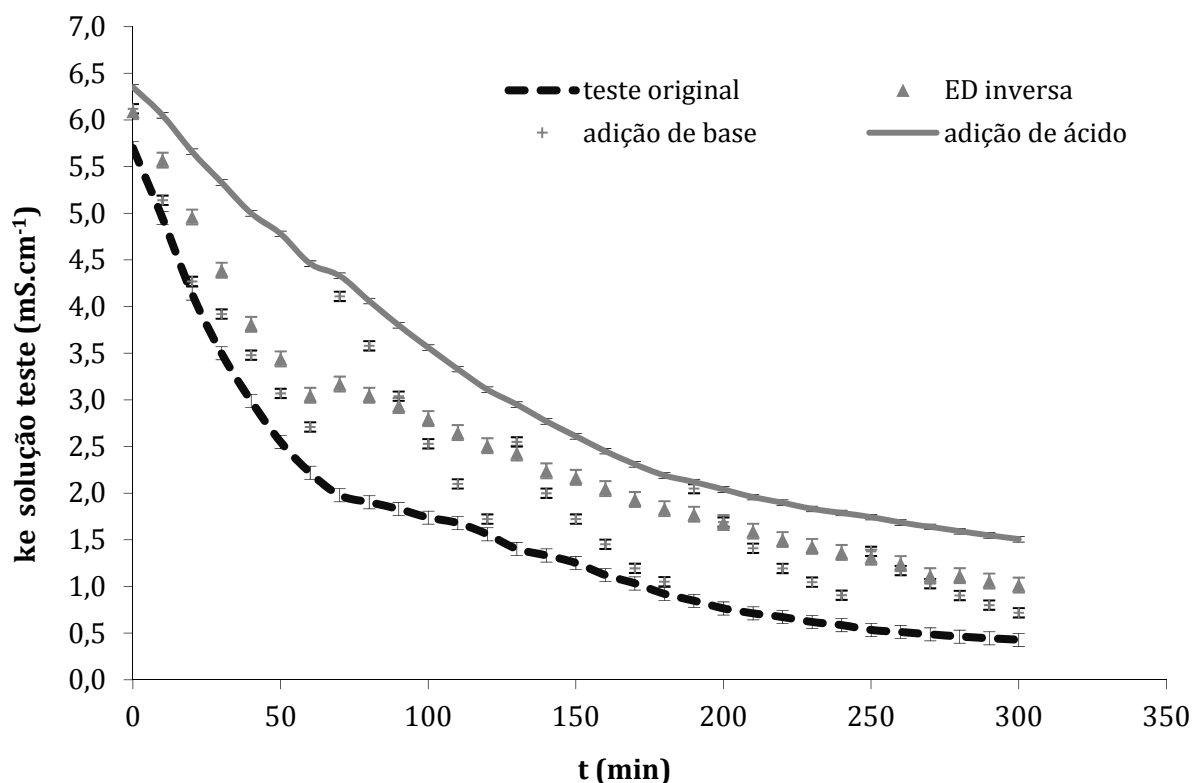


Figura 4.23: Condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) em função do tempo, com soluções de eletrodos de sulfato de potássio, com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão $\pm 8\%$.

Ao final dos experimentos de ED a desmineralização (*DR*) para o teste original foi de 90%; utilizando a ED inversa, 82%; adicionando a solução alcalina na solução a ser desmineralizada, obteve-se 85% de desmineralização e adicionando ácido a solução de eletrodos, a desmineralização ficou em torno de 75%. Neste trabalho, o teste sem modificações teve a maior desmineralização, mas existem outros fatores a serem considerados no processo de ED, tais como: o aumento da resistência aparente do sistema, o pH das soluções geradas, o grau de *fouling* das membranas e a possibilidade de tratamento da solução de eletrodos gerada.

Trabalhos recentes utilizando ED convencional em soluções contendo proteínas do soro e sais (CaCl_2 , MgCl_2) mostram *fouling* significativo nas membranas de troca iônica, um dos principais problemas deste processo, como já foi demonstrado anteriormente. Alguns autores fizeram testes para melhorar o desempenho da ED. CASADEMONT *et al.* (2009), por exemplo, realizaram um estudo cujo objetivo era demonstrar a viabilidade da utilização de pulsos elétricos como uma nova configuração

de ED para diminuir o *fouling* na membrana de troca iônica e melhorar o processo de ED. Os resultados obtidos mostraram que pulsos elétricos associados à separação dos compartimentos de ED, especialmente os que ligam as soluções de eletrodos, levam a maior desmineralização, além de diminuir o *fouling* e o consumo de energia, em relação a outros tratamentos. Os autores obtiveram desmineralizações que variaram entre 56 e 58% no modo de ED convencional, e 74 a 79% quando utilizaram ED com pulsos no campo elétrico.

A Figura 4.24 apresenta a condutividade elétrica das soluções de eletrodos em função do tempo para os quatro experimentos. A condutividade elétrica inicial de todas as soluções era de 18 mS.cm^{-1} .

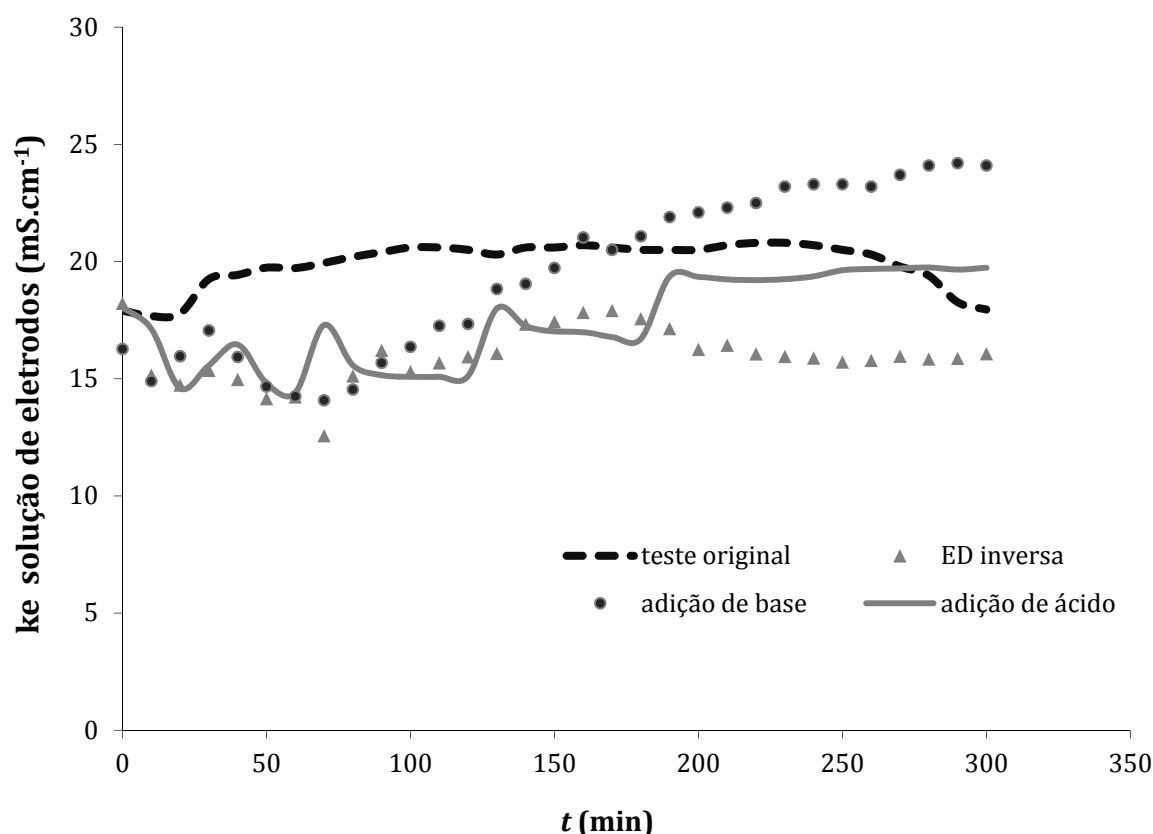


Figura 4.24: Condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base ($\text{KOH } 0,5 \text{ M}$) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico $0,5 \text{ M}$) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

Observa-se que quando foi adicionada base à solução que está sendo desmineralizada, houve o maior aumento de condutividade elétrica na solução de

eletrodos. Ao final do experimento a condutividade estava em 24 mS.cm^{-1} . No caso da adição de ácido cítrico na solução de eletrodos, a condutividade elétrica teve variações nos momentos em que se adicionava o ácido, provavelmente, porque havia um aumento de substâncias iônicas em solução, após estabilização permaneceu entre 15 e 20 mS.cm^{-1} . No caso da ED inversa a condutividade elétrica não passou dos 17 mS.cm^{-1} .

Para a correção dos pH dois diferentes experimentos foram realizados. Primeiro, optou-se por adicionar base à solução que está sendo desmineralizada, porque, como foi observado anteriormente, a solução vai acidificando ao longo do processo de ED. Após, em um segundo experimento, foi adicionado ácido à solução de eletrodos, porque esta solução apresentava uma tendência a alcalinizar.

Na Tabela 4.4 apresenta-se o volume que foi necessário adicionar em cada hora de experimento com o intuito de neutralizar as soluções.

Tabela 4.4: Quantidade de solução alcalina/ácida adicionada ao experimento para alterar o pH das soluções na faixa de neutralidade.

t (min)	Volume de KOH 0,5 M adicionado à solução teste (mL)	Volume de ácido cítrico 0,5 M adicionado à solução de eletrodos (mL)
60	31	5
120	20	8
180	20	6
240	10	1

Pela observação da Tabela 4.4 fica claro que para neutralizar as soluções precisa-se adicionar menos ácido do que base.

Nas Figura 4.25 e Figura 4.26 apresentam-se, respectivamente, o comportamento do pH das soluções teste e de eletrodos ao longo dos experimentos de ED.

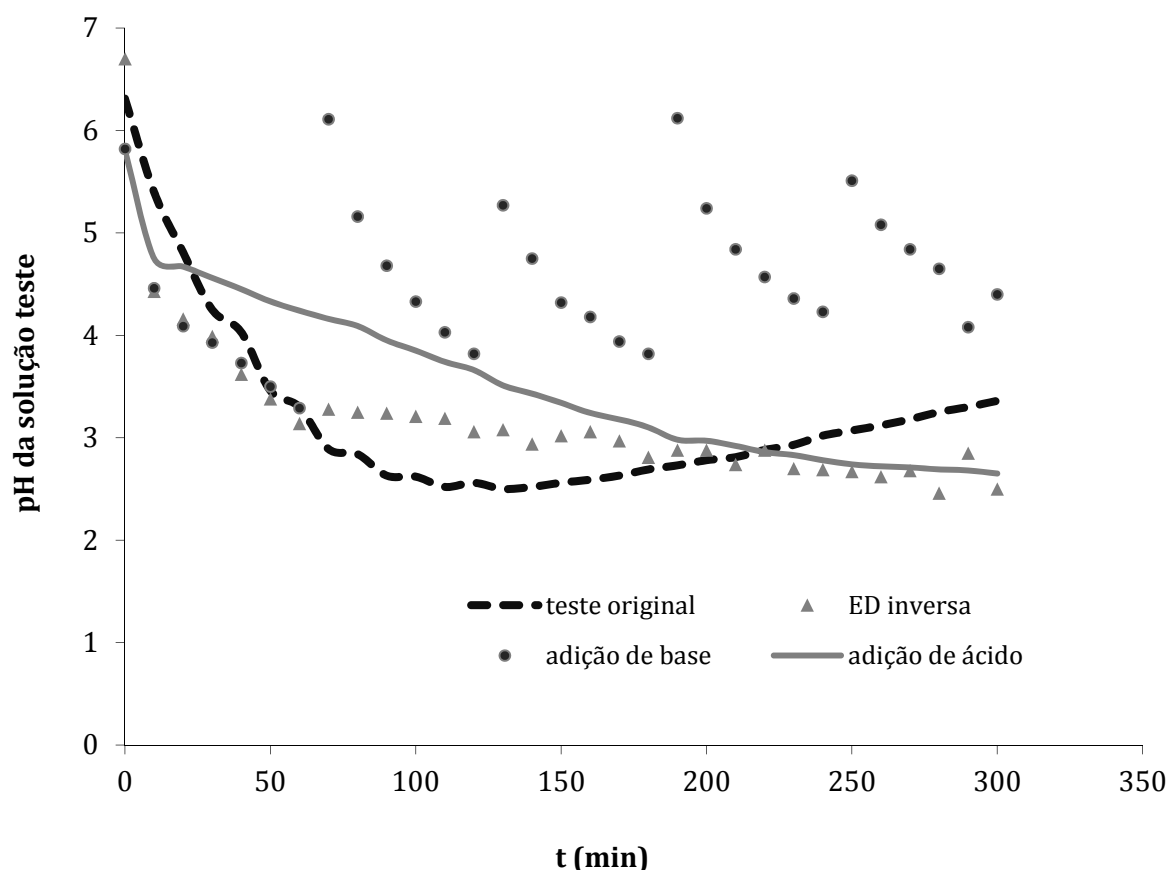


Figura 4.25: pH da solução teste em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

Na Figura 4.25 observa-se que quando foi adicionada a solução alcalina na solução teste, o pH desta última, aumentava até ficar aproximadamente igual ao valor de pH inicial. No entanto, no decorrer do experimento, observa-se que o pH retorna a condição ácida em menos de 60 minutos. Porém, comparada às outras soluções esta é a que permanece com menor acidez (pH entre 4 e 5).

O pH da solução em que foi realizada ED inversa diminuiu em função do tempo e ao final do experimento estava entre 2 e 3. Assim como o pH da solução em que foi realizada a acidificação do compartimentos dos eletrodos.

O teste sem modificações ($\text{K}_2\text{SO}_4 - 18 \text{ mS.cm}^{-1}$) ficou com pH em torno de 3 ao final do experimento.

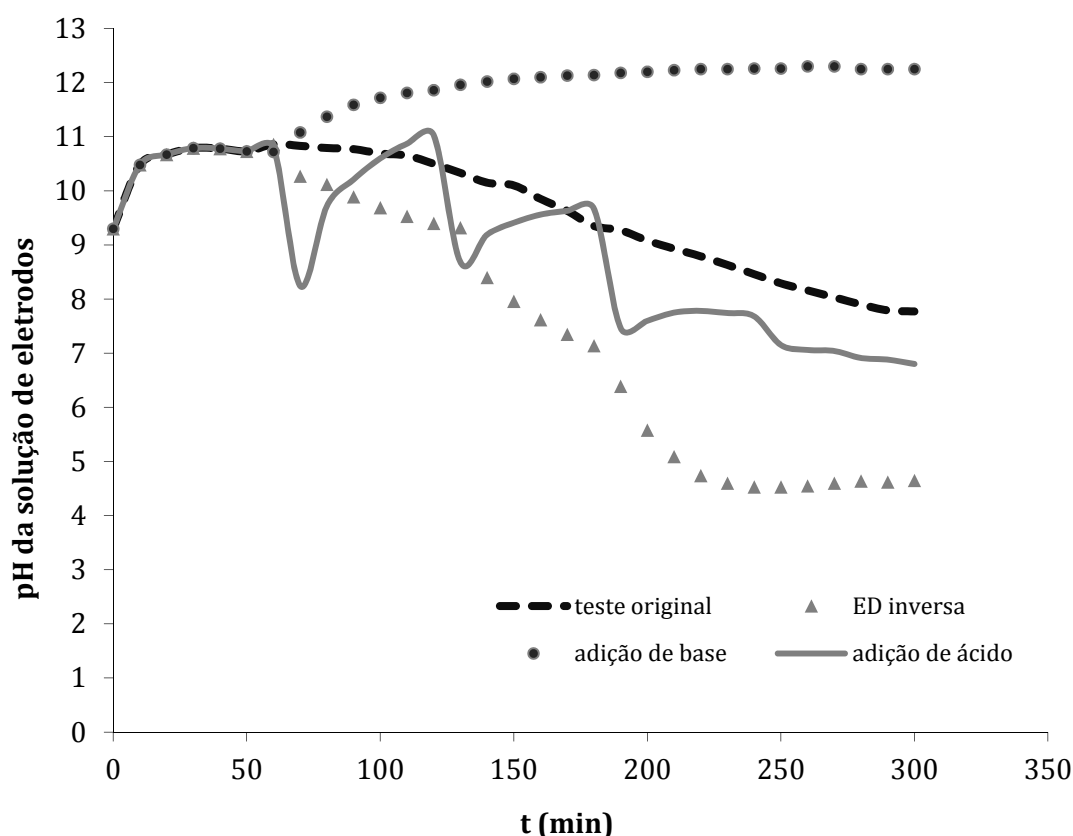


Figura 4.26: pH da solução de eletrodos em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0,5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0,5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$

O pH da solução de eletrodos sem modificações (teste original) ficou em torno de 8 ao final do experimento.

O pH da solução em que foi realizada ED inversa diminuiu em função do tempo e ao final do experimento estava entre 4 e 5 (o menor de todas as soluções de eletrodos). Enquanto que o pH da solução de eletrodos, do teste que foi adicionado solução alcalina a solução que estava sendo desmineralizada, ficou na faixa de pH entre 11 e 13 (o maior entre as soluções de eletrodos analisadas).

O pH da solução em que foi realizada a adição de ácido cítrico ao compartimento dos eletrodos apresentou diminuições no pH no momento em que se adicionava o ácido (ficando na faixa de pH 8). Mas, imediatamente após a adição, o pH da solução voltava a subir até atingir o pH de 11. Com o decorrer do experimento esta elevação do pH foi se

tornando menos expressiva e ao final do experimento o pH da solução de eletrodos estava entre 7 e 8.

AYALA-BRIBIESCA *et al.* (2007) avaliaram o impacto do valor do pH da solução de eletrodos (KCl) na formação de *fouling* e a sua relação com a presença de carbonato de cálcio durante o tratamento de uma solução de isolado proteico de soro por ED. Quando o pH da solução de eletrodos foi mantido acima da neutralidade ocorreu formação de *scaling* na superfície da membrana aniônica em contato com a solução de KCl. Estas incrustações foram identificadas como fosfato de cálcio, algumas vezes com formação de hidróxido de sódio. O cálcio estava presente devido à recirculação da solução de eletrodos que continha os cátions que tinham atravessado a membrana catiônica presentes na solução de alimentação. Nos processos de desmineralização com a solução de eletrodos mantida em pH 2 ou 7 observaram *fouling* proteico na membrana aniônica. Os autores sugerem a utilização de ED inversa para diminuir o *scaling*, enquanto que para retirar o *fouling* proteico uma limpeza química é necessária.

Estes procedimentos para diminuir ou remover o *fouling* implicam em repetidas interrupções do processo, o que em escala industrial pode demandar muito tempo para a desmineralização e inviabilizar o processo. Assim, condições que permitam a preservação da integridade da membrana (sem necessitar paradas no sistema), tais como: correções de pH, evitar recirculação da solução de eletrodos, ou agitar o compartimento onde circula esta solução, diminuiriam a frequência com que se fazem os procedimentos de limpeza química e a desmontagem do aparato de ED, assim como a troca de membranas. Isso aumentaria a vida útil das membranas e contribuiria para otimizar o processo de desmineralização.

Na Figura 4.27 observa-se a resistência aparente do sistema para os quatro experimentos estudados nesta etapa do trabalho.

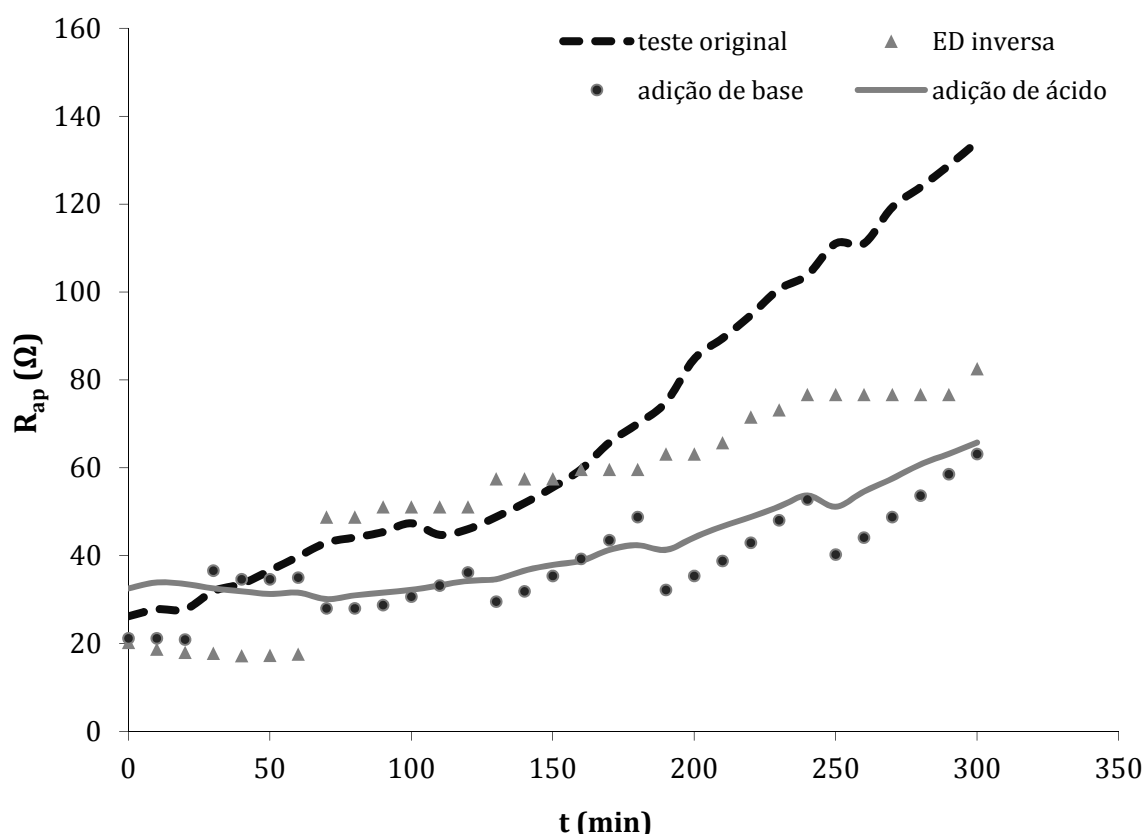


Figura 4.27: Resistência aparente em função do tempo com soluções de eletrodos de sulfato de potássio com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: teste original, ED inversa, com adição de base (KOH 0,5 M) na solução teste, com adição de ácido (ácido cítrico 0,5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

Como nos casos anteriores, observa-se um aumento da resistência aparente do sistema ao longo do tempo. As razões para o aumento de R_{ap} foram discutidas anteriormente. É possível verificar que para o teste original o aumento da resistência ao final do experimento foi de 80%, para o teste em que foi realizada ED inversa houve um aumento de 75% na resistência do sistema. Para o sistema em que se adicionou base à solução de eletrodos a R_{ap} aumentou 66% e para o experimento onde se adicionou ácido a R_{ap} aumentou 50%. O último caso mostrou o resultado mais positivo neste aspecto, porque a corrente elétrica se mantém constante por mais tempo.

Na Figura 4.28 observa-se a fotografia da solução de eletrodos adicionada de ácido cítrico ao final do experimento de ED. A solução é mais límpida que as soluções utilizadas em outros experimentos, e que se pode comprovar comparando a Figura 4.28 com a Figura 4.10, por exemplo. Além disso, a turbidez desta solução foi de 13 NTU cerca de dez vezes menor que a turbidez das outras soluções de K_2SO_4 (que ficaram com

turbidez em torno de 170 NTU), o que mostra um resultado positivo para a ED operada desta maneira, e representa um resultado promissor para o emprego de processos de eletrodiálise.



Figura 4.28: Fotografia da solução de sulfato de potássio ao final do experimento de ED com adição de ácido cítrico à solução de eletrodos.

4.3 Osmose Inversa – Recuperação da água

O processo de ED resultou em duas correntes, uma concentrada em sais e a outra concentrada em lactose com baixo teor de sais. A solução concentrada em sais foi tratada com osmose inversa (OI) visando a recuperação de água livre de sais e de uma corrente rica em sais, resultando, desta forma, em um descarte mínimo de efluentes.

Um volume de 5 litros da solução gerada na ED com condutividade elétrica inicial de $20,8 \text{ mS.cm}^{-1}$, foi tratada por osmose inversa nas seguintes condições de operação: pressão transmembrana de 600 kPa, taxa de escoamento média de $6,67 \times 10^{-5} \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ e temperatura de 30°C . Este volume foi diluído pelo volume morto de água do equipamento, o que provocou a redução da condutividade elétrica inicial para aproximadamente 16 mS.cm^{-1} . Na Figura 4.29 pode-se observar o comportamento do fluxo permeado da solução de eletrodos em função do tempo de experimento no sistema de OI.

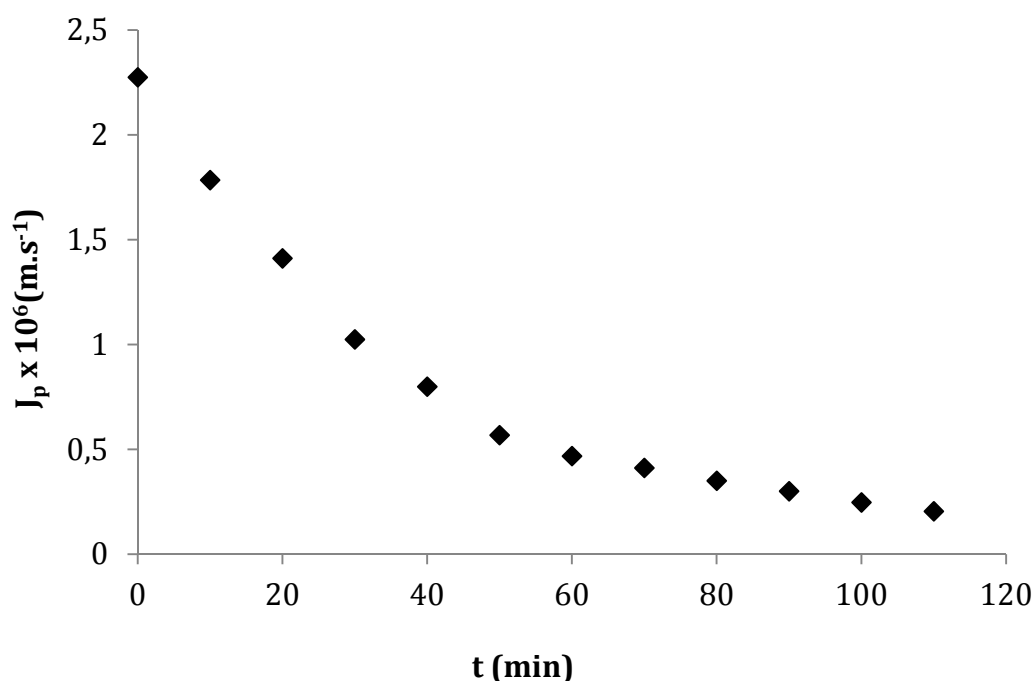


Figura 4.29: Fluxo permeado da solução teste em função do tempo para a membrana de OI, $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta P=6 \times 10^5\text{ Pa}$, vazão de alimentação média de $6,67 \times 10^{-5}\text{ m}^3.s^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 3\%$.

O experimento foi conduzido durante 110 minutos, momento em que o fluxo permeado estava 90% inferior ao fluxo permeado do início do experimento. O volume final no tanque de concentração (solução salina concentrada) foi de 0,95 L (+ 3 L do equipamento) e o volume permeado de água obtido foi de 3,5 L. O FCV ficou em torno de 2, o que implica em uma recuperação de 50% de água para reuso. A condutividade elétrica final da corrente concentrada foi de $26,9\text{ mS.cm}^{-1}$ e da corrente permeada foi de 7 mS.cm^{-1} .

Durante o processo de OI, à medida que a água permeia, o volume de água da corrente do retido diminui e a concentração de partículas suspensas e íons dissolvidos aumenta. A polarização por concentração pode aumentar a pressão osmótica e a queda da pressão ao longo do sistema, com consequente acréscimo da resistência a permeação e diminuição do fluxo permeado.

Esta diminuição do fluxo através da membrana pode ser explicada, porque o fluxo é proporcional à força motriz exercida sobre o processo, e a constante de proporcionalidade pode ser considerada como o inverso da soma das resistências. Se ocorrer a formação da camada polarizada, a resistência ao escoamento aumenta, e consequentemente, o fluxo permeado diminui.

Na Figura 4.30 é possível observar a retenção da solução de eletrodos em função do tempo de experimento de OI.

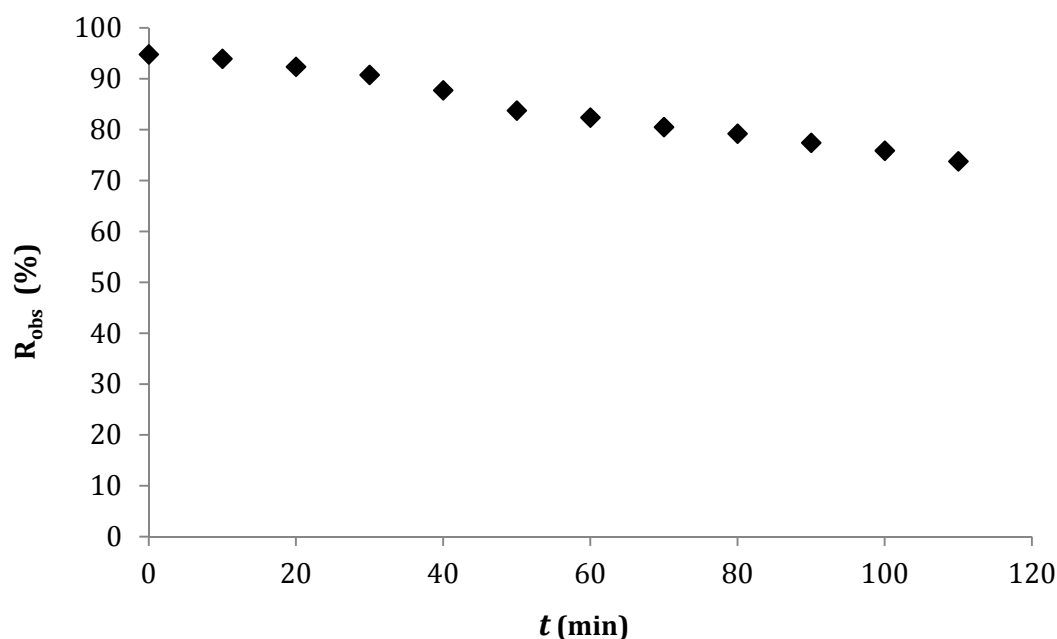


Figura 4.30: Retenção observada da solução teste em função do tempo para a membrana de OI, $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta P=6 \times 10^5\text{ Pa}$, vazão de alimentação média de $6,67 \times 10^{-5}\text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

A retenção ficou na faixa de 80%. No gráfico é possível observar que há um declínio da retenção observada em função do tempo de experimento, o que também pode estar relacionado aos fenômenos inerentes aos processos de separação por membranas.

A análise do processo é feita através da caracterização da membrana antes e após o experimento e através da avaliação da permeabilidade hidráulica e da retenção salina. Fazendo uma comparação entre as permeabilidades hidráulicas e as retenções de NaCl ($2\text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, condutividade elétrica inicial de aproximadamente $3\text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$), obtidas antes do experimento com a solução teste, após o experimento com a solução teste, e após a limpeza química, podemos ter uma ideia da intensidade destes fenômenos nos PSM.

A Figura 4.31 e a Figura 4.32, apresentam, respectivamente, a permeabilidade hidráulica da membrana e a retenção de NaCl nestes três momentos.

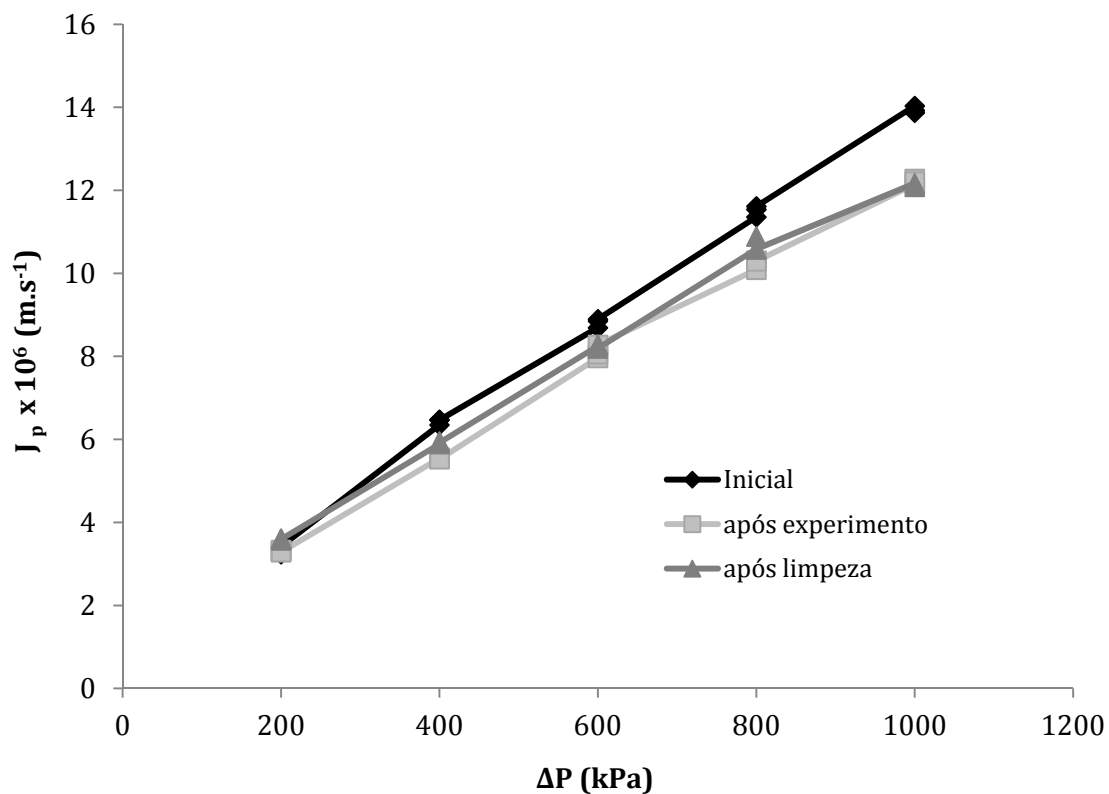


Figura 4.31: Fluxo permeado de água para a membrana de OI em função da pressão transmembrana, $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

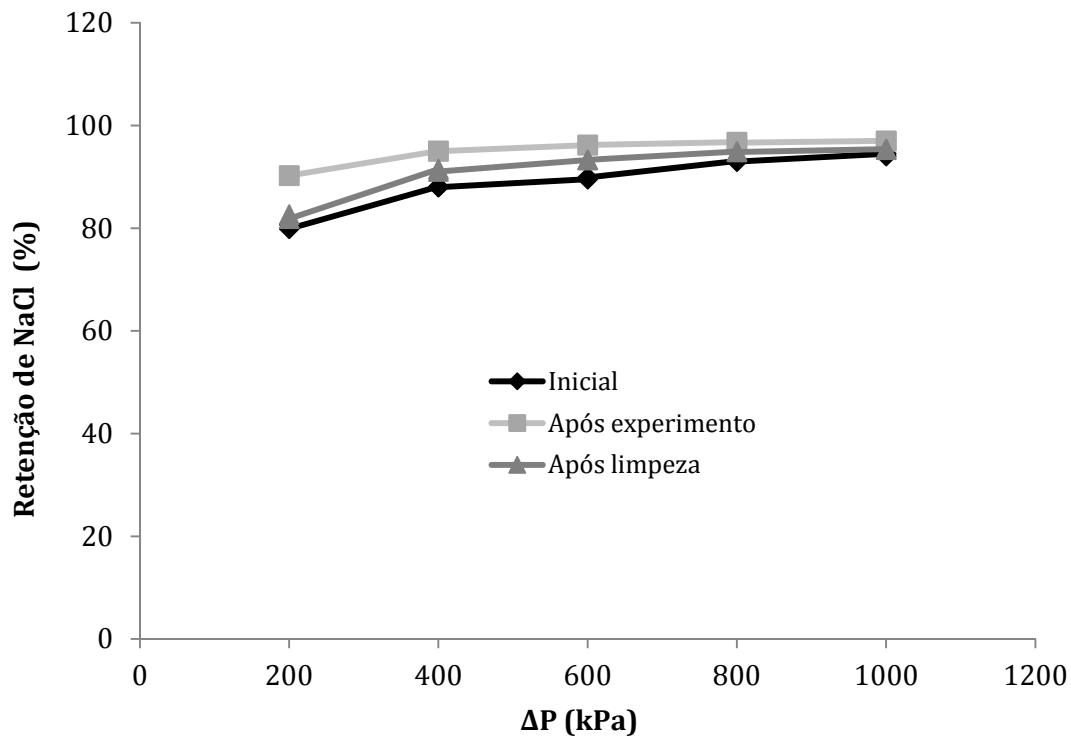


Figura 4.32: Retenção de NaCl para membrana de OI em função da pressão transmembrana, $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

Após comparar as caracterizações apresentadas nas Figura 4.31 e Figura 4.32 observam-se alguns aspectos interessantes; o principal é que quando a retenção é elevada, o fluxo é baixo. Isto, provavelmente, se deve ao fato da presença de *fouling* durante o experimento feito com os sais do soro de leite, que pode ser comprovado comparando as curvas de fluxo de água antes e após o experimento da Figura 4.31. Verifica-se que o fluxo após o experimento é menor. Também, é possível observar na Figura 4.31 que após a limpeza, o fluxo é recuperado, ou seja, a limpeza química é efetiva, e, que consequentemente, a retenção de NaCl diminui, o que caracteriza o *fouling* do tipo reversível.

As incrustações provocadas pela precipitação de sais solúveis provocam uma grande queda da retenção salina, uma redução da pressão diferencial através da membrana e, consequentemente, do fluxo permeado. Limpezas realizadas com agentes químicos são indicadas para solubilizar esses depósitos, removendo-os da superfície da membrana e podendo promover a restauração do fluxo permeado inicial.

Os resultados desse experimento mostram que, através da OI é possível recuperar uma corrente rica em sais e uma corrente de água: partindo de 8 litros de solução salina obteve-se uma redução de 50% no volume, onde aproximadamente 80% dos sais foram retidos. Outros processos de separação por membranas também poderiam ser utilizados (como ED) com o objetivo de recuperar alguns compostos desta solução (como Ca^{+2} , por exemplo). O sulfato de potássio também poderia ser reaproveitado como fertilizante o que minimizaria ainda mais a geração de efluentes deste processo.

4.4 Ultrafiltração - Fracionamento das proteínas do soro de leite

Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados da etapa experimental da UF, onde foram utilizadas diferentes soluções iniciais para o fracionamento das proteínas do soro de leite.

Primeiramente são apresentados os resultados da compactação das membranas, seguidos das permeabilidades de água e soro das mesmas. Ainda, foram avaliadas as medidas de fluxo durante a concentração do soro, assim como, as medidas de fluxo de água após a realização dos experimentos. E, por fim, apresentam-se as características das

amostras quanto ao teor de lactose, sólidos totais, pH, condutividade elétrica, teor e identidade das proteínas presentes nas soluções.

4.4.1 Compactação da membrana

A compactação das membranas de UF foi realizada através do escoamento de água pela membrana, mantendo a pressão transmembrana em 800 kPa durante tempo suficiente para que as membranas apresentassem fluxo permeado constante. A média dos fluxos de água em função do tempo de compactação está apresentada na Figura 4.33.

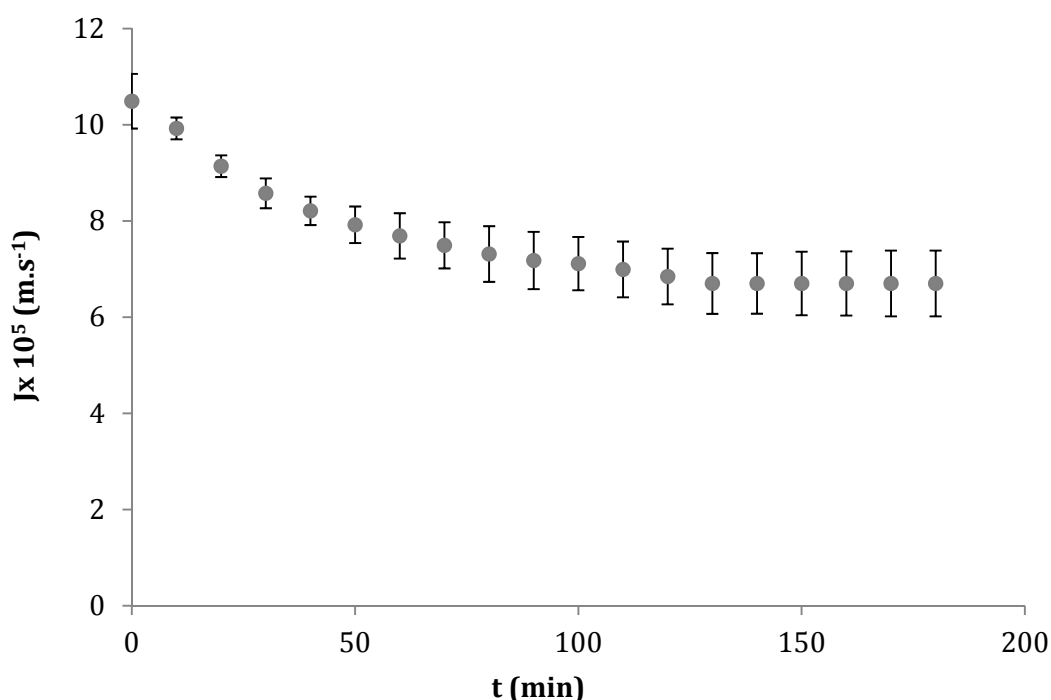


Figura 4.33: Fluxo permeado médio de água em função do tempo para compactação das membranas UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta P = 800 \text{ kPa}$.

A compactação da membrana foi realizada previamente a fim de evitar um declínio de fluxo permeado devido ao adensamento da microestrutura da membrana durante o processo UF; este procedimento foi realizado à pressão superior a de operação, com água pura até o fluxo de permeado se estabilizar.

Na Figura 4.33 pode-se observar que as membranas de UF no início do experimento possuíam fluxo hidráulico entre 10 e 11 $\times 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}$. Ocorreu queda no fluxo de água ao longo do tempo, e as membranas foram consideradas compactadas quando os fluxos atingiram um patamar, após mais de 150 minutos de passagem de água. A

compactação era encerrada quando a membrana apresentava fluxos entre 6 e $8 \times 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}$. Observa-se no gráfico que o desvio padrão ficou praticamente constante ao longo do tempo, isto ocorreu, porque assumimos uma faixa de valores de fluxo em que poderíamos encerrar a compactação. Desta forma, evitaríamos trabalhar com condições de operações diferentes ao início dos experimentos com pedaços de membranas variados.

4.4.2 Permeabilidade

A Figura 4.34 mostra o fluxo das soluções de soro de leite, comparadas ao fluxo hidráulico. Observa-se que o fluxo de água aumenta linearmente com a pressão; e, quanto maior a ΔP aplicada, maior o fluxo de água.

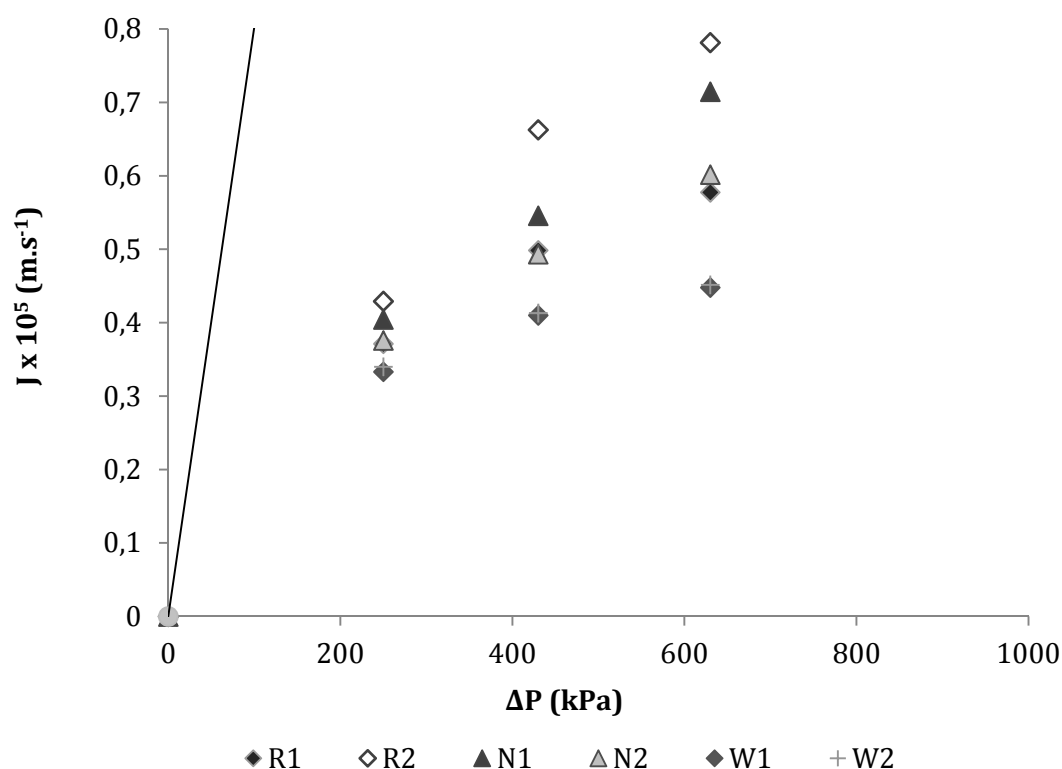


Figura 4.34: Fluxo permeado de água (reta) e de soro de leite em função da pressão transmembrana para membrana de UF, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro *in natura* pH6, N2 – soro *in natura* pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).

De acordo com o gráfico da Figura 4.34, o fluxo de soro é proporcional à pressão aplicada, ou seja, quanto maior a pressão transmembrana, maior o fluxo. No entanto, as curvas que representam o fluxo de soro em função de ΔP não apresentam a mesma linearidade do fluxo hidráulico.

Observa-se também, que os fluxos permeados das diferentes soluções são menores que os fluxos da água apresentados na Figura 4.34 em todas as pressões. Isso pode ocorrer devido às interações entre a membrana e a solução, efeitos da viscosidade cinemática e da difusividade mássica. Dentre as soluções a que apresenta o fluxo maior é R2, os menores fluxos são os das soluções W1 e W2. As soluções N1, N2 e R1 apresentam fluxos intermediários. Esta diferença foi mais expressiva nas maiores pressões de operação. Este comportamento pode ser justificado pela maior quantidade de soluto que chega a superfície da membrana em pressões mais elevadas, intensificando o fenômeno de polarização por concentração e a tendência de formação de *fouling*.

Outros parâmetros importantes, que podem afetar o fluxo através da membrana, são o pH e a força iônica; o efeito de cada um deles, entretanto, varia muito em função da solução de alimentação e da membrana utilizada. Estes parâmetros influenciam, principalmente, na solubilidade dos componentes da alimentação, alterando as interações entre essa solução e a membrana.

Os fluxos das soluções W1 (pH original = 6) e W2 (solução acidificada com ácido cítrico) foram muito semelhantes para todas as pressões transmembrana, ou seja, o fluxo das soluções de concentrado proteico comercial não foi influenciado pela diferença de pH inicial. A solução de soro *in natura* com pH ácido (N2), que era o pH original da solução, teve o fluxo menor que o fluxo da solução N1 (solução em que foi adicionado NaOH para aumentar o pH). E a solução de soro reconstituído com pH ácido (R2 – acidificada com ácido cítrico), apresentou fluxos superiores aos fluxos de R1 (pH original da solução). Não foi possível fazer uma relação direta entre o fluxo permeado e o pH porque as soluções apresentaram comportamentos distintos. Mas, as soluções iniciais não eram as mesmas, portanto, as interações entre os solutos e a membrana que ocorrem durante o escoamento podem ser de natureza diferente, influenciando diferentemente o fluxo permeado.

Medidas de fluxo hidráulico foram realizadas para todas as membranas nas pressões transmembrana: 600, 400 e 200 kPa, respectivamente, antes e depois da permeação das soluções de soro. A Figura 4.35 apresenta os fluxos para as soluções estudadas.

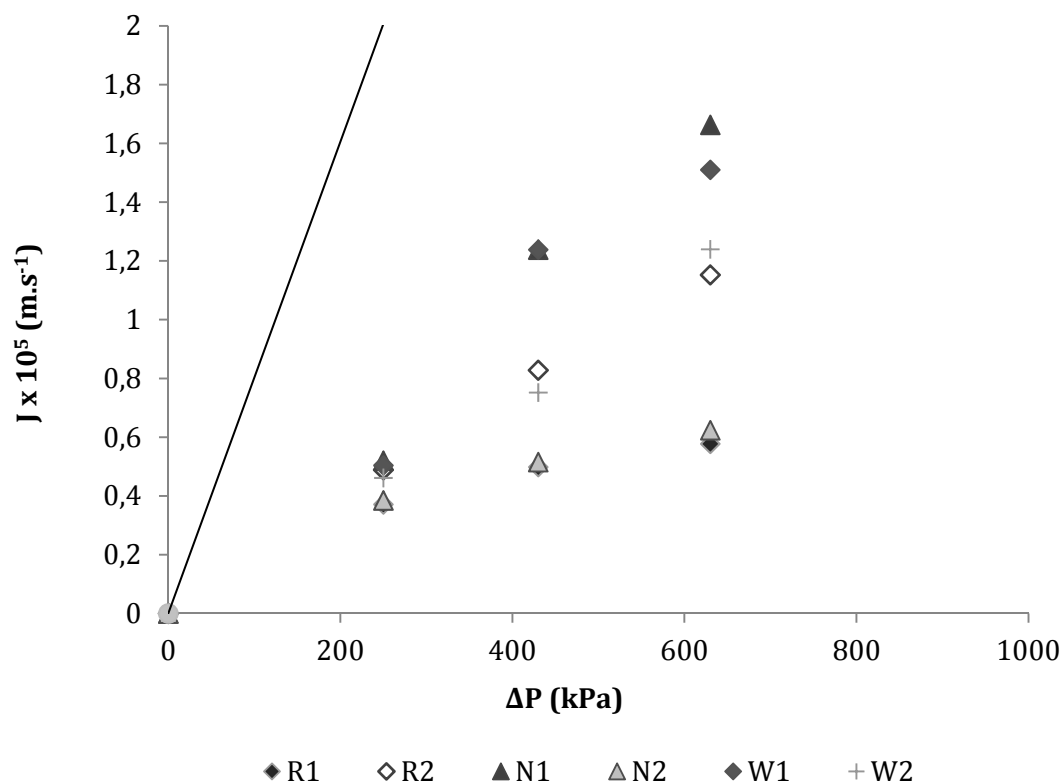


Figura 4.35: Fluxo permeado de água (antes do experimento – reta) e após os experimentos de filtração de soro, em função da pressão transmembrana para o sistema de UF, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro *in natura* pH6, N2 - soro *in natura* pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).

Analisando as curvas pode-se observar que o fluxo de água depois da passagem do soro pelo sistema é bastante inferior ao fluxo de água inicial (antes da UF do soro de leite), para todas as soluções.

A diminuição da permeabilidade hidráulica das membranas deve ocorrer porque as partículas presentes no soro vão incrustando a membrana, criando uma camada que dificulta a passagem do permeado. Esta diminuição do fluxo evidencia a formação de *fouling*. Para recuperar o fluxo permeado foi necessária limpeza química.

4.4.3 Permeação das soluções de soro de leite

No fracionamento do soro de leite foi monitorado o pH inicial das soluções. Este fator é importante para a conformação molecular da β -Lg. Segundo FOX e MCSWEENEY (1998) e WITT (1998) a β -Lg forma octômeros em pH entre 3 e 5. Segundo WONG *et al.* (1999) o monômero de 18 kDa só existe em pH inferiores a 3,0 ou acima de 8,0 e nos pH entre 6 e 8, a β -Lg existe naturalmente como um dímero. Propiciar condições para a

agregação da β -Lg em dímeros e octômeros, foi uma tentativa de promover uma maximização de diferenças de raios hidráulicos e difusividades moleculares entre esta proteína e aquelas menores, como a α -La.

Segundo BRANS (2006) a maior seletividade das membranas ocorre em pressões onde o fluxo limite não foi atingido. Levando em conta, este fator e resultados, que já foram obtidos em trabalhos anteriores (BOSCHI, 2006; BALDASSO *et al.*, 2011a), optou-se por trabalhar na pressão de 200 kPa durante a concentração das soluções de soro.

A Figura 4.36 apresenta o fluxo de permeado em função do tempo das diferentes soluções de soro de leite.

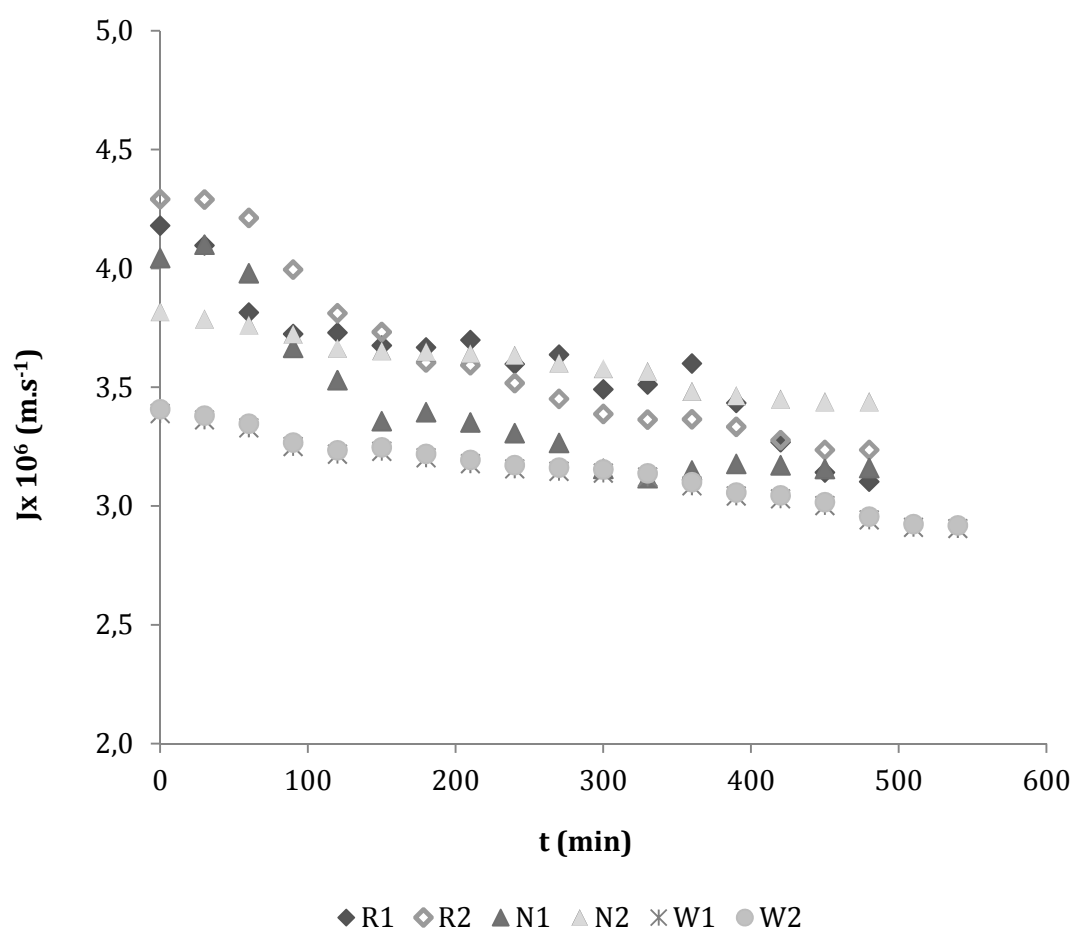


Figura 4.36: Fluxo permeado das soluções de soro de leite em função do tempo para o sistema de UF, membrana UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta P = 200 \text{ kPa}$. (R1 – soro reconstituído pH6, R2 – soro reconstituído pH5, N1 – soro *in natura* pH6, N2 – soro *in natura* pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5).

Observa-se na Figura 4.36 que os fluxos permeados para as soluções R1, R2, N1 e N2 são muito semelhantes durante todo o período de experimento. As soluções W1 e W2

apresentaram fluxos inferiores aos das outras soluções, isto pode ter ocorrido por estas soluções possuírem elevadas concentrações de moléculas de maior massa molar (maior teor de proteínas em relação aos outros componentes). E o maior decaimento de fluxo (comparando o fluxo inicial e o final) foi para as soluções N1, R1 e R2. A solução N2 foi aquela que apresentou menor variabilidade de fluxos ao longo do experimento.

Assim como observado na Figura 4.34, não é possível obter uma relação direta entre fluxo permeado e pH. Segundo BACCHIN *et al.* (2006) na separação de uma solução proteica, quanto mais o pH da solução se aproximar do pH isoelétrico das proteínas presentes, menos solúveis estas se encontrarão e, por isso, pode ocorrer maior tendência de formação do *fouling*, o que pode diminuir o fluxo permeado. Outros autores também relataram mudanças do comportamento do fluxo permeado em função do pH. RAO (2002) constatou que o fluxo permeado de soro é fortemente influenciado pelo pH. O autor descreveu que o fluxo aumenta inicialmente com o aumento do pH, mas também aumenta o *fouling* posterior, provocando uma redução do fluxo. A diminuição do pH implica em uma redução do fluxo inicial, mas diminui o *fouling* posterior. O aumento no fluxo inicial em altos valores de pH, para o soro, pode ser explicado por mudanças na conformação das proteínas.

A Tabela 4.5 apresenta o resumo das análises das amostras de permeado e de concentrado recolhidas na etapa de fracionamento das proteínas. Estão identificadas da seguinte forma: R1 soro reconstituído pH6, R2 soro reconstituído pH5, N1 – soro *in natura* pH6, N2 - soro *in natura* pH5, W1 – concentrado proteico do soro pH6, W2 – concentrado proteico do soro pH5). C1 corresponde à amostra de soro inicial e C4 e P4 correspondem às amostras de concentrado e de permeado, respectivamente, após recolhidos 600 mL de permeado, quando os experimentos eram encerrados. Para recolher este volume foram necessários 480 minutos para as soluções R1, R2, N1 e N2, e, 540 minutos para as soluções W1 e W2, o que ocorreu devido ao menor fluxo permeado das destas últimas soluções citadas. A tabela completa com as amostras recolhidas durante os experimentos encontra-se anexada no Apêndice C.

Tabela 4.5: Resumo dos dados do processo de UF, incluindo teor de sólidos totais, proteína, lactose, gordura, sais, condutividade elétrica, pH para as amostras de concentrado e permeado dos processos de fracionamento das proteínas do soro utilizando a membrana UF30, T= 30 °C, ΔP= 200 kPa.

Amostra	Proteína (kg.m ⁻³) ±5%	Lactose (kg.m ⁻³) ±5%	pH	ke (mS.cm ⁻¹)	Sais (kg.m ⁻³) ±3%	ST (kg.m ⁻³) ±5%
R1C1	13,9	38,5	6,8	3,9	7,7	60,2
R1C4	15,5	39,3	6,3	4,3	8,6	69,3
R1P4	3,6	39,5	6,3	4,1	8,1	50,7
R2C1	13,7	48,1	5,0	4,7	9,2	60,3
R2C4	13,6	49,2	4,9	4,8	9,5	61,1
R2P4	3,2	49,3	4,9	4,7	9,3	60,6
N1C1	10,1	52,4	6,7	10,4	19,9	85,4
N1C4	11,5	55,0	6,5	10,5	20,1	86,6
N1P4	2,0	46,2	6,5	10,3	19,6	68,6
N2C1	8,9	49,1	5,0	8,2	15,8	76,3
N2C4	10,3	43,7	5,1	8,5	16,3	73,2
N2P4	2,8	35,2	5,1	8,3	15,9	53,2
W1C1	38,2	26,6	6,6	2,5	5,2	70,1
W1C4	41,0	31,4	5,8	2,8	5,8	78,2
W1P4	2,1	11,9	6,1	2,5	5,2	16,5
W2C1	39,4	26,5	5,0	2,9	5,9	71,8
W2C4	41,4	31,8	4,9	2,9	6,0	79,1
W2P4	1,6	10,9	5,0	3,1	6,3	18,7

Na Tabela 4.5 é possível observar as diferenças entre as soluções que foram utilizadas neste estudo. Além da diferença de pH inicial, verificou-se que as soluções de soro reconstituído (R1 e R2) apresentaram teor de proteína na amostra inicial em torno de 13 kg.m⁻³, e a retenção desta substância ficou em torno de 75%, aparentemente não sofrendo influencia do pH inicial. As amostras de soro *in natura* (N1 e N2), apresentaram concentrações iniciais de proteína em torno de 9 kg.m⁻³ e a retenção desta molécula foi de cerca de 75%. As soluções W1 e W2, que já são concentrados proteicos comerciais, apresentaram no início do experimento teores de proteína superiores as demais amostras, em torno de 40 kg.m⁻³, também foram àquelas que apresentaram a maior retenção observada desta molécula (90 a 95%).

A retenção de sais foi inferior a 10% para todos os casos. Um fator interessante a ser observado é que o soro *in natura* possui um teor de sais inicial de até 20 kg.m⁻³, bastante superior às amostras de soro reconstituído e concentrado proteico comercial. Este fator pode ser explicado pelo tipo de queijo do qual o soro é oriundo (queijo serrano).

O teor de lactose inicial das amostras era de 40, 50 e 25 kg.m⁻³ para as soluções de soro reconstituído (R), *in natura* (N) e concentrado proteico (W), respectivamente. A retenção desta molécula variou entre 1% para R1 e R2, passando por 20% para as soluções N1 e N2, até 65% para as soluções W1 e W2.

Naquelas soluções em que ocorreu a retenção parcial de lactose pode ocorrer maior dificuldade na purificação das proteínas. Segundo REKTOR e VATAI (2004), a retenção da lactose pela membrana de UF ocorre devido à camada gel formada durante o processo.

É possível observar que não há um aumento expressivo no teor dos componentes durante a etapa de concentração do soro. Isso deve ter ocorrido, porque os experimentos foram limitados pelo baixo fator de concentração volumétrico final atingido (cerca de 1,5). Isso se deve às limitações experimentais, como, pequena área de permeação das membranas de UF, por exemplo.

A retenção elevada para as proteínas pode ter ocorrido porque o soro de leite possui proteínas com massas molares próximas da MMC da membrana estudada, e também evidencia a formação de *fouling*. Ainda podem estar ocorrendo interações entre os diferentes solutos presentes na solução, isto é, uma agregação das diferentes moléculas de proteína entre si ou com a lactose, o que impede a sua passagem para o permeado.

Para purificar as proteínas a UF poderia ter sido associada à UF operada no modo de diafiltração. Esse modo de operação auxilia na permeação dos solutos de menor massa molar, como lactose e sais minerais, e, assim promove a purificação dos componentes que ficam preferencialmente retidos, como as proteínas, no caso deste trabalho.

Para todas as soluções foi observada uma pequena concentração de proteínas no permeado. E para uma avaliação mais detalhada destas amostras, estudos de identificação das proteínas por espectrometria de massas (MALDI-TOF/MS) foram realizados e serão discutidas a seguir.

A Figura 4.37 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de soro reconstituído ao final do processo de ultrafiltração em pH 6: Figura 4.37a R1C4 e Figura 4.37b R1P4.

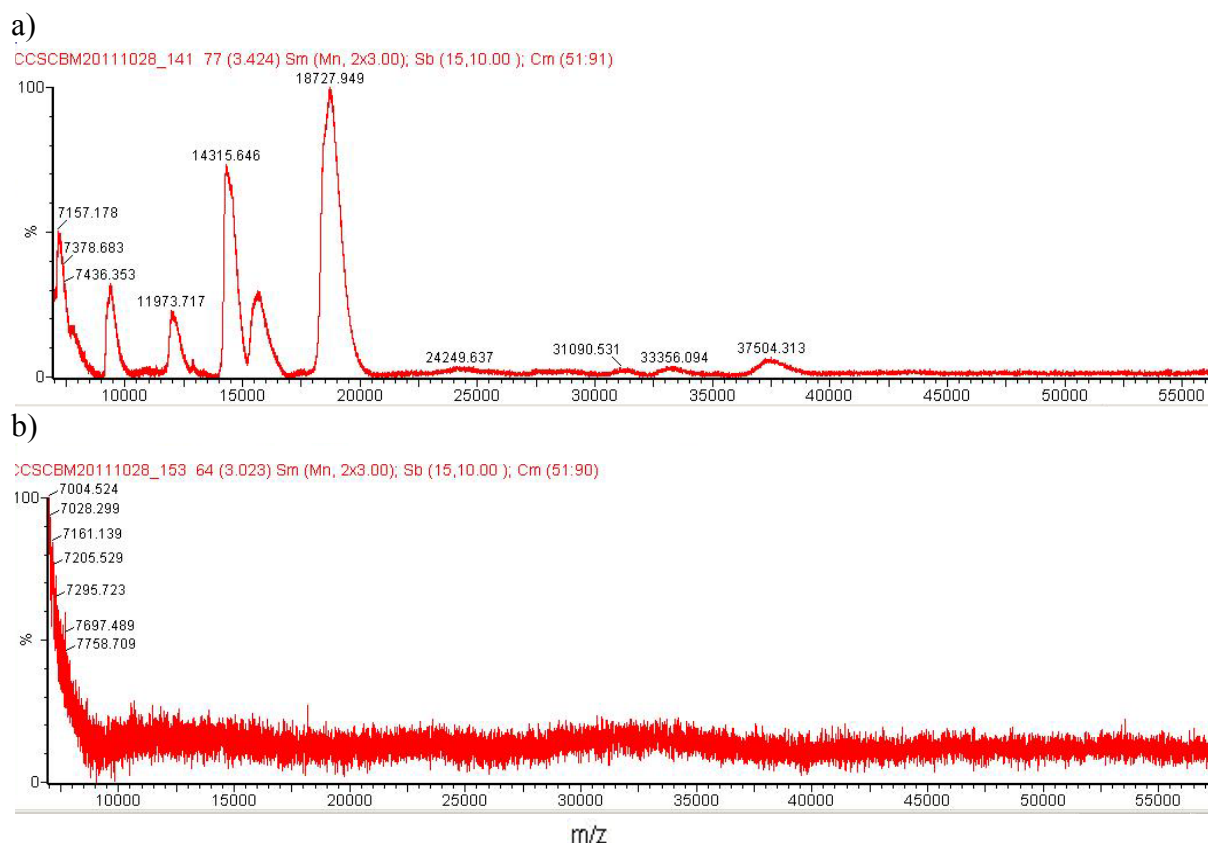


Figura 4.37: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) R1C4 b) R1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Observa-se na Figura 4.37a que a solução de concentrado do soro reconstituído possui proteínas de diferentes tamanhos. O monitoramento de todas as amostras foi feito entre 7 e 60 kDa (faixa que compreende as menores proteínas do soro de leite, e onde encontram-se as proteínas de interesse neste trabalho). Observa-se que existem picos na faixa de 7 kDa. Estes picos podem estar relacionados com peptídeos, aminoácidos e proteínas degradadas (resíduos de caseína, por exemplo) geradas durante os processos de fabricação do queijo. Estes picos também podem estar relacionados com interferentes de baixa massa molar existentes no soro (como lactose e sais minerais) (FONG *et al.*, 2008). Ainda na Figura 4.37a observam-se picos bastante expressivos na faixa de 11 kDa, 14 kDa, 18 kDa. É possível verificar sinais de algumas substâncias ionizáveis entre 24 e 37 kDa. Acredita-se que os picos de 14 e 18 kDa estejam relacionados com as proteínas α -La e β -Lg, respectivamente. Observa-se que a intensidade relativa da β -Lg é superior ao da α -La sugerindo, que a primeira, está em uma maior concentração. Os picos nas massas molares maiores, podem estar relacionados com proteínas que estejam ligadas. A intensidade relativa menor pode estar relacionada com a menor concentração em relação às outras proteínas ou com a dificuldade maior de ionização destas substâncias. Na Figura

4.37b não se observam picos expressivos acima de 7 kDa. Desta forma, acredita-se que para esta solução não houve a passagem de proteínas de interesse para o permeado .

A análise das proteínas do leite por MS é geralmente dificultada pela presença de algumas poucas proteínas muito abundantes que interferem na detecção de proteínas de menor abundância. FONG *et al.* (2008) estudaram o soro de leite bovino por métodos proteômicos, visando elucidar e melhor compreender a composição proteica do leite bovino e sua relação com a bioatividade. Por meio de eletroforese bidimensional e de *reversed phase-liquid chromatography mass spectrometry* (RP-LC-MS-MS), um grande número de proteínas minoritárias de soro de leite foi identificado, algumas das quais não haviam sido relatadas anteriormente.

A Figura 4.38 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de soro reconstituído em pH 5: Figura 4.38a R2C4 e Figura 4.38b R2P4.

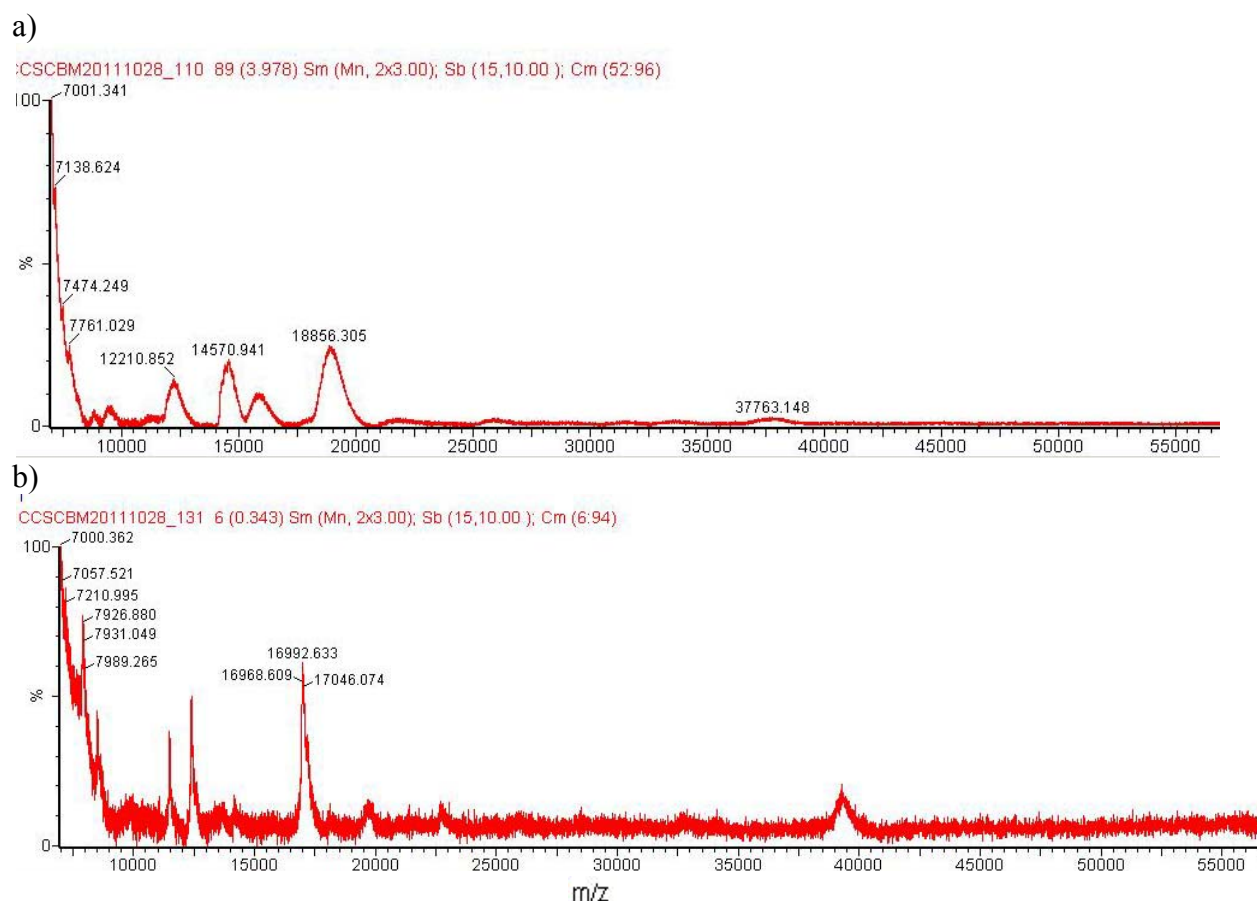


Figura 4.38: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) R2C4 b) R2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Da mesma forma que para o soro reconstituído em pH 6 observa-se na Figura 4.38a que existem sinais na faixa de 7 kDa, assim como em 12, 14 e 18 kDa. Com menor intensidade, vê-se sinais na faixa de 37 kDa. Porém, neste caso, no permeado final do processo (Figura 4.38b) observam-se sinais de proteínas, não somente na faixa de 7 kDa, como também em 12, 16 e 37 kDa. Acredita-se que houve a passagem de uma pequena porção da proteína. Mas, não foi possível identificar qual proteína está presente no permeado, pois na literatura não são relatadas proteínas do soro de leite com massa molar de 16 kDa, portanto, este pico pode estar relacionado a uma associação de proteínas e peptídios.

Segundo KEHOE *et al.* (2007), as moléculas denaturadas têm maior possibilidade de formar aglomerados de proteínas, impedindo a passagem destes monômeros para o permeado. Conforme WIT (1998), a α -La é uma proteína com forte ligação ao cálcio, porém pode polimerizar com outras proteínas formando aglomerados. Se, por exemplo, existir um grupo -SH livre em outra molécula (como por exemplo em monômeros desnaturados de β -Lg), este reage com uma das pontes S-S presente na α -La originando uma associação de proteínas. FOX e MCSWEEENEY (1998) relatam que com a desnaturação por calor, o grupo -SH da β -Lg é exposto e reage com a caseína (e provavelmente com a α -La) com efeitos muito significativos em algumas das propriedades físico-químicas tecnologicamente importantes do leite e do soro. Ainda, é possível acrescentar, segundo HAVEA *et al.* (2001), que o BSA pode formar pontes intermoleculares dissulfeto com moléculas de β -Lg e a α -La, quando estas não se encontram nas suas formas mais estáveis.

Não foram monitorados os sinais acima de 60 kDa, e, por isso, não se pôde verificar a presença de aglomerados ou de proteínas acima desta massa molar, porque para esta faixa de massas molares maior a ionização pode não ser tão efetiva, e algumas proteínas não chegam até o detector.

A Figura 4.39 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de soro *in natura* em pH 6: Figura 4.39a N1C4 e Figura 4.39b N1P4.

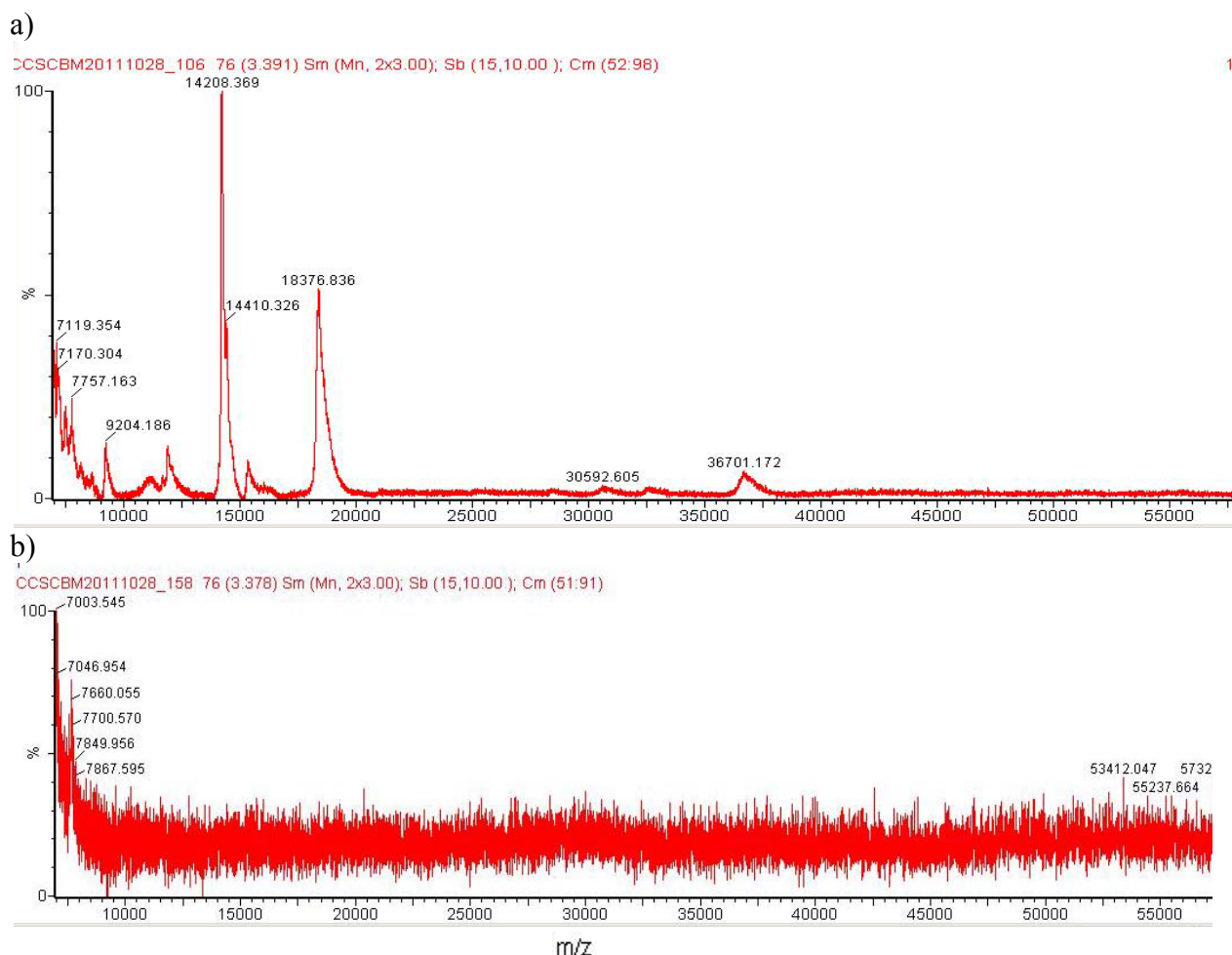


Figura 4.39: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) N1C4 b) c)N1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Na Figura 4.39a observam-se sinais da existência de proteínas em 7, 9, 14, 18, 30 e 36 kDa. Esta amostra de concentrado é oriunda do soro de leite *in natura*. Neste caso observa-se que o sinal em 14 kDa é maior que em 18 kDa, sugerindo que a concentração de α -La é superior que a de β -Lg. Ainda o sinal em 36 kDa pode estar associado a dimerização de β -Lg, o que pode ser possível, pois este soro de leite sofreu tratamento térmico brando, e pode estar com as suas proteínas não desnaturadas irreversivelmente permitindo à sua associação. Na Figura 4.39b não se observam sinais de proteínas acima de 7 kDa.

A Figura 4.40 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de soro *in natura* em pH 5: Figura 4.40a N2C4 e Figura 4.40b N2P4.

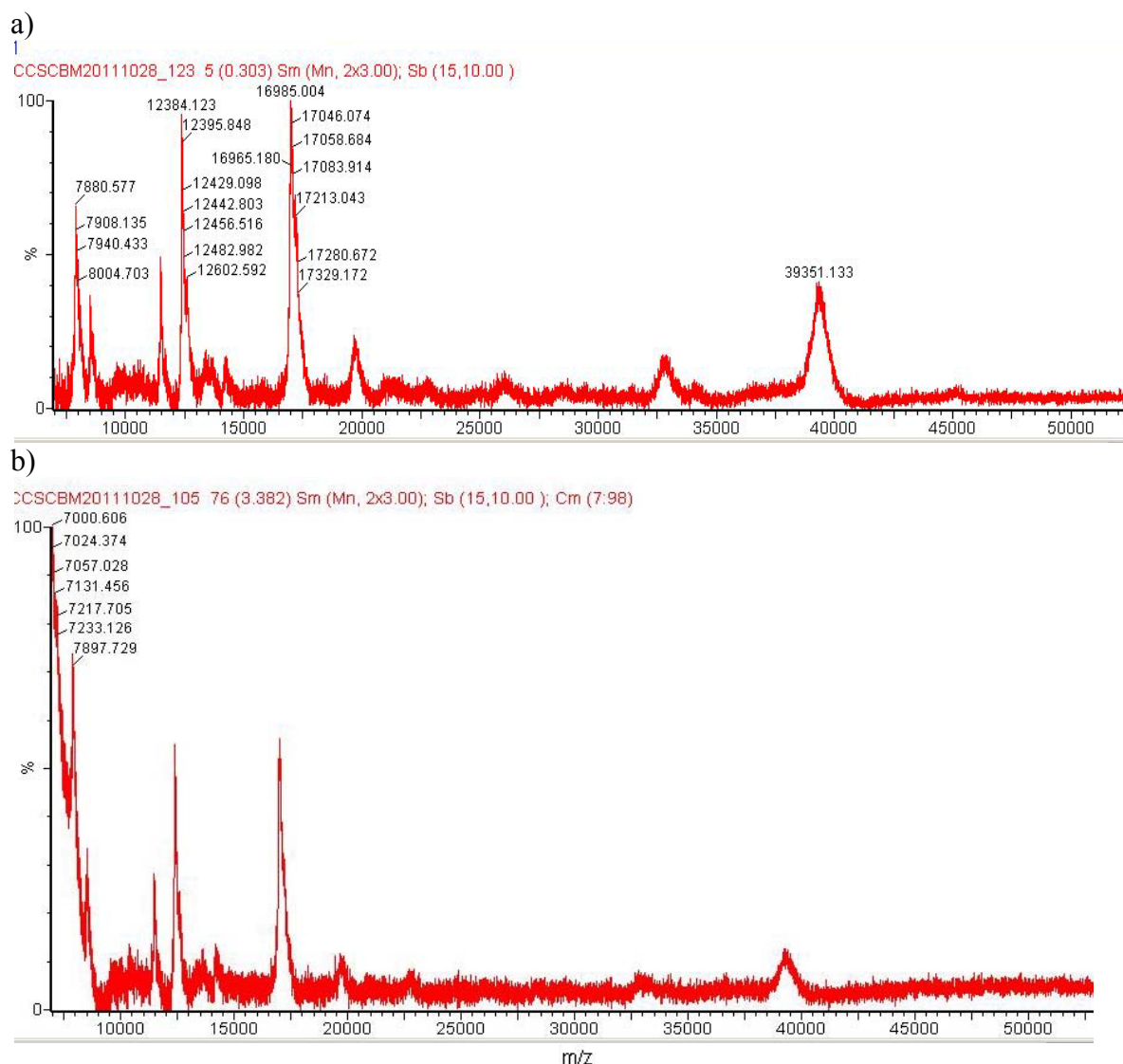


Figura 4.40: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) N2C4 b) N2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Na Figura 4.40a observam-se sinais em 7, 12, 17, 32 e 39 kDa. A amostra inicial deste experimento era a mesma do experimento apresentado na Figura 4.39, no entanto, não foram observados pico idênticos nos dois casos, sugerindo que a mudança de pH proporciona algum tipo de associação entre as proteínas. Os sinais de 14 e 18 kDa não estão claros como no caso anterior. Mas, provavelmente as proteínas α -La e β -Lg estão presentes em solução, mas associadas entre si, ou com outros componentes. O sinal que aparece em 39 kDa pode estar relacionado a este fato.

Na Figura 4.40b observa-se que houve a passagem de uma pequena porção de proteínas, devido a presença de sinais no espectro de massa em 7, 12, 17 e 39 kDa, da mesma forma que na Figura 4.38 b) (permeado do soro reconstituído em pH 5) não se

pode dizer claramente quais proteínas são estas, no entanto, especula-se a associação de proteínas, especialmente pela presença do pico em 39 kDa, pois este valor é superior à massa molar de corte da membrana, e, por isso, a proteína que representa este pico, teoricamente não poderia ter passado através da membrana, portanto, este sinal pode estar relacionado com a associação de duas ou mais proteínas.

A Figura 4.41 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de concentrado proteico comercial em pH 6: Figura 4.41a W1C4 e Figura 4.41b W1P4. E na sequência a Figura 4.42 apresenta os resultados de espectrometria de massas para as amostras de concentrado proteico em pH5: Figura 4.42a W2C4 e Figura 4.42b W2P4.

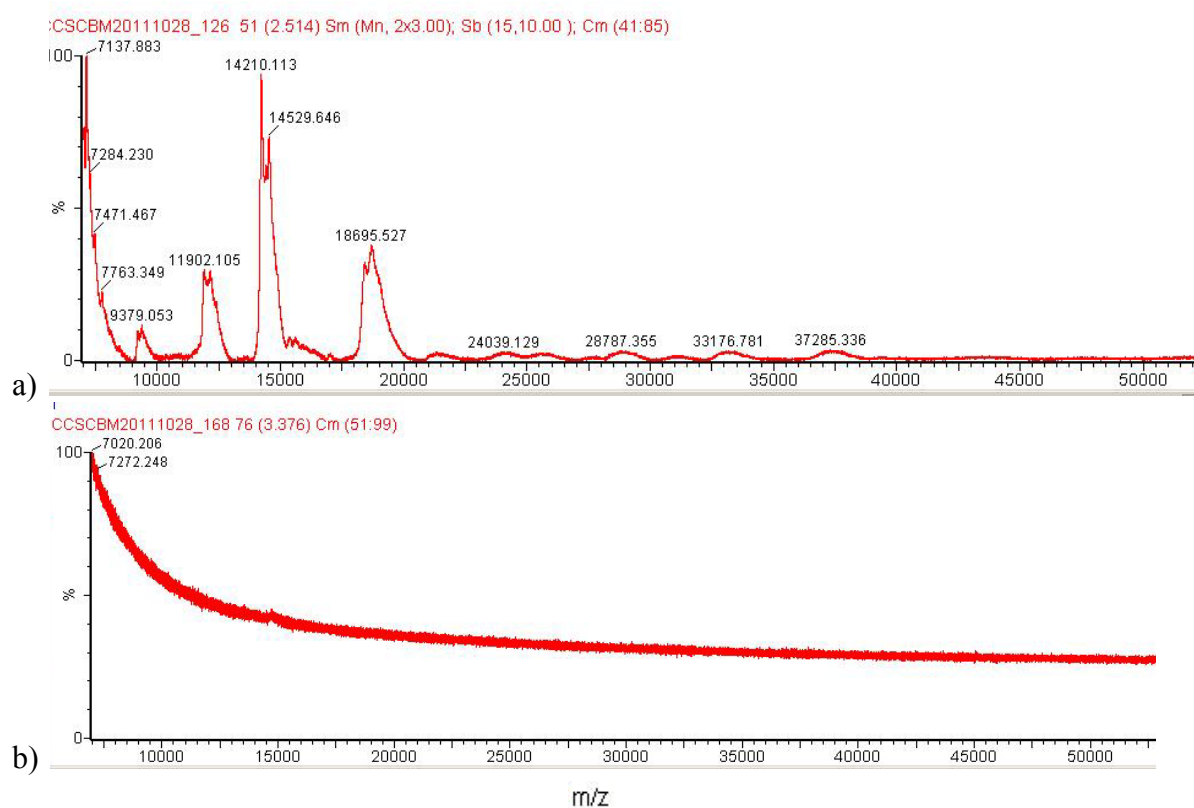


Figura 4.41: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) W1C4 b)W1P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

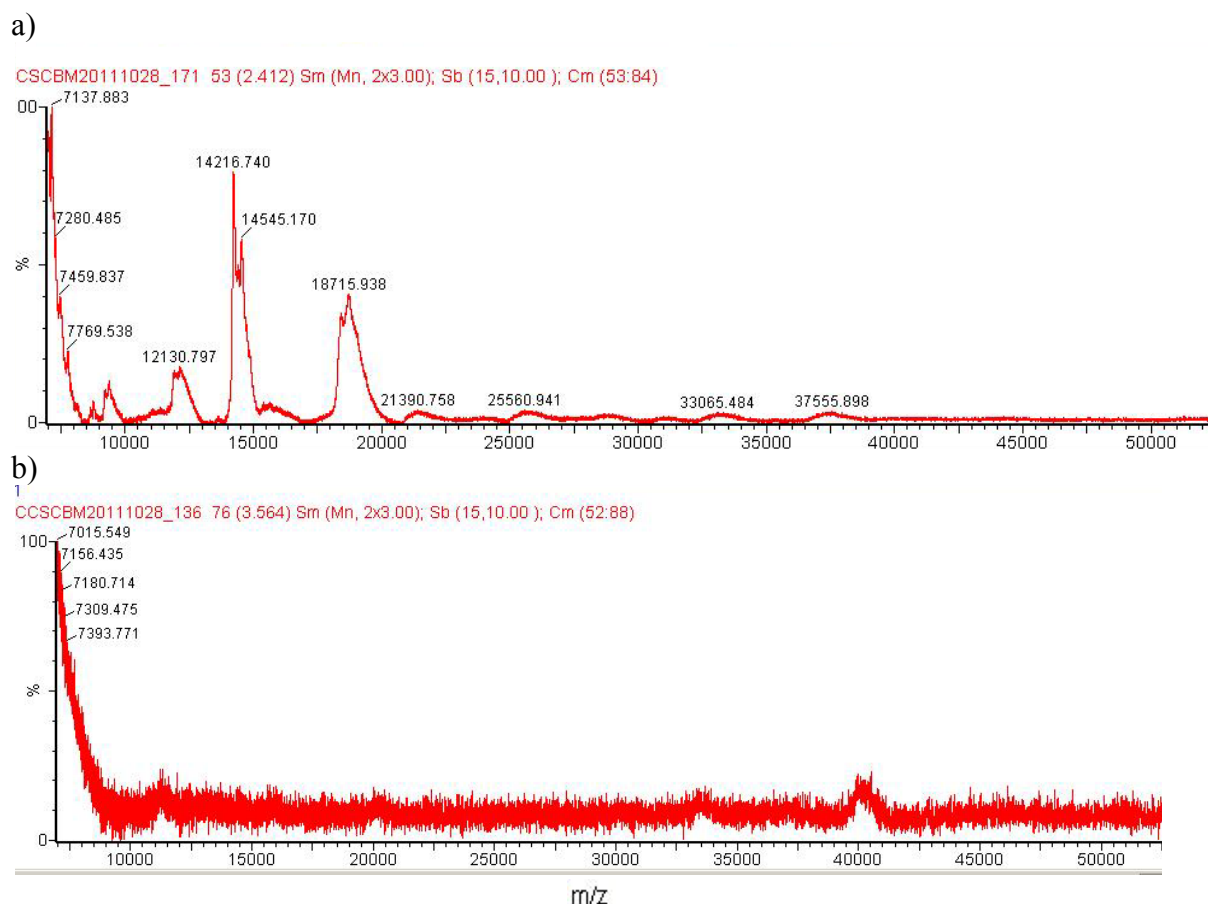


Figura 4.42: Espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras a) W2C4 b) W2P4 em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Na Figura 4.41a e na Figura 4.42a observam-se as amostras dos concentrados proteicos ao final do processo de permeação. Em ambas as amostras verificou-se picos de proteínas em 7, 9, 12, 14 e 18 kDa e com menor intensidade sinais entre 20 e 40 kDa. Nas amostras dos permeados do processo (Figura 4.41b e na Figura 4.42b) não são encontrados sinais relevantes de proteínas acima de 7 kDa, mostrando que para esta solução não houve passagem expressiva de proteína para o permeado, o que já podia ser observado na Tabela 4.5, que mostra a elevada retenção proteica observada para as amostras de concentrado proteico do soro de leite comercial.

Entre as Figura 4.39 e Figura 4.42 observou-se que houve algum tipo de agregação das proteínas em pH 5 especialmente para as amostras de soro reconstituído e soro *in natura*. De qualquer forma a passagem de proteína para o permeado foi baixa, e não houve seletividade expressiva no processo.

Alguns autores relatam em seus estudos a dificuldade de fracionar proteínas através de sistemas de membranas. Segundo LEITE *et al.* (2006) a eficiência da separação de proteínas por sistemas de membranas é limitada pela polarização por concentração. No fracionamento de proteínas, a permeabilidade de uma proteína aumenta com a sua concentração à superfície da membrana. A proteína menos permeável é rejeitada e forma-se uma camada limite de transferência de massa. A permeabilidade da proteína menos permeável aumenta com a sua concentração e a seletividade da membrana diminui. De acordo com FOX e MCSWEENEY (1998) duas principais razões ainda impedem o uso de técnicas de ultrafiltração para obtenção de frações puras de proteínas do soro: valores próximos dos tamanhos de proteínas do soro e, distribuição larga dos tamanhos dos poros das membranas.

Segundo YUNOS e FIELD (2006), o fracionamento da proteína que usa a UF é praticável após a extensiva otimização do processo, contudo a baixa seletividade das membranas é ainda um dos fatores críticos que limitam a aplicação de sistemas da membrana ao fracionamento da proteína. Segundo SMITH (2003), vários processos foram desenvolvidos para se obter frações das proteínas α -La e β -Lg. Em alguns casos ocorre a purificação de somente uma das frações. Para a produção de duas fases purificadas podem ser distintas duas categorias de processo de produção: uma que usa transição de fase (precipitação de α -La e β -Lg), e outra sem transição de fase.

Um processo de separação das proteínas sem transição de fase tem a vantagem de reduzir a probabilidade de desnaturação das proteínas. O uso de membranas para este processo foi estudada extensivamente por TIMMER e VAN DER HORST (1998). Os autores concluíram que a filtração com membranas não resulta em um produto com alto grau de pureza. Isto ocorre devido a diferenças relativamente pequenas das massas molares das proteínas e dos seus pI. Então, a diferença por exclusão de tamanho e/ou por exclusão de Donnan para estes componentes é muito pequena para obter eficiência de separação suficiente e produção de frações com alto grau de pureza das duas frações, α -La e β -Lg, simultaneamente. Segundo estes autores, membranas de filtração podem ser usadas como parte do processo de separação em combinação com um processo de precipitação, por exemplo, para se obter frações de proteína com elevado teor de pureza.

Alguns estudos demonstram a viabilidade de utilizar membranas para separações de proteínas, os dados são obtidos com sistemas que consistem em uma mistura artificial

de duas proteínas previamente purificadas. CHEANG e ZYDNEY (2003), por exemplo, obtiveram uma recuperação de 90 % da β -Lg de uma mistura binária com α -La. Estudos experimentais com misturas multi-componentes complexos na alimentação mostram-se muito mais limitados, e o desempenho total destes sistemas é muito menos impressionante. Por exemplo, com o objetivo de purificar α -La do soro ácido de caseína, MULLER *et al.* (1999) utilizaram processo de UF combinando os modos de operação concentração batelada e DF, e como resultado, obtiveram uma pureza de somente 50% de α -La no permeado final. BOTTOMLEY (1991) descreveu um processo de membrana em dois estágios para a purificação de α -La do soro do queijo Cheddar, mas o produto final continha apenas 25 % de β -Lg. Segundo ZYDNEY (1998), o fracionamento proteico pode ocorrer utilizando membranas carregadas, assim como, associar separação com membranas com outras metodologias como cromatografia e precipitação seletiva. BALDASSO *et al.* (2011) realizaram o fracionamento parcial das proteínas do soro de leite utilizando membranas de MF com tamanho de poro de 0,1 μ m, utilizando pH de octomerização da β -Lg.

Mudanças físico-químicas nas diferentes frações protéicas são conduzidas por tratamentos térmicos, o soro em pó sofre pelo menos três tipos de tratamento de calor: pasteurização, concentração por evaporação e secagem por spray drier. Se o queijo foi do tipo *Mussarela*, ainda existe a etapa de filagem que necessita de calor para ser executada. Segundo SGARBIERI (1996), as proteínas são relativamente termolábeis, mas a pasteurização não desnatura as proteínas, pois o leite é aquecido a 72 °C por apenas 15 segundos. Porém, provavelmente algumas proteínas são inativadas e desnaturadas por tratamentos de calor mais severos, como por exemplo, a concentração por evaporação e a secagem por spray drier. KEHOE *et al.* (2007), afirmam que as proteínas devem ser liofilizadas ao invés de secas em spray drier, porque este processo evita qualquer desnaturação das proteínas.

Certamente, a intensidade desses tratamentos térmicos contribuem para a desnaturação e agregação inicial da β -Lg (incluindo provavelmente a α -La). A presença de dímeros e octômeros de β -Lg também é dependente da temperatura (HAVEA *et al.*, 2001). Além disso, alguns fabricantes adicionam ácido cítrico no processo de produção de queijo (o ácido cítrico complexa Ca^{+2}) o que pode promover a associação de α -La com outras proteínas, na ausência de cálcio livre.

Seria interessante considerar a utilização do chamado soro ideal (o permeado da microfiltração do leite desnatado, onde as proteínas do soro se encontram em estado nativo) e a filtração a baixas temperaturas. Mas, no caso deste trabalho, descaracterizaria os objetivos iniciais que incluem o aproveitamento do efluente da indústria de laticínios.

Capítulo 5

Análise Numérica do Fracionamento de Proteínas por Ultrafiltração

O presente capítulo apresenta uma análise numérica do fracionamento de proteínas e os aspectos teóricos que fundamentam este estudo, com destaque para a transmissão, seletividade, teoria do filme e transportes difusivo e convectivo através da membrana. Esse estudo foi motivado pela tentativa de explicar os fenômenos que acontecem durante a ultrafiltração de soluções de soro de leite, que dificultam a separação de proteínas, conforme visto no Capítulo 4.

O método numérico é apresentado e abrange as equações governantes e as condições de contorno. As características do processo são descritas e incluem as propriedades físicas da solução em estudo (soro de leite), a descrição da célula de UF, as condições do processo (utilizadas experimentalmente) e as considerações feitas ao longo do trabalho numérico.

Ao final do capítulo são apresentados os resultados e a discussão da etapa numérica deste trabalho.

5.1 Aspectos teóricos

Vários estudos têm mostrado que a polarização por concentração aumenta a transmissão aparente das proteínas através das membranas e reduz a seletividade aparente do processo. O mecanismo pelo qual a polarização por concentração reduz a seletividade

é complexo, uma vez que pode envolver a difusão e convecção através da membrana e interações soluto-soluto e soluto-membrana. Quando as interações elétricas podem ser negligenciadas, o fenômeno é estudado com um modelo que combina a equação do filme e o modelo de convecção-difusão de solutos através da membrana. A equação do filme é muitas vezes usada para interpretar os resultados de fracionamento de proteínas. Por exemplo, GHOSH *et al.* (1998) consideraram que os seus resultados de transmissão foram consistentes com um modelo simples baseado na equação do filme com um coeficiente de separação constante. KAUR e AGARWAL (2002) concluíram que os seus resultados eram compatíveis com o modelo do filme combinado com o modelo de convecção-difusão para o transporte de massa através da membrana. O modelo do filme também foi utilizado por GHOSH e CUI (2000) para simular o fracionamento das proteínas por ultrafiltração. Os autores combinaram o modelo de filme com o modelo de convecção-difusão para determinar a influência da velocidade de permeado na seletividade.

A análise da camada de filme estagnado possui, no entanto, uma série de limitações e deficiências significativas, entre elas o fato de ser incapaz de lidar com interações soluto-soluto, com propriedades dependentes da concentração e com interações soluto-membrana (SAKSENA e ZYDNEY, 1997). Algumas tentativas foram feitas para resolver essas limitações através da modificação do modelo do filme. A maioria destas tentativas se concentra nos efeitos da concentração dependente da viscosidade, da difusividade mássica e da pressão osmótica (GEKAS e HALLSTROOM, 1987; AIMAR e FIELD, 1992; MEIEN e NOBREGA, 1994).

SHEN e PROBSTEIN (1977) desenvolveram uma solução numérica para as equações de transferência de massa e de quantidade de movimento para um fluxo tangencial usando as expressões mais gerais para dependência da concentração com a difusividade mássica e a viscosidade. Os resultados foram relativamente insensíveis à variação da viscosidade em contraste com as conclusões de AIMAR e FIELD (1992) e MEIEN e NOBREGA (1994). No entanto, o fluxo de permeado foi afetado significativamente pela concentração dependente da difusividade mássica. SHEN e PROBSTEIN (1977) assumiram que a velocidade de filtração era constante, o que equivale a negligenciar os efeitos da pressão osmótica. Esta suposição torna difícil a aplicação dos seus resultados para os sistemas reais de separação com membranas.

SAKSENA e ZYDNEY (1997) desenvolveram um quadro generalizado para separações multicomponentes. Eles resolveram as equações governantes de conservação incorporando o fluxo difusivo de multicomponentes. O modelo hidrodinâmico assumido foi o de uma célula agitada, onde os perfis de velocidade foram aproximados para resolver analiticamente as equações da continuidade e dinâmica para o fluxo rotativo de um fluido (com viscosidade constante) perto de uma placa estacionária em um sistema ilimitado.

Com os avanços da computação, a abordagem CFD (Computacional Fluid Dynamics) tem sido relatada em vários estudos de polarização por concentração e transporte de solutos em sistemas de separação de membrana (SHENGWEI *et al.*, 2009; MARCOS *et al.*, 2009; SCHWINGE *et al.*, 2004; GHIDOSI *et al.*, 2006). Esses estudos têm demonstrado que a simulação pode fornecer detalhes do fluxo e do processo de transporte de solutos em sistemas de separação por membrana.

Dentro deste contexto, o objetivo desta etapa do trabalho é estudar numericamente o fracionamento de proteínas do soro de leite, a α -lactoalbumina (α -La) de um concentrado proteico de soro (CPS) por ultrafiltração em um módulo de placas paralelas. O estudo consiste em uma etapa experimental, que é iniciada com técnicas de caracterização de membranas (medidas de retenção – Apêndice A) para cálculo do tamanho médio dos poros.

Após a determinação do tamanho do poro o estudo consiste em utilizar o método numérico para quantificar a influência do fenômeno de polarização por concentração na seletividade aparente resultante deste fracionamento. Este estudo de simulação leva em conta a variação da velocidade de permeado e a polarização por concentração ao longo da membrana e a variação das propriedades de transporte e da pressão osmótica com a concentração dos solutos. A seletividade aparente foi obtida resolvendo as equações de conservação com um modelo convectivo-difusivo para o transporte de solutos através da membrana (DEEN, 1987; OPONG e ZYDNEY, 1991). Nessas condições, as seletividades real e aparente, local e média, foram determinadas, a fim de estudar teoricamente as condições de fracionamento ideal.

Nas próximas seções são apresentados os aspectos que fundamentam este estudo: transmissão, seletividade, teoria do filme e transportes difusivo e convectivo através da membrana.

5.1.1 Transmissão e Seletividade

A transmissão real, também chamada de transmissão intrínseca, de um soluto i é expressa na literatura por um coeficiente de separação real (S_i), que é a relação entre a concentração do soluto no permeado (C_i^p) e concentração do soluto na superfície da membrana (C_i^m):

$$S_i = \frac{C_i^p}{C_i^m} \quad (5.1)$$

A retenção intrínseca de um soluto i é expressa por:

$$R_i = \frac{C_i^m - C_i^p}{C_i^m} = 1 - S_i \quad (5.2)$$

A retenção observada ($R_{i\,obs}$) pode ser estimada por:

$$R_{i\,obs} = \frac{C_i^{in} - C_i^p}{C_i^{in}} \quad (5.3)$$

onde C_i^{in} e C_i^p (kg.m^{-3}); são, respectivamente, as concentrações de soluto na solução de alimentação e no permeado. O valor de R_{obs} varia entre 1 – retenção completa do soluto – e 0 – soluto e solvente atravessam livremente a membrana.

A seletividade real (σ) quantifica a eficiência do fracionamento do soluto e é definida por:

$$\sigma = \frac{S_i}{S_j} = \frac{1 - R_i}{1 - R_j} \quad (5.4)$$

Entretanto, o coeficiente de separação aparente (S_{ap_i}), definido pela razão entre a concentração do soluto i no permeado (C_i^p) e a concentração deste mesmo soluto na

corrente *bulk* (C_i^{in}), é mais utilizado quando se trata de dados experimentais, conforme a Equação 5.5 mostra:

$$S_{ap_i} = \frac{C_i^p}{C_i^{in}} \quad (5.5)$$

A seletividade aparente (σ_{ap}) é, então, definida por:

$$\sigma_{ap} = \frac{S_{ap_i}}{S_{ap_j}} = \frac{\frac{C_i^p}{C_i^{in}}}{\frac{C_j^p}{C_j^{in}}} \quad (5.6)$$

onde i representa o soluto preferencialmente transmitido e j o soluto preferencialmente retido.

5.1.2 Teoria do filme

Usualmente assume-se que a concentração na superfície da membrana (C_m) é maior que a concentração da alimentação (C_b), devido ao acúmulo de soluto na superfície da membrana ocasionado pela polarização por concentração. Esse comportamento pode ser descrito de forma aproximada pelo chamado modelo do filme, ou modelo do filme polarizado. De acordo com este modelo, a C_m diminui conforme a distância da membrana aumenta, até igualar-se a C_b . Um balanço de massa num volume de controle na vizinhança da parede porosa retorna uma equação para o fluxo permeado (solução da equação diferencial do balanço de massa) em função das concentrações. A Figura 5.1 ilustra o estudo em questão; isto é, a solução escoia tangencialmente à superfície da membrana e é forçada perpendicularmente a esta. O volume de controle diferencial é escolhido de tal forma que represente o fluxo através da membrana.

$$J = k \ln \left(\frac{C_m - C_p}{C_b - C_p} \right) \quad (5.9)$$

Rearranjando e substituindo as expressões de R e R_{obs} (Equações 5.2 e 5.3) tem-se:

$$\ln \frac{1 - R_{obs}}{R_{obs}} = \ln \frac{1 - R}{R} + \frac{J}{k} \quad (5.10)$$

5.1.3 Transporte Difusivo e Convectivo através da Membrana

De acordo com o modelo de OPONG e ZIDNEY (1991), os solutos são transmitidos através da membrana devido aos mecanismos de difusão e de convecção. O fluxo total do soluto i através da membrana é dado pela Equação 5.11:

$$N_i = K_i^c V_m C_i - K_i^d D_{i,\infty} \frac{dC_i}{dZ} \quad (5.11)$$

onde C_i é a concentração do componente i , V_m é a velocidade do permeado, $D_{i,\infty}$ é a difusividade mássica do componente i e K_i^c e K_i^d são, respectivamente, os fatores de retardamento de transporte de convecção e de transporte difusivo do componente i .

A difusividade mássica de uma proteína em uma solução aquosa diluída, $D_{i,\infty}$, é definida por:

$$D_{i,\infty} = 8,34 \times 10^{-15} \left(\frac{T}{\mu M_i^{1/3}} \right) \quad (5.12)$$

onde T é a temperatura absoluta, μ é viscosidade dinâmica da solução, e M_i é a massa molar do componente i .

O modelo desenvolvido por OPONG e ZIDNEY (1991) implica na determinação do coeficiente real de separação para cada componente ao longo da membrana, em função da velocidade de permeação dado por:

$$S_i = \frac{S_{i,\infty} \exp \left[(S_{i,\infty} V_m \delta_m) / D_{i,eff} \right]}{S_{i,\infty} + \exp \left[(S_{i,\infty} V_m \delta_m) / D_{i,eff} \right] - 1} \quad (5.13)$$

onde $S_{i,\infty}$ é o coeficiente de separação assintótico intrínseco do componente i , δ_m a espessura da membrana e $D_{i,eff}$ a difusividade mássica efetiva do componente i ao longo dos poros da membrana.

Substituindo a Equação 5.13 na Equação 5.2, a retenção do componente i é expressa pela Equação 5.14.

$$R_i = 1 - \frac{S_{i,\infty} \exp\left[(S_{i,\infty} V_m \delta_m) / D_{i,eff}\right]}{S_{i,\infty} + \exp\left[(S_{i,\infty} V_m \delta_m) / D_{i,eff}\right]} - 1 \quad (5.14)$$

De acordo com OPONG e ZIDNEY (1991), a difusividade mássica efetiva do componente i ao longo dos poros da membrana, $D_{i,eff}$, é definida pela Equação 5.15 e o coeficiente de separação assintótico intrínseco do componente i é proporcional ao coeficiente de transporte convectivo K_i^C (Equação 5.16).

$$D_{i,eff} = D_{i,\infty} \phi_i^p K_i^d \quad (5.15)$$

$$S_{i,\infty} = \phi_i^p K_i^c \quad (5.16)$$

onde a constante de proporcionalidade, ϕ_i^p , representa o coeficiente de partição de equilíbrio. Este coeficiente, novamente de acordo com OPONG e ZIDNEY (1991), é definido pela Equação 5.17:

$$\phi_i^p = (1 - \lambda_i)^2, \quad 0 < \lambda_i < 1 \quad (5.17)$$

onde o parâmetro λ_i depende do raio molecular do componente i , r_i^* , e da área específica dos poros da membrana, s , conforme dado pela Equação 5.18.

$$\lambda_i = \frac{r_i^*}{2s} \quad (5.18)$$

O valor do parâmetro λ_i foi calculado através da Equação 5.18. O parâmetro s , que caracteriza o tamanho de poro, foi obtido experimentalmente, através da caracterização da membrana com soluções de polietilenoglicol (PEG), conforme descrito no Apêndice A.

Os fatores de retardamento de transporte de convecção e difusão do componente i , K_i^c and K_i^d , são dependentes do valor de λ_i , e também foram determinados no presente estudo de acordo com OPONG e ZIDNEY (1991), conforme mostram as Equações 5.19 e 5.20.

$$K_i^c = \frac{(2-\phi) \cdot K_i^s}{2 \cdot K_i^t} \quad (5.19)$$

$$K_i^d = \frac{6\pi}{K_i^t} \quad (5.20)$$

As funções K_i^t e K_i^s são expressas com expansões em λ , como mostra a Equação 5.21 e os coeficientes a_n e b_n estão apresentados na Tabela 5.1.

$$\begin{pmatrix} K_i^t \\ K_i^s \end{pmatrix} = \frac{9}{4} \pi^2 \sqrt{2} (1-\lambda_i)^{-5/2} \left[1 + \sum_{n=1}^2 \begin{pmatrix} a_n \\ b_n \end{pmatrix} (1-\lambda_i)^n \right] + \sum_{n=0}^4 \begin{pmatrix} a_{n+3} \\ b_{n+3} \end{pmatrix} \lambda_i^n \quad (5.21)$$

Tabela 5.1: Coeficientes de expansão a_n e b_n para funções hidrodinâmicas K_s e K_t da Equação 5.21.

Subscrito n	a_n	b_n
1	-73/60	7/60
2	77293/50400	-2227/50400
3	-22,5083	4,0180
4	-5,6117	-3,9788
5	-0,3363	-1,9215
6	-1,216	4,392
7	1647	5,006

Fonte: OPONG e ZIDNEY (1991).

Dentre os números adimensionais utilizados, o número de Reynolds (Re) está baseado na altura do canal, ou seja,

$$Re = \frac{\rho V_0 H}{\mu} \quad (5.22)$$

onde: ρ é a massa específica da solução (kg.m^{-3}); V_0 é velocidade média do fluido na região entre placas (m.s^{-1}); H é a distância entre as placas do módulo de membranas (m); μ é a viscosidade dinâmica do fluido (Pa.s).

O número de Peclet da transferência de massa do componente i , Pe_i é por definição:

$$Pe_i = \frac{V_0 H}{D_i} \quad (5.23)$$

onde D_i é a difusividade mássica do soluto i ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

O número de Schmidt do componente i , Sc_i é por definição:

$$Sc_i = \frac{Pe_i}{Re} \quad (5.24)$$

5.2 Método Numérico

Nesta seção o método numérico utilizado é apresentado, incluindo as equações governantes e as condições de contorno pertinentes ao problema.

5.2.1 Equações Governantes

Na apresentação que segue todas as variáveis escritas em letras maiúsculas são variáveis dimensionais e as escritas em letras minúsculas são variáveis normalizadas: as velocidades são normalizadas pela velocidade média de alimentação, V_0 ; as concentrações, pela concentração de alimentação, C_0 e as coordenadas normal (z) e longitudinal (x), pela altura da célula, H .

O escoamento da célula é descrito pela equação de conservação de massa e pelas equações de *Navier-Stokes*, apresentadas a seguir, para uma célula bidimensional, considerando o escoamento incompressível e a viscosidade dinâmica variável.

$$\frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_z}{\partial z} = 0 \quad (5.25)$$

$$\frac{\partial v_x}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_x}{\partial x} + v_z \frac{\partial v_x}{\partial z} = -Eu_0 \frac{\partial p}{\partial x} + \left[\frac{\partial \left(2 \frac{1}{Re} \frac{\partial v_x}{\partial x} \right)}{\partial x} + \frac{\partial \left(\frac{1}{Re} \frac{\partial v_z}{\partial x} + \frac{1}{Re} \frac{\partial v_x}{\partial z} \right)}{\partial z} \right] \quad (5.26)$$

$$\frac{\partial v_z}{\partial t} + v_x \frac{\partial v_z}{\partial x} + v_z \frac{\partial v_z}{\partial z} = -Eu_0 \frac{\partial p}{\partial z} + \left[\frac{\partial \left(2 \frac{1}{Re} \frac{\partial v_z}{\partial z} \right)}{\partial z} + \frac{\partial \left(\frac{1}{Re} \frac{\partial v_z}{\partial x} + \frac{1}{Re} \frac{\partial v_x}{\partial z} \right)}{\partial x} \right] \quad (5.27)$$

As equações adimensionalizadas de *Navier-Stokes* podem ser escritas por variáveis secundárias (vorticidade, ω e função linhas de corrente, Ψ) nas coordenadas cartesianas (x na direção tangencial à membrana e z na direção normal à membrana).

$$v_z = -\frac{\partial \Psi}{\partial x} \quad v_x = \frac{\partial \Psi}{\partial z} \quad (5.28)$$

$$\omega = \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x^2} \quad (5.29)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial \omega}{\partial t} + \frac{\partial \omega}{\partial x} \left(v_x - 2 \frac{\partial \gamma_{Re}}{\partial x} \right) + \frac{\partial \omega}{\partial z} \left(v_z - 2 \frac{\partial \gamma_{Re}}{\partial z} \right) = \\ = \omega \left(\frac{\partial^2 \gamma_{Re}}{\partial x^2} \right) + \frac{1}{Re} \left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \omega}{\partial z^2} \right) + S \end{aligned} \quad (5.30)$$

onde S é:

$$S = -2 \frac{1}{Re} \left(\frac{\partial^2 \gamma_{Re}}{\partial x^2} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z^2} - 2 \frac{\partial^2 \gamma_{Re}}{\partial x \partial z} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x \partial z} + \frac{\partial^2 \gamma_{Re}}{\partial z^2} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x^2} \right) \quad (5.31)$$

Nestas equações, x representa a direção longitudinal normalizada, z a direção transversal normalizada e Re o número de Reynolds (Equação 5.22).

A Equação 5.29 é uma equação do tipo *Poisson*, e a Equação 5.30 é a equação da vorticidade para viscosidade variável. A equação de transporte da vorticidade compreende dois termos convectivos, um termo independente, um termo difusivo e um termo *fonte* S .

Esta forma da equação de *Navier-Stokes* é uma alternativa interessante quando o fluxo é bidimensional, e por isso, é comumente utilizada em tais casos, pois facilita a programação de um código numérico.

A equação de transporte de massa em coordenadas retangulares é:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + v_x \frac{\partial c}{\partial x} + v_z \frac{\partial c}{\partial z} = \left(\frac{\partial}{\partial x} \frac{1}{Pe} \frac{\partial c}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{Pe} \frac{\partial c}{\partial z} \right) \quad (5.32)$$

A equação de transporte de massa foi discretizada após uma mudança de variável, $\phi = \ln c$, com o intuito de linearizar os perfis de concentração. Esse tipo de mudança de variável foi aplicada por ZYDNEY (1997) para fornecer uma compreensão mais detalhada da base matemática para o modelo do filme. Esta mudança de variável é feita para linearizar os perfis de concentração ao longo da membrana (MIRANDA e CAMPOS, 2001). A Equação 5.32, após a mudança de variável, torna-se:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \frac{\partial \phi}{\partial x} \left(v_x - \frac{\partial}{\partial x} \frac{1}{Pe} - \frac{1}{Pe} \frac{\partial \phi}{\partial x} \right) + \frac{\partial \phi}{\partial z} \left(v_z - \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{Pe} - \frac{1}{Pe} \frac{\partial \phi}{\partial z} \right) = \frac{1}{Pe} \left(\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} \right) \quad (5.33)$$

As equações de escoamento e de transporte de soluto são equações diferenciais não lineares que possuem resolução analítica somente em situações muito simples e, em geral, necessitam ser resolvidas por métodos numéricos. Os métodos numéricos podem ser divididos em três grandes grupos: i- diferenças finitas, ii- volumes finitos, iii- elementos finitos, sendo que todos eles seguem o mesmo procedimento: o domínio de integração é transformado numa malha de nodos ou elementos discretos e as equações diferenciais governantes e condições de contorno são transformadas por discretização num sistema de equações algébricas. A resolução do sistema de equações algébricas permite obter a velocidade e a concentração de soluto para todos os nodos ou elementos da malha. A concentração de soluto pode ser utilizada para determinar o fluxo e o coeficiente de transferência de massa.

O transporte de massa em membranas é mais complexo de ser investigado por métodos numéricos que o transporte de massa em sistemas impermeáveis. Em membranas de separação, o fluxo de permeado não depende somente do número de Reynolds e do número de Schmidt, mas, também, de parâmetros relacionados com a resistência da membrana, a concentração de soluto e a diferença de pressão entre os dois lados da membrana. As equações de escoamento e de transporte de massa necessitam ser resolvidas de forma acoplada. A resolução simultânea das equações e o número de parâmetros envolvidos tornam os estudos numéricos de membranas bastante complexos.

5.2.2 Domínio Numérico, Convergência e Malha Numérica

O domínio numérico representa metade da célula física – uma vez que a célula é simétrica - e está mostrada na Figura 5.2. O domínio compreende a seção de entrada, a seção de saída e a membrana.

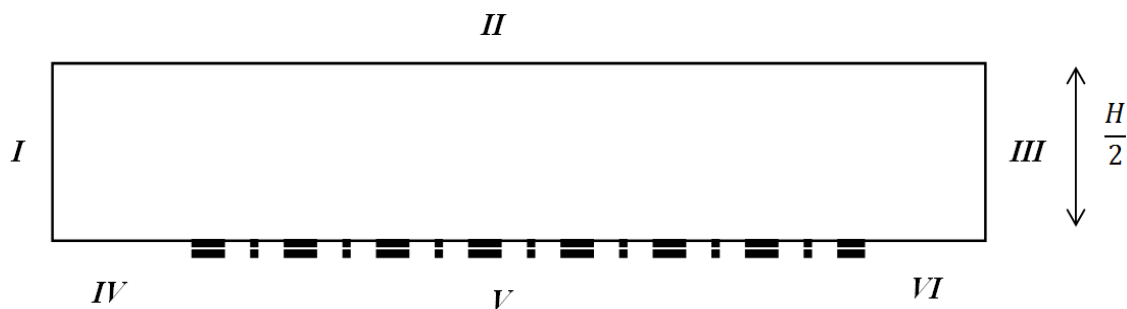


Figura 5.2: Representação esquemática do domínio numérico.

O domínio foi convertido em uma malha de nós discretos (Figura 5.3). A malha utilizada neste trabalho é ortogonal e não-uniforme, isto é, mais refinada nas zonas inicial e final e na camada sobre a membrana, zonas onde os gradientes de concentração e de velocidade têm seus valores mais altos.

A malha utilizada para realizar as simulações apresenta 1400×1201 nós, e está representada na Figura 5.3, onde também estão mostradas as dimensões da malha.

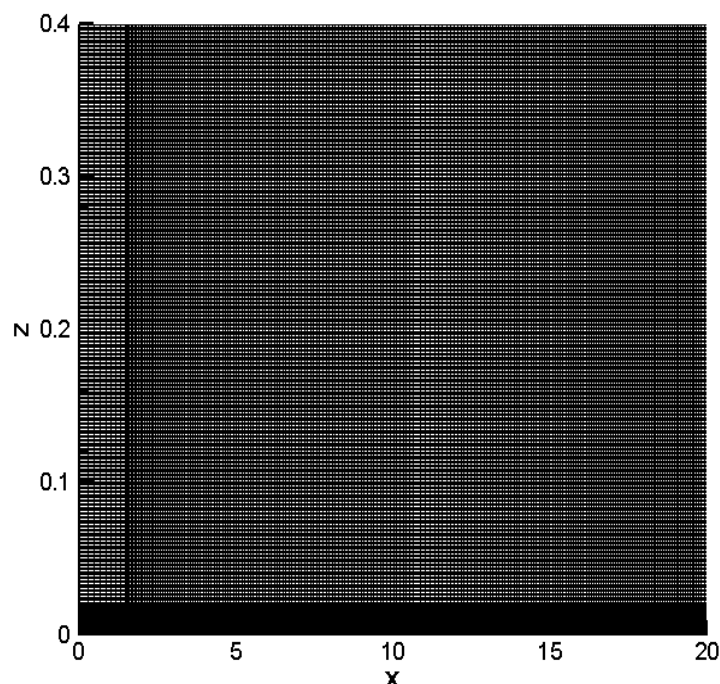


Figura 5.3: Dimensões da malha para o caso em estudo.

As equações foram resolvidas simultaneamente pelo método das diferenças finitas, procedimento geral descrito em MIRANDA e CAMPOS (2001). Para resolução do sistema de equações utiliza-se o sistema operativo *Linux Ubuntu*, a linguagem computacional é *Fortran*, o programa *MembSim* desenvolvido pela equipe do CEFT/FEUP - Centro de Estudos de Fenômenos de Transporte da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

5.2.3 Características e considerações do modelo

A solução das equações de conservação por CFD permitem a determinação do campo de velocidades e da concentração dos solutos na célula (módulo). Os seguintes itens são considerados:

1. a velocidade do permeado e a concentração dos solutos variam ao longo da superfície da membrana;
2. a concentração depende das propriedades de transporte, da viscosidade dinâmica da solução e da difusividade mássica dos solutos e, ainda, a pressão osmótica depende da concentração;
3. a passagem seletiva dos solutos através da membrana está de acordo com o modelo difusivo-convectivo (OPONG e ZYDNEY, 1991);

4. o regime do escoamento é laminar;
5. interações elétricas soluto-soluto e soluto-membrana são desprezadas;
6. as características de transporte para uma substância simples, para misturas binárias e misturas complexas são equivalentes;
7. a massa específica do fluido é constante, uma vez que sua variação não é significativa na faixa de concentração de interesse;
8. o *fouling* na superfície da membrana, que pode alterar as propriedades de fracionamento, foi desprezado.

5.2.4 Condições de contorno

A maioria das condições de contorno são listadas em estudos anteriores publicados por AFONSO *et al.* (2009); MIRANDA e CAMPOS (2000; 2001), e estão detalhadas a seguir.

Entrada da célula

Para efeito de estudo numérico, na entrada do módulo (seção I na Figura 5.2), em uma célula bidimensional foi considerado um escoamento completamente desenvolvido. O escoamento é paralelo às paredes e a concentração é normalizada para cada soluto.

$$\begin{aligned}
 v_z = 0 \quad v_x = \frac{3}{2} [1 - 4 \times (0,5 - z)^2] \quad \psi = \frac{3}{2} z + 2 \left(\frac{1}{2} - z \right)^3 \\
 \omega = 12 \left(\frac{1}{2} - z \right) \quad c = 1 \quad \phi = 0
 \end{aligned} \tag{5.34}$$

Plano médio da célula

Na metade do módulo (seção II na Figura 5.2), tem-se um plano de simetria e, assim, os fluxos de massa e de quantidade de movimento são nulos.

$$v_z = 0 \quad \frac{\partial v_x}{\partial z} = 0 \quad \psi = \frac{1}{2} \quad \omega = 0 \quad \frac{\partial c}{\partial z} = 0 \quad \frac{\partial \phi}{\partial z} = 0 \tag{5.35}$$

A condição de simetria impõe que haja duas membranas, uma de cada lado. Nesta condição a formulação linha de corrente-vorticidade simplifica a solução numérica das equações de Navier Stokes (nesta solução a altura da célula é o dobro da distância da parede ao eixo). Contudo a solução a que se chega é a mesma que se chegaria no caso de se ter uma só membrana. Admitindo tensão de corte na parede com e sem membrana iguais a solução será a correta para uma célula com altura igual a distância h (que é utilizada no programa).

Além do mais, a membrana perturba muito ligeiramente o escoamento, e apenas junto à membrana. Logo o escoamento é praticamente simétrico, mesmo que se use apenas uma membrana. Quanto ao transporte de massa, a membrana cria uma camada limite muito fina junto à membrana, mas não perturba a concentração *bulk*, que permanece igual à concentração de entrada. Por este motivo, mesmo que só exista uma membrana, a distribuição de concentração pode ser considerada simétrica no eixo.

Saída da célula

Na saída do módulo (seção III na Figura 5.2), assume-se um perfil de escoamento laminar e também um perfil de concentração de solutos completamente desenvolvidos.

$$v_z = 0 \quad \frac{\partial v_x}{\partial x} = 0 \quad \frac{\partial \psi}{\partial x} = 0 \quad \frac{\partial \omega}{\partial x} = 0 \quad \frac{\partial c}{\partial x} = 0 \quad \frac{\partial \phi}{\partial x} = 0 \quad (5.36)$$

Superfície da membrana

Na superfície da membrana (seção V na Figura 5.2), o líquido não tem componente de velocidade ao longo de x . Em um processo de pressão controlada, a velocidade de permeado, $v_m = -v_z(x, 0)$, pode ser expressa pela Equação 5.37, que é a razão entre a força e a resistência ao fluxo (LONDSALE *et al.*, 1965):

$$v_m = \frac{\Delta P_0 - (\Delta \pi_{\beta-Lg} + \Delta \pi_{\alpha-La})}{\mu_p R_m V_0} = \frac{\Delta P_0 - (\pi_{\beta-Lg}^m - \pi_{\beta-Lg}^p) - (\pi_{\alpha-La}^m - \pi_{\alpha-La}^p)}{\mu_p R_m V_0} \quad (5.37)$$

onde π^m e π^p representam, respectivamente, a pressão osmótica na superfície da membrana e no fluxo permeado, R_m a resistência da membrana e μ_p a viscosidade dinâmica do permeado.

A pressão osmótica, em ambos os lados da membrana, é função da concentração dos solutos, sendo que essa dependência será expressa em termos dos coeficientes de rejeição. Introduzindo os coeficientes de rejeição - Equação 5.2 - de ambos os componentes, a Equação 5.37 torna-se:

$$v_m = \frac{\Delta P_0 - 1,7(C_{\alpha-La}^m - C_{\alpha-La}^m(1 - R_{\alpha-La}) + C_{\beta-Lg}^m - C_{\beta-Lg}^m(1 - R_{\beta-La}))}{\mu_p R_m V_0} \quad (5.38)$$

Na superfície da membrana, $v_m = -v_z(x, 0)$ e, para cada componente, a diferença entre o fluxo convectivo promovido pela sucção e o fluxo através da membrana é igual ao fluxo difusivo na direção oposta promovido pelo gradiente de concentração entre a superfície da membrana e a do escoamento. Matematicamente, normalizando a Equação 5.7 e adicionando o número de Peclet mássico (Equação 5.23), chega-se a Equação 5.39.

$$-\frac{1}{Pe_i} \frac{\partial c_i}{\partial z} = v_m (c_i^m - c_i^p) \quad (5.39)$$

Em termos de coeficientes de retenção, a equação anterior torna-se:

$$-\frac{1}{Pe_i} \frac{\partial c_i}{\partial z} = c_i^m v_m R_i \quad (5.40)$$

Todas as condições de contorno na superfície da membrana são representadas na Tabela 5.2.

Tabela 5.2: Condições de contorno na superfície da membrana para um componente genérico.

Região V
$v_x = 0$
Equação 5.38
$\psi = -\frac{1}{2} + \int -v_z dx$
$\omega = \frac{\partial v_x}{\partial z} + \frac{\partial v_z}{\partial x}$
$-\frac{1}{Pe_i} \frac{\partial c_i}{\partial z} = v_z c_i R_i$
$-\frac{1}{Pe_i} \frac{\partial \Phi_i}{\partial z} = v_z R_i$

A fim de avaliar o desempenho do processo de separação foram utilizadas algumas variáveis médias, definidas por:

- a concentração de soluto média normalizada na superfície da membrana (dizer o que representa cada variável), $\bar{c}_{\beta-Lg}^{-m}$ e $\bar{c}_{\alpha-La}^{-m}$

$$\bar{c}_{\beta-Lg}^{-m} = \frac{\int_0^{L_m} c_{\beta-Lg}^m(x, 0) v_z(x, 0) dx}{\int_0^{L_m} v_z(x, 0) dx}, \quad \bar{c}_{\alpha-La}^{-m} = \frac{\int_0^{L_m} c_{\alpha-La}^m(x, 0) v_z(x, 0) dx}{\int_0^{L_m} v_z(x, 0) dx} \quad (5.41)$$

- a velocidade média normalizada na superfície da membrana,

$$\bar{v}_m = \frac{\int_0^{L_m} v_z(x, 0) dx}{\int_0^{L_m} dx} \quad (5.42)$$

onde x é a coordenada horizontal normalizada e medida a partir do início da membrana.

A seletividade média, real ou aparente, é definida através de valores médios de concentração dados pelas equações anteriormente apresentadas.

5.3 Características do Processo de Separação por Membranas

Nesta seção são apresentadas as propriedades físicas da solução em estudo, a descrição da célula de UF, as condições do processo e as considerações feitas ao longo do trabalho.

5.3.1 Propriedades do Concentrado Proteico do Soro

A solução de estudo é um concentrado proteico do soro de leite (CPS); para o fracionamento das proteínas do soro de leite o seguinte processo pode ser visualizado: o CPS flui, sob pressão, através da membrana, a qual permite a passagem de água e de algumas proteínas que irão constituir a solução chamada de permeado cujas partículas são de tamanho inferior aos poros da membrana; as proteínas com tamanho superior aos poros da membrana são retidas, sendo que a esta solução chamamos de concentrado.

A fração proteica do soro contém um grupo de proteínas globulares: β -lactoglobulina (β -Lg), α -lactoalbumina (α -La), Albumina do soro bovino (BSA), Imunoglobulinas (Ig), Lactoferrina, Lactoperoxidase, Proteose-peptonas, entre outras.

As proteínas do soro em maior concentração são a β -Lg e α -La e constituem 70 a 80% das proteínas totais do soro. A β -Lg representa cerca de 50% e a α -La, cerca de 25% das proteínas totais do soro de leite; as demais proteínas somam os outros 25% do total e possuem massa molar superior a da β -Lg (MATTILA-SANDHOLM e SAARELA, 2003).

O retido é rico no soluto com menor transmissão - β -Lg e o permeado é rico no soluto com maior transmissão - α -La. Para fins de estudo numérico foi considerado que o fracionamento através da UF se dá entre estas duas proteínas; na realidade, outras proteínas estão presentes e possuem massa molar superior a da β -Lg, devendo, portanto, serem retidas juntamente com esta molécula. Uma vez que a β -Lg é a proteína em maior concentração (mais da metade das proteínas do CPS) e a menor proteína que deve permanecer retida será considerado que as características do retido são correspondentes as da β -Lg.

As características das proteínas em maior concentração no soro de leite, e que são objeto de estudo neste trabalho, estão dispostas na Tabela 5.3. Dois casos foram estudados: B1 quando a β -Lg está em sua forma nativa (como um monômero esférico) e

B2 quando a β -Lg está conformada em dímeros (dois monômeros esféricos unidos por ligações não covalentes – forma mais estável, como estaria encontrada naturalmente no soro de leite).

Tabela 5.3: Massa molar, raio molecular, difusividade mássica, concentração e porcentagem mássica das principais proteínas do soro.

Compo- nente	Proteína	Massa molar (kDa)	Concentração CPS (kg. m ⁻³)	Teor de proteína no CPS (%)	Raio Molecular (r_i^*) (nm)	Difusividade mássica (D) (m ² . s ⁻¹)
A	α -La	14,1	9	25	1,56	$6,4 \times 10^{-11}$
B1	β -Lg	18,3*	27	75	1,79	$4,6 \times 10^{-11}$
B2	β -Lg	36,6**	27,0	75	2,63	$3,6 \times 10^{-11}$

* considerando β -Lg como um monômero; **considerando β -Lg como um dímero.

Fonte: adaptada de MILLER *et al.* (2000); ZYDNEY (1998); WONG *et al.* (1999), JELEN (1978).

Segundo JELEN (1979) as difusividades mássicas (D) das proteínas em estudo podem ser consideradas constantes e estão apresentadas na Tabela 5.3.

A viscosidade dinâmica da solução (μ) foi calculada segundo JELEN (1979). A viscosidade do CPS varia com a concentração de proteína total, conforme a Figura 5.4.

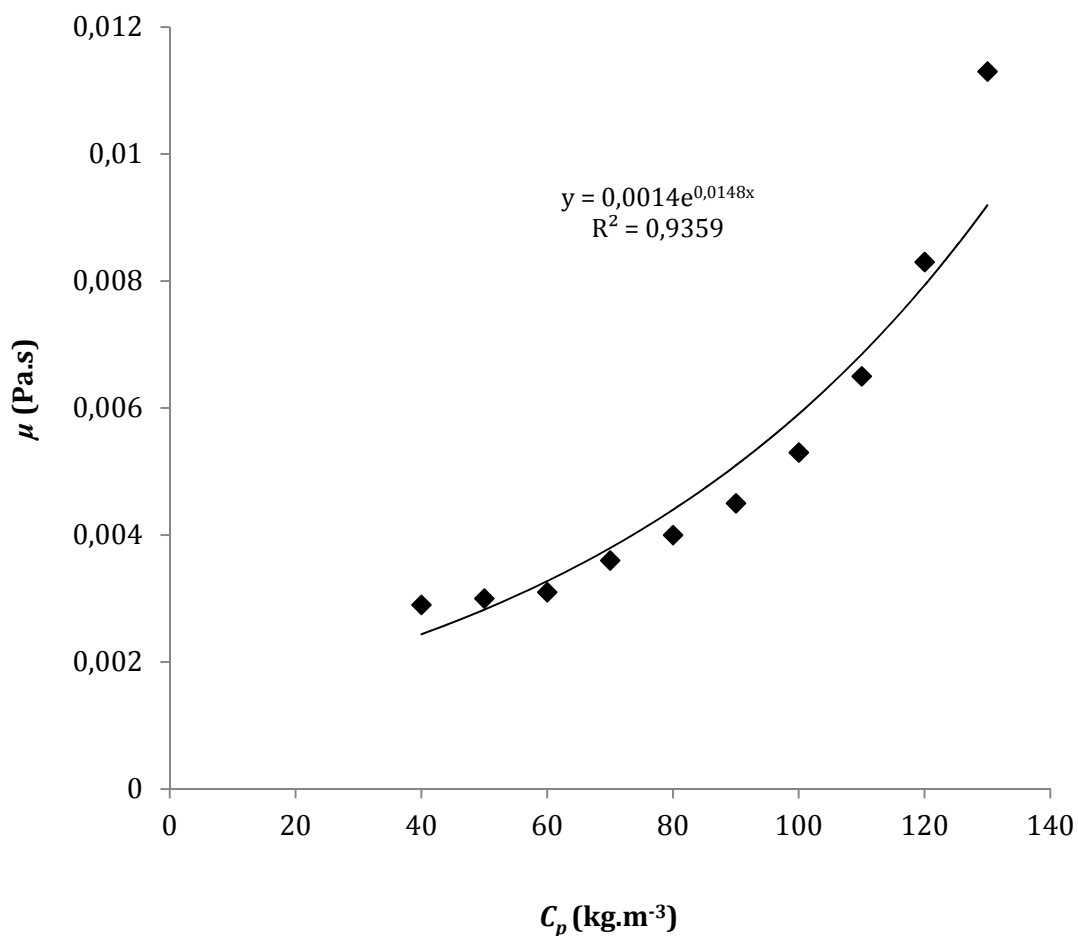


Figura 5.4: Viscosidade do CPS (Pa.s) em função da concentração de proteína total (kg.m^{-3}). Adaptado de JELEN (1979).

Os dados da Figura 5.4 foram ajustados a uma função exponencial dando origem à Equação 5.43.

$$\mu = 0,0014e^{0,0148C_p} \quad (5.43)$$

onde μ é a viscosidade dinâmica da solução (Pa.s) e C_p é a concentração das proteínas totais (kg.m^{-3}).

Segundo JELEN (1979) a massa específica (ρ) de um concentrado proteico do soro de leite é 1045 kg.m^{-3} .

A pressão osmótica de um concentrado proteico do soro pode ser calculada através da Equação 5.44 (ASTUDILLO *et al.*, 2009)

$$\pi = 1,7 \cdot C_p + 0,56 \cdot T - 15,5 \quad (5.44)$$

onde C_p é a concentração das proteínas totais (kg.m^{-3}) e T é a temperatura (K). A equação é válida até 60 °C e para soluções que contenham de 5,7 a 28,6% (m/m) de sólidos totais.

5.3.2 Descrição da Célula

A célula para membrana plana de UF utilizada no presente trabalho está representada esquematicamente na Figura 5.5: .

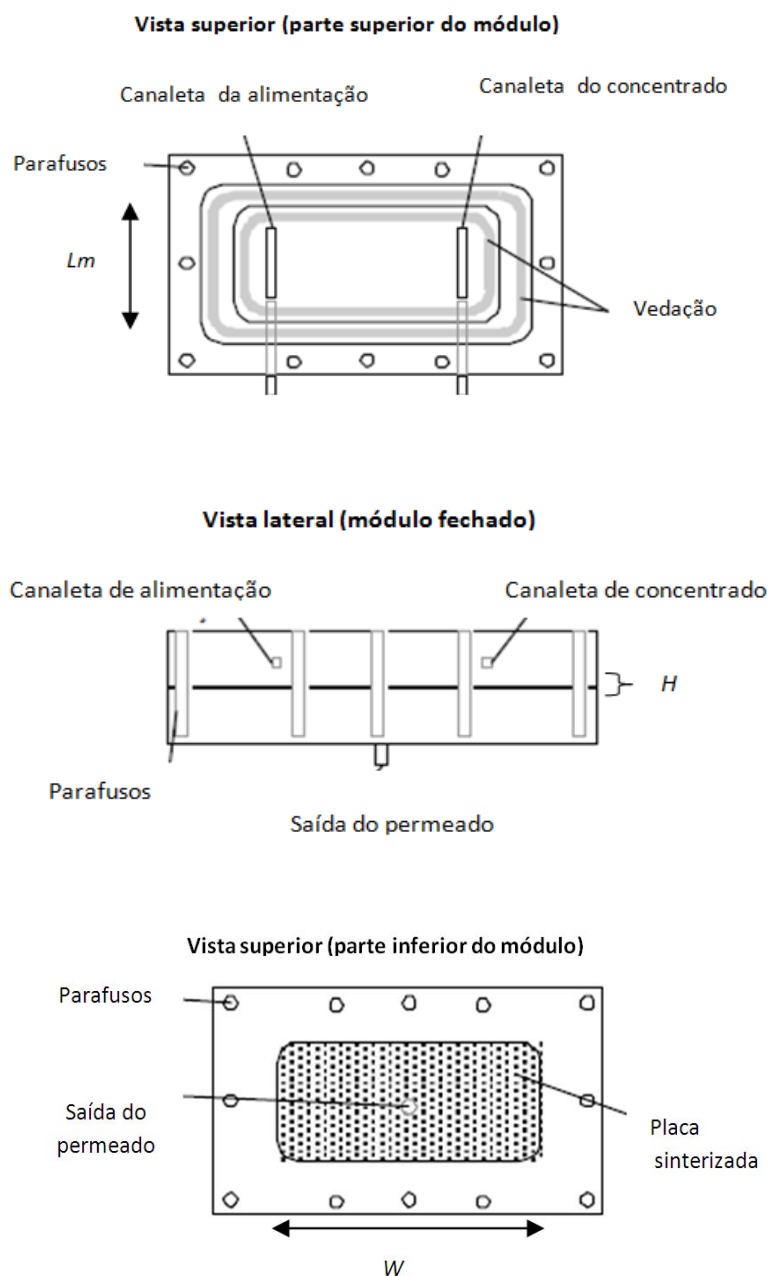


Figura 5.5: Representação esquemática do módulo de UF.

O módulo de UF permite a instalação de folhas de membranas com área útil de $61,02 \text{ cm}^2$; nessa figura é possível observar a vista superior, lateral e inferior da célula de UF que é constituída de duas placas paralelas com uma membrana permeável entre elas. A membrana é permeável ao solvente e parcialmente permeável aos solutos, de acordo com o coeficiente de retenção local, que depende da velocidade de permeado e da concentração de solutos.

A Figura 5.6 ilustrada a região por onde ocorre o escoamento do fluido que fica entre as placas do módulo e por onde o fluido escoar tangencialmente à membrana.

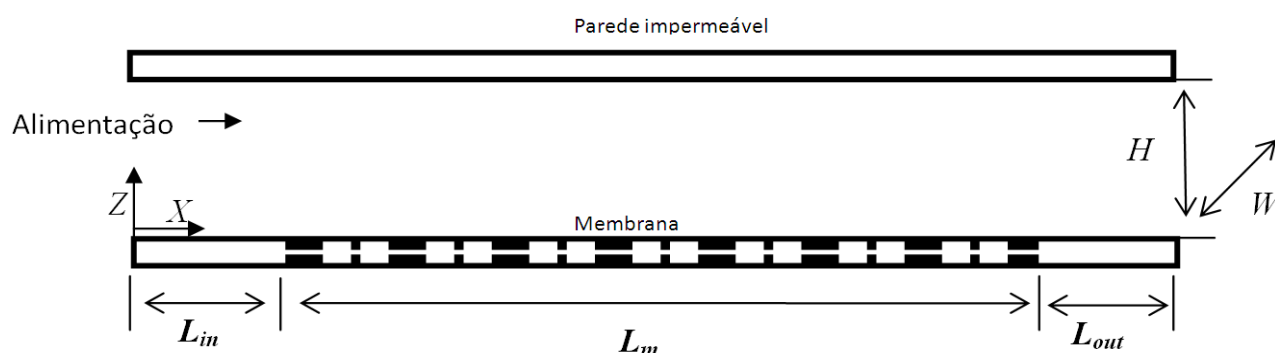


Figura 5.6: Representação esquemática do canal de escoamento da célula de membranas.

A distância entre as placas é H , a largura e o comprimento da célula são W e L , respectivamente. A corrente de alimentação é separada em duas correntes: uma corrente de retido e uma de permeado. As seções de entrada (L_{in}) e saída (L_{out}) são impermeáveis aos solutos e ao solvente. As dimensões características do módulo de placas paralelas estão apresentadas na Tabela 5.4.

Tabela 5.4: Características do módulo utilizado nos experimentos.

Características do módulo de UF	
H (m)	0,003
L_m (m)	0,054
W (m)	0,113

Conforme descrito no Apêndice A o valor de s que teve a melhor aproximação entre os valores estudados para a membrana UF30 foi $2,59 \times 10^{-9}$.

5.3.3 Condições do Processo

Como condições de processo foi assumida a temperatura de 30 ± 3 °C com escoamento tangencial a uma vazão de alimentação média do sistema de $8 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, o que representa uma velocidade na entrada da célula (V_0) de $0,5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. A pressão transmembrana (ΔP) foi um parâmetro que foi variado durante os experimentos entre 100 a 800 kPa.

Nas condições do experimento com as características da solução em estudo chega-se aos valores dos números adimensionais apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Número adimensionais aplicados ao problema em estudo.

Números adimensionais	
Re_0	662,00
Pe_α	$2,39 \times 10^7$
Pe_{B1}	$3,35 \times 10^7$
Pe_{B2}	$4,22 \times 10^7$
Sc_α	$3,61 \times 10^4$
Sc_{B1}	$5,06 \times 10^4$
Sc_{B2}	$6,37 \times 10^4$

5.4 Resultados e Discussão

Nesta seção são apresentados os resultados do estudo numérico do fracionamento das proteínas. As condições estudadas nas simulações numéricas são semelhantes as que foram testadas experimentalmente com o objetivo de verificar os motivos da alta retenção e da baixa seletividade da membrana de ultrafiltração (UF30) para as proteínas do soro de leite.

Duas situações são apresentadas e discutidas neste capítulo:

- B1-A: fracionamento da β -Lg (B1 – monômero) e da α -La (A - monômero);
- B2-A: fracionamento da β -Lg (B2 – dímero) e da α -La (A - monômero).

As abordagens são em relação a seletividade aparente, seletividade real, retenção real e observada, a concentração das proteínas na superfície da membrana e no permeado

em função da pressão transmembrana. Ainda são apresentados os resultados de concentração no retido e no permeado, características como velocidade e número de Re para a pressão transmembrana de 250 kPa (valor utilizado experimentalmente para o fracionamento) em função do comprimento da membrana (dimensão x) e altura do canal de escoamento (dimensão z).

5.4.1 Seletividades Real e Aparente Médias

A Figura 5.7 mostra a seletividades aparentes médias em função da pressão transmembrana para as duas situações consideradas no fracionamento de proteínas (B1-A e B2-A) para a membrana UF30. Os dados são para elevadas concentrações de soluto na entrada ($C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$) e fluxo laminar ($Re = 662$).

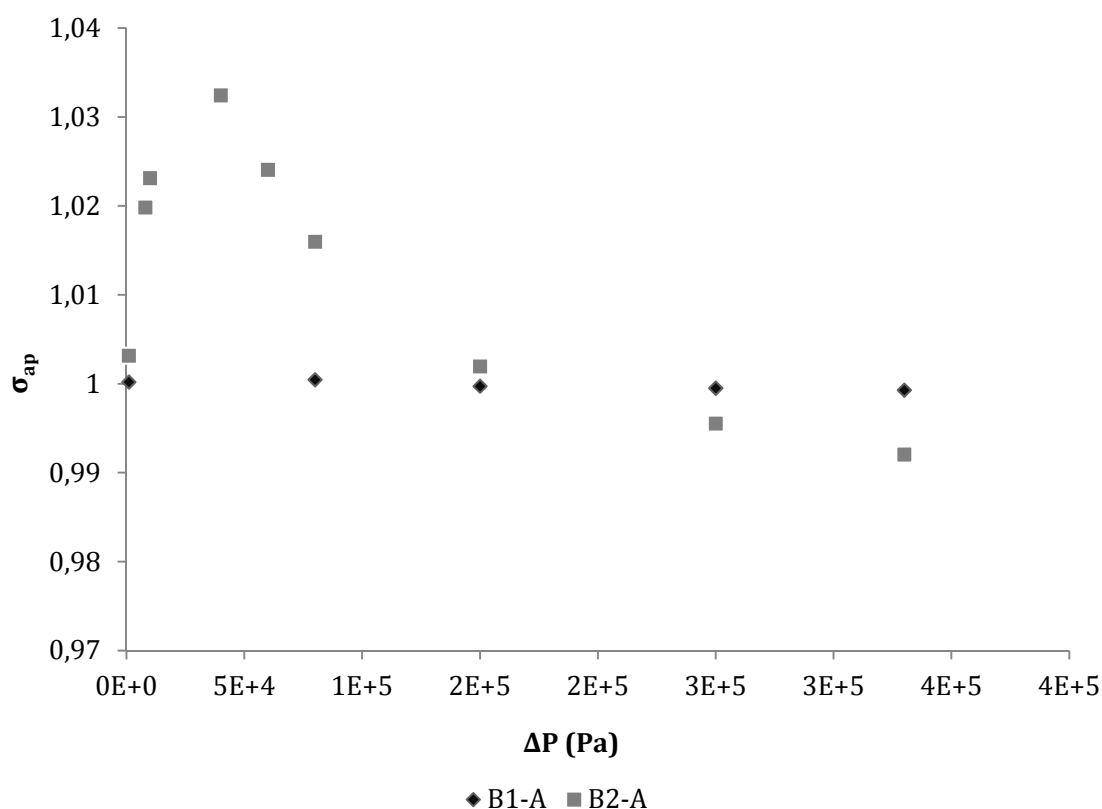


Figura 5.7: Seletividade aparente *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento de soluções: B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$.

Na Figura 5.7 observa-se que no caso do fracionamento B1-A a seletividade aparente se mantém em torno de 1, para qualquer valor de pressão transmembrana estudado.

No caso B2-A para baixas pressões transmembrana (8×10^3 Pa) a seletividade aparente se aproximou de 1, mas com o aumento da pressão ocorreu um acréscimo da seletividade aparente até um valor máximo de $\sigma_{ap} = 1,032$ em $\Delta P = 8 \times 10^4$ Pa. No entanto, quando a pressão foi aumentada para valores superiores a este, houve a diminuição da seletividade aparente tendendo a valores menores ou iguais a 1.

A Figura 5.8 mostra como as seletividades médias, real e aparente, variam com a pressão transmembrana aplicada, para o caso B1-A.

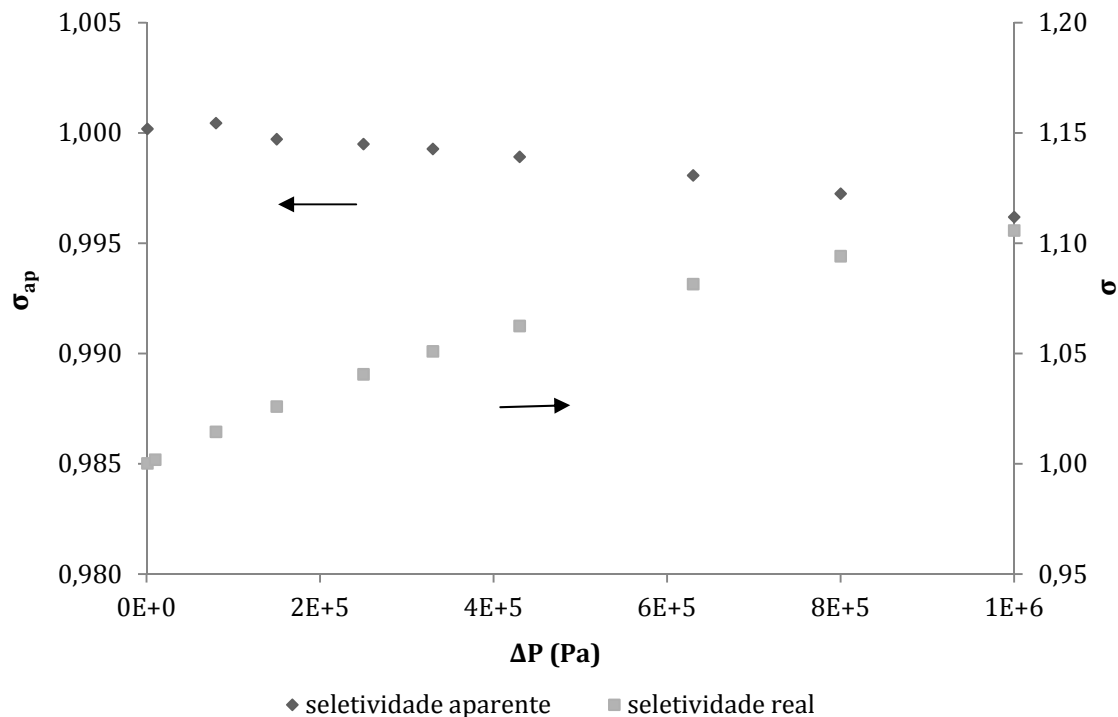


Figura 5.8: Seletividade real e seletividade aparente *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento da solução B1-A (β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$.

A análise desta figura mostra que a seletividade aparente para o fracionamento de B1-A ficou em torno de 1 para qualquer pressão transmembrana. Valores abaixo de 1 não são confiáveis e são provavelmente decorrentes de um erro numérico, sendo, portanto, incorreto afirmar que a seletividade de fato diminuiu pois assume-se que essa diminuição

possui ordem de grandeza do erro. A seletividade real tem valores, em baixas pressões, de 1 e com o aumento da pressão transmembrana, σ chega a 1,10.

A Figura 5.9 mostra como as seletividades médias, real e aparente, mudam com a pressão transmembrana aplicada para o caso B2-A.

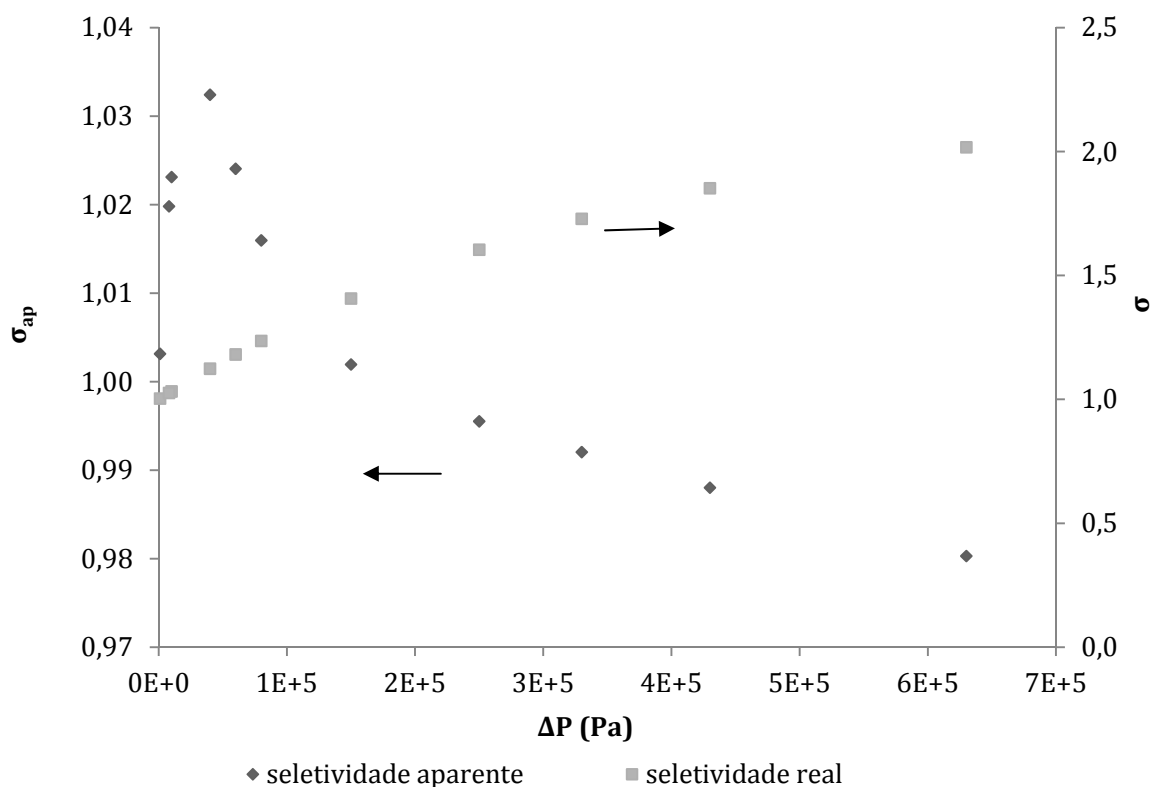


Figura 5.9: Seletividade real e seletividade aparente *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento da solução B2-A (β -Lg (B2 – dímero) e α -La (A)) para $Re=662$ ($V_0=0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$.

Na Figura 5.9 observa-se que a seletividade real tende a 1 quando a pressão transmembrana tende para zero e conforme a pressão transmembrana é aumentada a σ chega a 2,01. Como havia sido comentado anteriormente (Figura 5.7) para B2-A a seletividade aparente apresenta um comportamento diferente que o caso do monômero, chegando a atingir um máximo de 1,032 em $8 \times 10^4 \text{ Pa}$.

Para compreender os fenômenos associados a estes comportamentos de seletividade são apresentados a seguir os gráficos de retenção, concentração no permeado e na superfície da membrana em função da pressão para os dois casos de fracionamento.

A Figura 5.10 mostra os dados de retenção real em função da pressão transmembrana para os casos B1-A e B2-A.

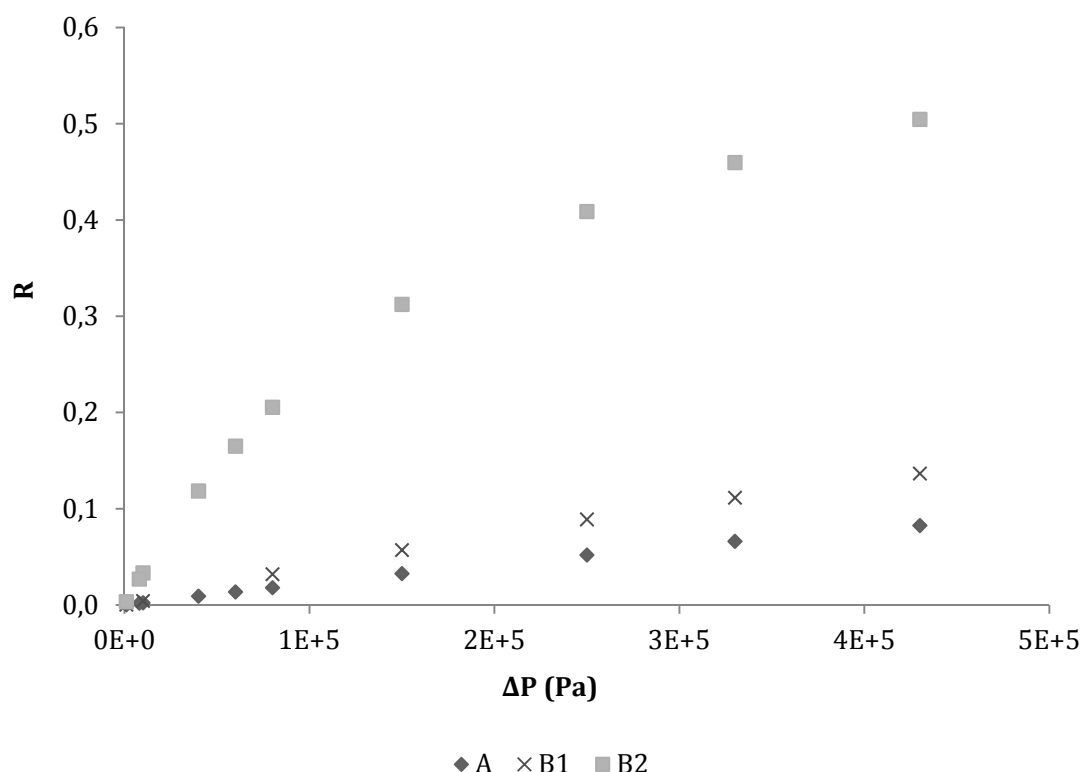


Figura 5.10: Retenção real *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções: B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$.

Na Figura 5.10 verifica-se que a retenção aumenta com aumento da pressão transmembrana, e que a retenção de B2 é maior que a retenção de B1 e de A. O fracionamento de uma solução binária utilizando UF é baseado em uma diferença de pressão aplicada através da membrana. Os solutos têm uma passagem seletiva através da membrana, ou seja, há retenção preferencial de um soluto e, simultaneamente, transmissão preferencial do outro soluto para o permeado (para sistemas binários) (GHOSH e CUI, 2000).

Nos casos estudados no presente trabalho, espera-se, de fato que a β -Lg, por ter massa molar maior que a α -La, tivesse retenção prioritária. A α -La tem retenção inferior a 10% para qualquer pressão transmembrana estudada, ou seja, é o soluto que preferencialmente passa para o permeado em ambos os casos. B1 (β -Lg – monômero) chega a valores de retenções maiores que 10% em pressões superiores a 300 kPa. A β -Lg

quando configurada em dímeros (B2), tem o dobro do raio molecular da β -Lg monomérica (B1) e, portanto, tem retenção ainda maior, atinge retenções de 50% quando aplicada a $\Delta P = 430$ kPa.

A Figura 5.11 mostra as concentrações de α -La (A) na superfície da membrana e no permeado em função da pressão transmembrana para os casos B1-A e B2-A; é possível verificar que as concentrações da α -La não variam em função da configuração da β -Lg (B1- monômero, B2 - dímero), e isto ocorre porque o programa não considera as interações entre as moléculas.

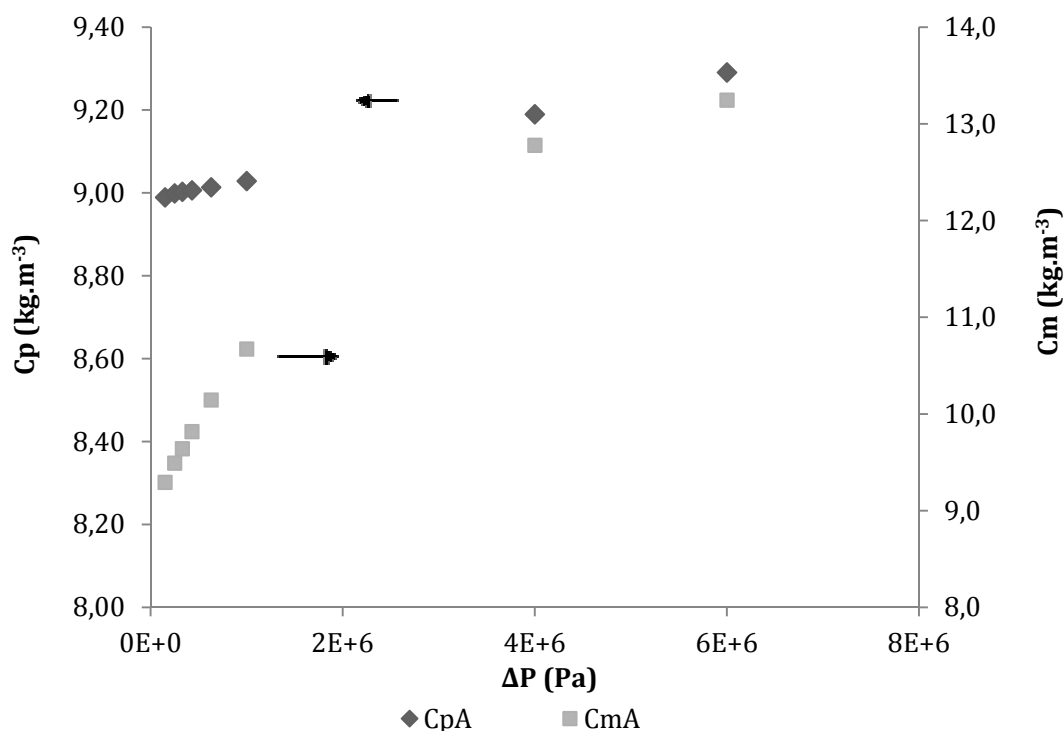


Figura 5.11: Concentração na superfície da membrana e no permeado para o componente A *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$

Observa-se que a concentração de A no permeado fica em torno de 9 kg.m^{-3} , chegando a 9,29 para as maiores pressões consideradas. Enquanto que a concentração de A na superfície da membrana para baixas pressões é de 9 kg.m^{-3} , mas com o aumento da

pressão até 600 kPa, a concentração aumenta até 11 kg.m^{-3} , e em elevadas pressões ($\Delta P > 2 \times 10^6 \text{ Pa}$) atinge 13 kg.m^{-3} .

A Figura 5.12 mostra as concentrações de β -Lg (B1- monômero, B2 - dímero) na superfície da membrana e no permeado em função da pressão transmembrana para os casos B1-A e B2-A.

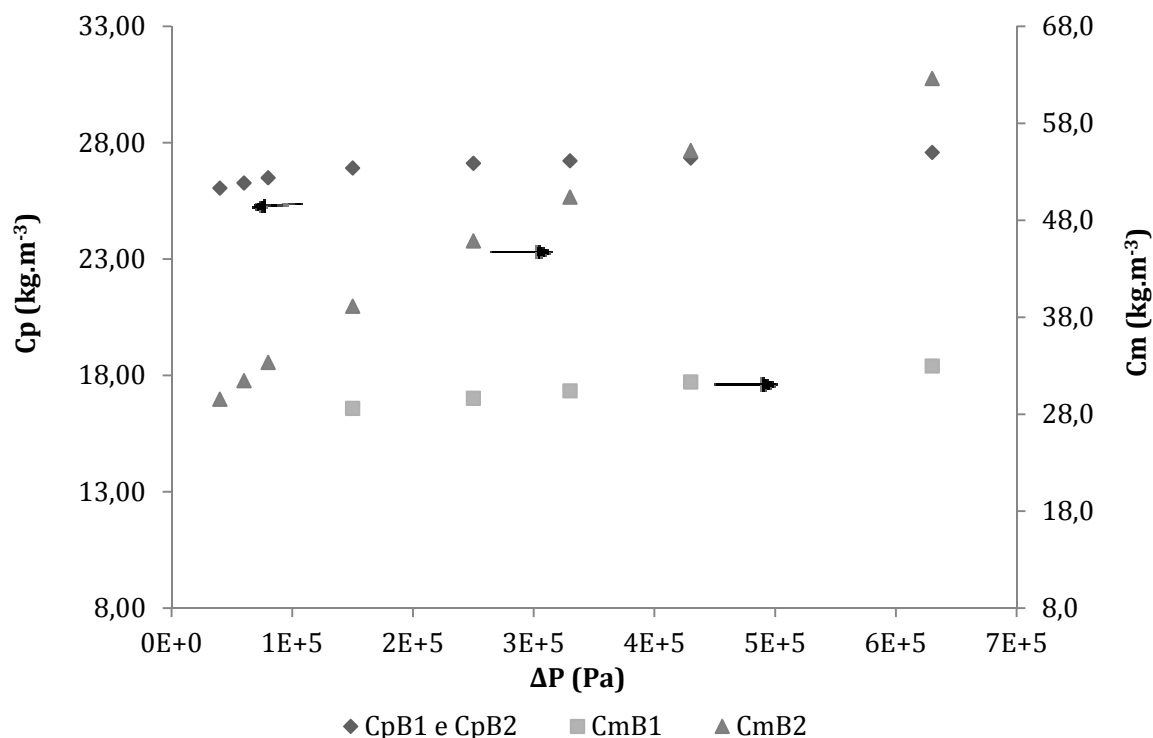


Figura 5.12: Concentração na superfície da membrana e no permeado para os componentes B1 e B2 *versus* pressão transmembrana obtida para a simulação numérica do fracionamento das soluções B1-A (de β -Lg (B1 monômero) e α -La (A)) e B2-A (de β -Lg (B2 dímero) e α -La (A)) para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$.

A concentração no permeado da β -Lg para ambas as situações fica em torno de 27 kg.m^{-3} . No caso B1-A a concentração na superfície da membrana para a β -Lg aumenta com o aumento da pressão transmembrana, partindo de 27 kg.m^{-3} a $1 \times 10^3 \text{ Pa}$ até 35 kg.m^{-3} a $6 \times 10^5 \text{ Pa}$. Para o caso B2-A, o aumento da concentração de β -Lg na superfície da membrana é significativamente maior; em $\Delta P = 1 \times 10^3 \text{ Pa}$ a concentração de B2 na superfície da membrana é 27 kg.m^{-3} , e para $\Delta P = 6 \times 10^5 \text{ Pa}$ a concentração de B2 na superfície da membrana é superior a 60 kg.m^{-3} . Como esta concentração é muito

elevada pode ocorrer geleificação ou precipitação de proteínas e o programa não prevê estes tipos de fenômenos.

As variações da seletividade aparente para as duas situações de fracionamento podem ser explicadas pelas características iniciais de β -Lg diferentes, como raio e difusividade molecular, por exemplo. Em pressões menores no caso B2-A o fracionamento é facilitado pela diferença de raio molecular maior entre a β -Lg e a α -La, no entanto, nas pressões elevadas a concentração na superfície da membrana aumenta (polarização por concentração), o processo de fracionamento é dificultado e, por isso pode haver uma diminuição da seletividade. Segundo SHEN e PROBSTEIN (1977) a variação da difusividade molecular pode ser a responsável pela diminuição da seletividade aparente. Além do mais, a concentração do componente mais rejeitado aumenta (mais do que a do outro componente) e isto, já é suficiente para baixar a seletividade.

A seletividade real média aumenta com o aumento da pressão transmembrana, até que a curva converge assintoticamente para um valor constante. De acordo com as equações (5.4) e (5.13), este valor assintótico é:

$$\text{B1-A } \sigma = \frac{S_{i,\infty}}{S_{j,\infty}} = 1,1, \text{ B2-A } \sigma = \frac{S_{i,\infty}}{S_{j,\infty}} = 1,9 \quad \text{com os coeficientes de separação assintóticos}$$

intrínsecos calculados pelas equações (5.14 – 5.20).

Para B2-A a seletividade aparente média aumenta com o aumento da pressão transmembrana, até um máximo e depois diminui até convergir para um valor constante. A concentração dos solutos no fluxo de permeado deve se tornar apenas determinada pela sua respectiva concentração sobre a membrana. A taxa de acúmulo de β -Lg é maior do que a de α -La (coeficiente de fracionamento maior e difusividade mássica menor) e assim a seletividade aparente diminui.

5.4.2 Perfis de concentração e de velocidade ao longo da membrana

A Figura 5.13 e a Figura 5.14 mostram os dados de concentração na superfície da membrana e no permeado, respectivamente, em função do comprimento da membrana para a pressão transmembrana constante (250 kPa), para os componentes A, B1 e B2.

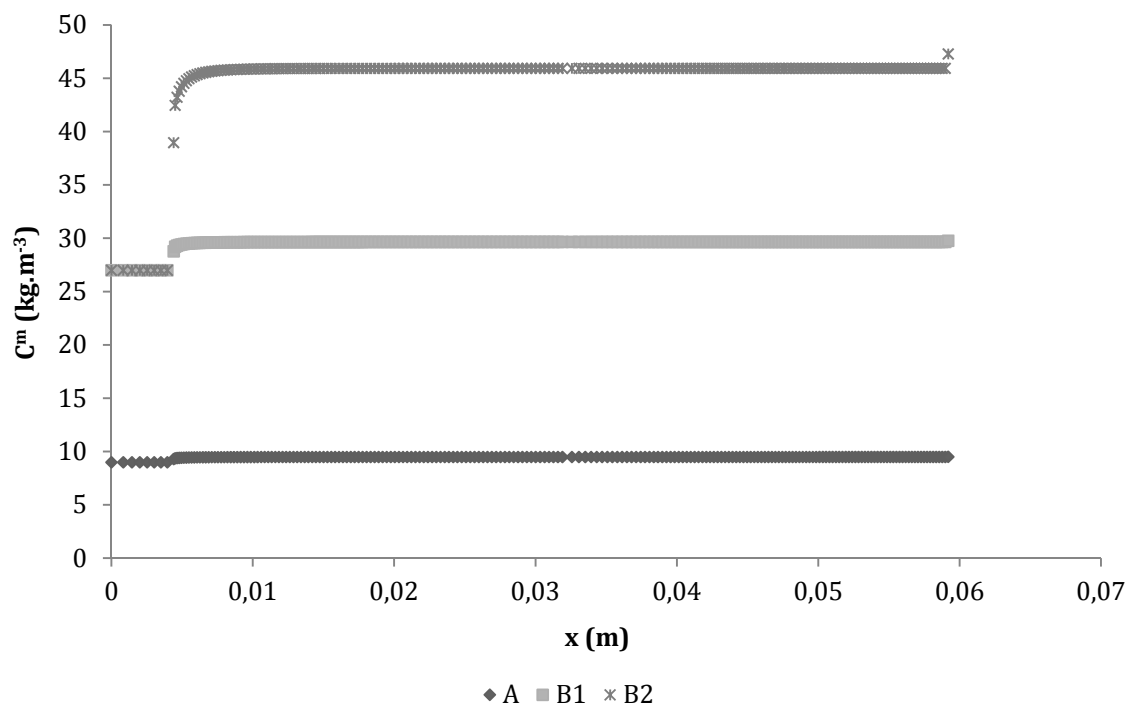


Figura 5.13: Concentração na superfície da membrana para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg - monômero) B2 (β -Lg - dímero) e *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

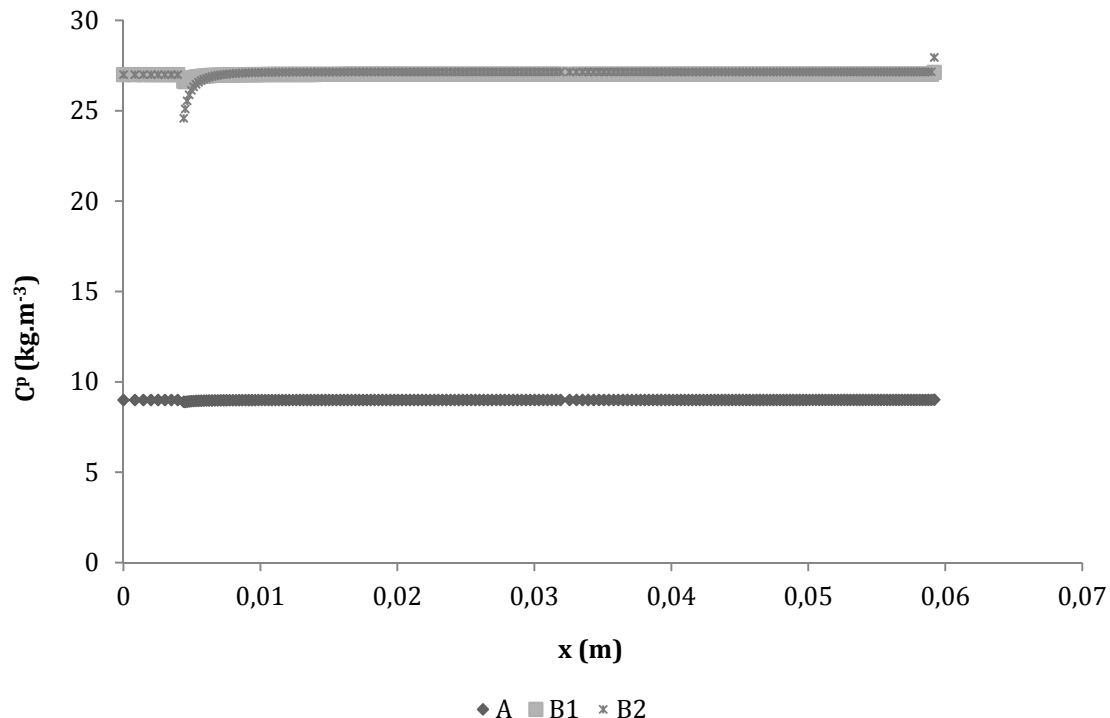


Figura 5.14: Concentração na superfície da membrana para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg - monômero) B2 (β -Lg - dímero) e *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

A concentração de solutos na superfície da membrana $c_{\beta-Lg}^m$ e $c_{\alpha-La}^m$, mudam ao longo do comprimento da membrana, como pode ser observado nas Figura 5.13 e Figura 5.14. Os dados representados nestas figuras representam membranas fortemente polarizadas para ambos os casos, sendo que o grau de polarização para B2-A é muito maior do que para o caso B1-A.

Para o caso B1-A as concentrações dos solutos aumentam ao longo da membrana (Figura 5.13). A concentração de α -La passa de 9 kg.m^{-3} para $9,5 \text{ kg.m}^{-3}$ ao final do comprimento da membrana. A concentração de β -Lg passa de $C_{B1}(x=0) = 27 \text{ kg.m}^{-3}$ para $C_{B1}(x=0,05) = 29,65 \text{ kg.m}^{-3}$. Este aumento é mais acentuado na concentração de β -Lg. As concentrações dos solutos no fluxo permeado são de 27 kg.m^{-3} e de 9 kg.m^{-3} , para β -Lg e α -La, respectivamente.

Para B2-A a concentração da β -Lg na superfície da membrana aumenta de $C_{B2}(x=0) = 27 \text{ kg.m}^{-3}$ para $C_{B2}(x=0,05) = 47,28 \text{ kg.m}^{-3}$, mas o aumento da concentração é bastante expressivo logo no início do escoamento. Há um forte aumento da concentração de solutos ao longo da membrana: a concentração de β -Lg atinge quase 2 vezes a respectiva concentração *bulk*.

Há pelo menos dois parâmetros que determinam a concentração no permeado: a rejeição dos solutos pela membrana, que aumenta com o aumento da velocidade de permeado e a concentração de solutos na superfície da membrana, que aumenta com o aumento da retenção dos solutos. De acordo com a equação 2, a concentração no permeado aumenta com o aumento da concentração na superfície da membrana, mas diminui com o aumento da retenção dos solutos. Apesar da concentração na superfície da membrana para o caso B2-A ser maior, a concentração no permeado é igual ao caso B1-A, isso pode ocorrer de acordo com o modelo de difusão convecção, devido ao aumento da rejeição para o caso B2-A ser dominante, e, assim a concentração de solutos no permeado é igual ao caso de menor concentração na superfície da membrana.

A Figura 5.15 e mostra a velocidade de permeado adimensionalizada em função do comprimento da membrana para a pressão transmembrana de 250 kPa.

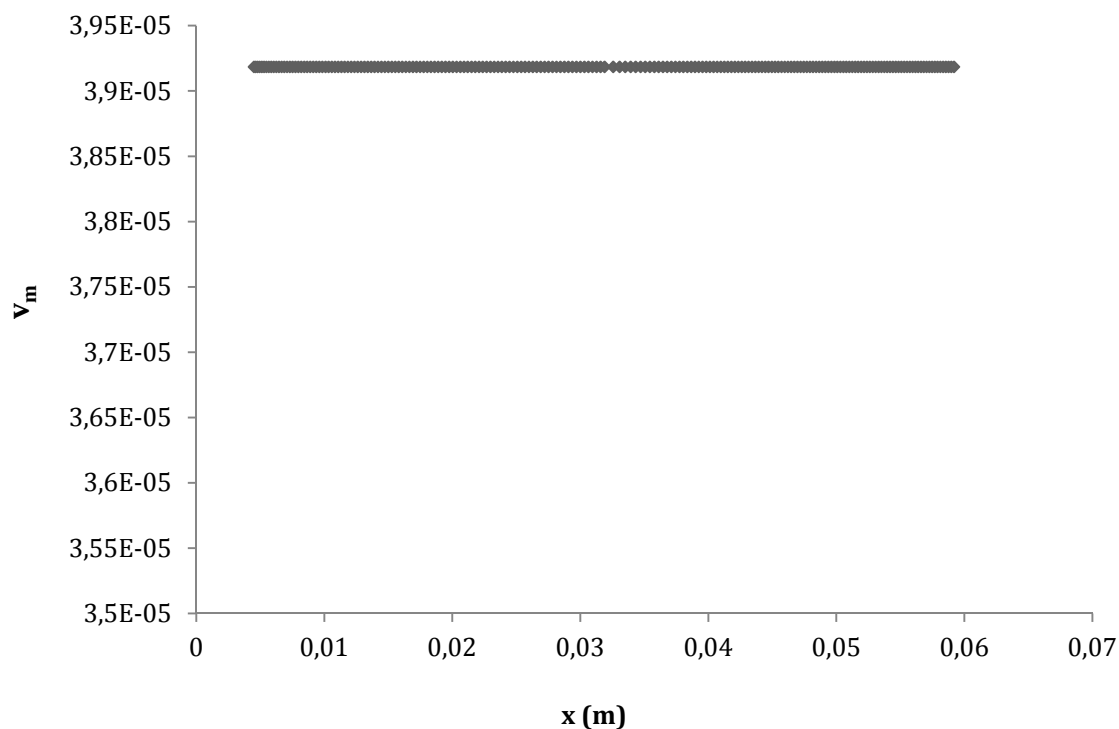


Figura 5.15: v_m versus comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

O fluxo de permeado ($v_m \times 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) velocidade de permeado é constante ao longo da região de escoamento. A Figura 5.16 mostra os valores de número de Reynolds na região de escoamento para a membrana UF30.

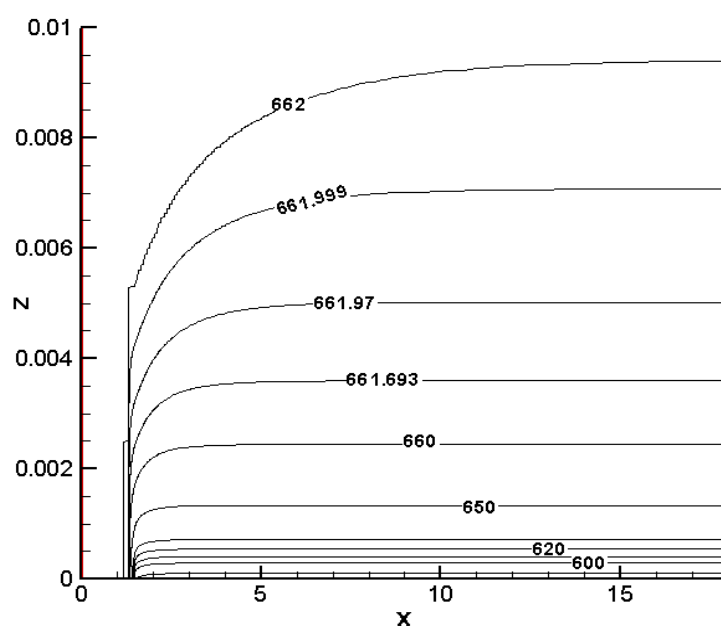


Figura 5.16: Linhas de Re na região próxima a membrana para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re_0 = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

Para membranas moderadamente polarizadas, a seletividade média aparente aumenta com o aumento do número de Reynolds. Este aumento é consequência da diminuição da polarização: quando a convecção tangencial aumenta, a concentração dos componentes na superfície da membrana diminui. Este efeito é maior para o componente com a menor transmissão o que, consequentemente, aumenta a seletividade (PINTO *et al.*, 2011).

Ou seja, para aumentar a seletividade no caso deste estudo, poderia ser aumentada a velocidade de escoamento, e, assim ocorreria uma diminuição na transmissão da β -Lg e aumento da seletividade com a diminuição da polarização.

5.4.3 Seletividades real e aparente ao longo da membrana

Na Figura 5.17 e na Figura 5.18 são representadas as curvas de seletividade real e aparente para o fracionamento B1-A e B2-A, respectivamente, em função do comprimento da membrana para as situações analisadas na seção anterior (pressão transmembrana constante e igual a 250 kPa, iguais condições de entrada e comprimento da membrana).

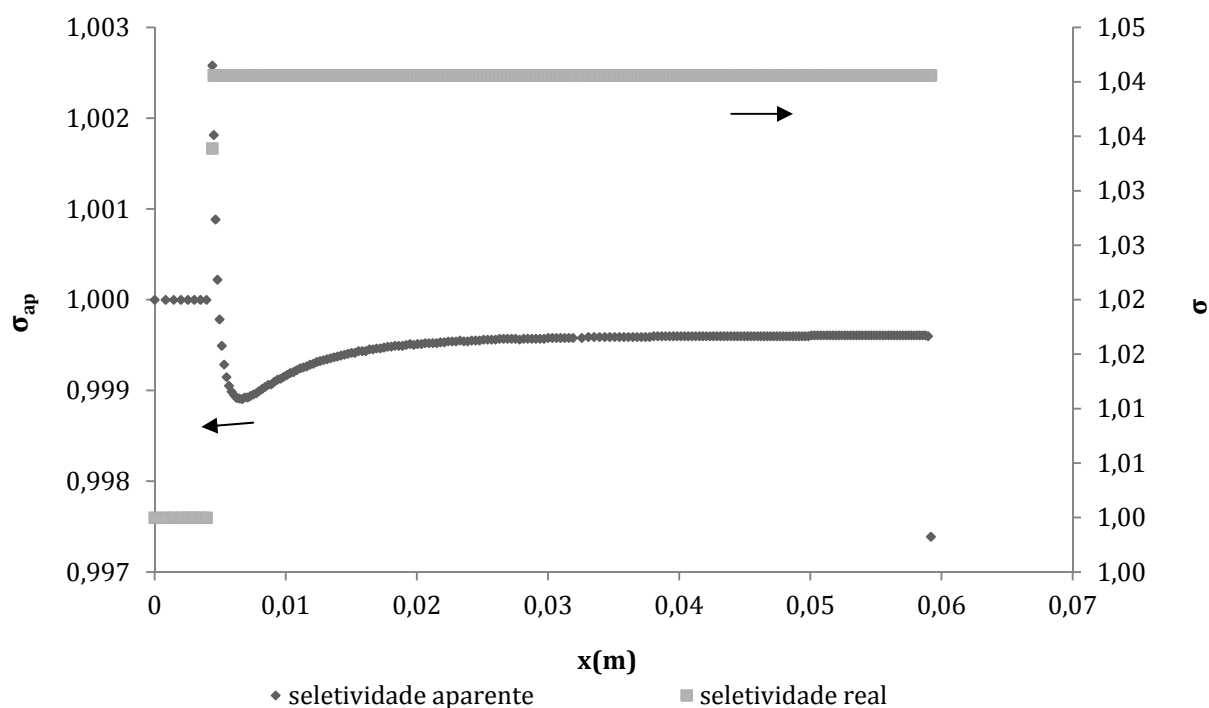


Figura 5.17: Seletividade aparente e real para os componentes A (α -La) e B1 (β -Lg monômero) *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

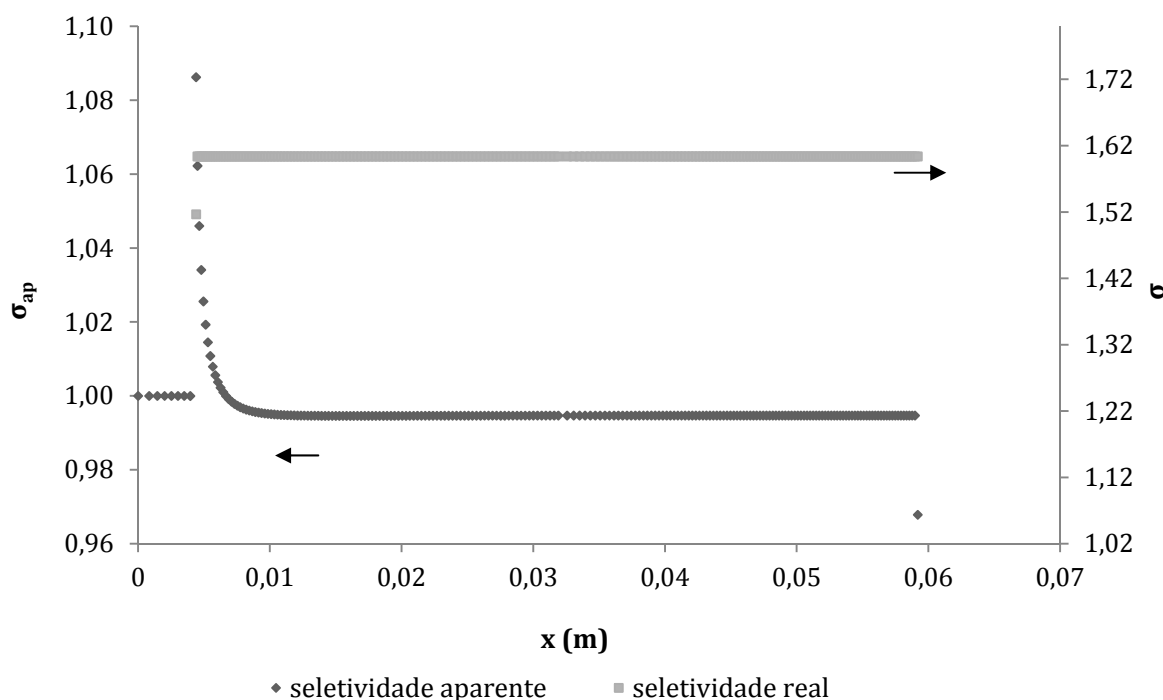


Figura 5.18: Seletividade aparente e real para os componentes A (α -La) e B2 (β -Lg dímero) *versus* comprimento da membrana (m) para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

Pode-se observar que os dados da seletividade média aparente são dependentes do comprimento da membrana, enquanto que os valores da seletividade real são praticamente constantes. Os dados da Figura 5.17 mostram uma diminuição brusca da seletividade aparente no início do comprimento da membrana.

A seletividade real relaciona as concentrações dos solutos no fluxo permeado ambas normalizadas pela concentração de solutos na superfície da membrana (Equação 5.45). A seletividade real tende a ser constante ao longo da membrana. A seletividade real aumenta sensivelmente do caso B1-A para o caso B2-A.

A seletividade aparente relaciona as concentrações dos solutos no fluxo de permeado com a concentração *bulk* dos solutos (Equação 5.6). Nos exemplos analisados praticamente não há variação da velocidade de permeado ao longo da membrana (menos de 1%) e, assim, de acordo com o modelo difusivo-convectivo, a rejeição da membrana para ambos os solutos é quase constante ao longo da membrana. Por essa razão, o comportamento da seletividade aparente ao longo da membrana é determinado

principalmente pela evolução da concentração de solutos na superfície da membrana (Equação 5.2).

Para a membrana polarizada há um aumento dessas concentrações ao longo da membrana, porém um pouco mais acentuada para β -Lg, e, assim, há uma diminuição da seletividade aparente ao longo da membrana (Figura 5.17 e Figura 5.18). Esta diminuição se torna mais evidente para o aumento dos níveis de polarização (B2-A) uma vez que o acúmulo de β -Lg ao longo da membrana é progressivamente maior e dominante (Figura 5.13). Para o caso B2-A, a seletividade aparente passa de 1,09 (início da membrana) para 0,99 na saída da membrana. Para o caso B1-A, a seletividade aparente mantém-se em 1 ao longo da membrana.

Para valores muito elevados de pressão transmembrana (como no caso estudado), a seletividade aparente sofre, na entrada da membrana, uma queda abrupta e tende assintoticamente, em uma curta distância, para 1 (Figura 5.17 e Figura 5.18).

Devido à esta mudança de concentração no início da membrana, alguns cuidados adicionais foram colocados no procedimento numérico para estes valores de pressão transmembrana. A malha foi sucessivamente refinada na região (em direção normal à membrana). Os sucessivos incrementos do valor assintótico obtido nestes testes de rede foram quase residuais (PINTO *et. al.*, 2011).

Na camada limite de massa, há um equilíbrio dinâmico para cada componente ao longo da superfície da membrana, ou seja, cada componente é transportada por convecção na superfície da membrana, onde, de acordo com o modelo de transporte de membrana e dos coeficientes de rejeição, uma fração é transmitida através da membrana e outra fração difunde de volta para a região *bulk* (equação 5.46). O resultado deste equilíbrio ao longo da membrana pode ser uma camada altamente concentrada de β -Lg (o componente com a maior rejeição e menor difusividade).

A Figura 5.19, a Figura 5.20 e a Figura 5.21 mostram os dados de concentração adimensionalizada na superfície da membrana em função de z para o componente A, B1 e B2 respectivamente.

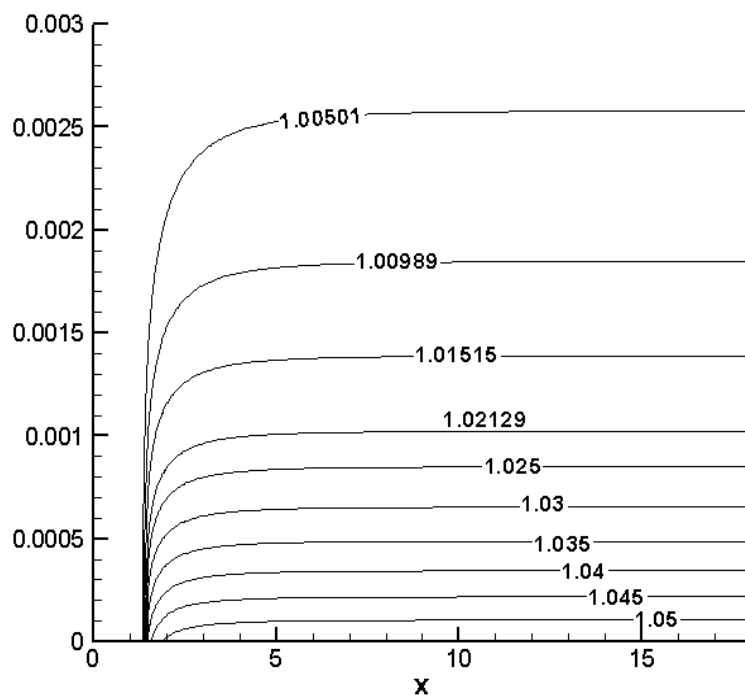


Figura 5.19: Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componente A (α -La) *versus* comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

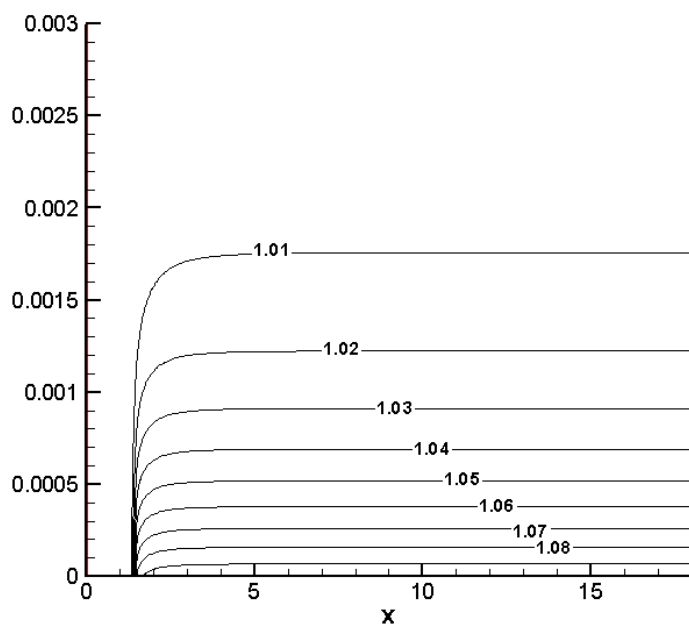


Figura 5.20: Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componentes B1 (β -Lg monômero) *versus* comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$ e $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$, $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

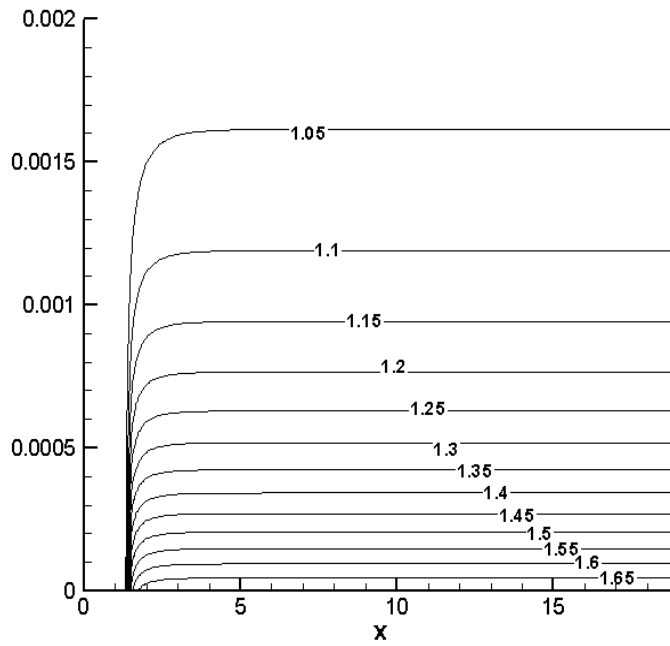


Figura 5.21: Linhas de concentração na região próxima a superfície da membrana para o componente B2 (β -Lg –dímero) *versus* comprimento da membrana adimensionalizado para a simulação numérica do fracionamento de uma solução de β -Lg e α -La para $Re = 662$ ($V_0 = 0,510 \text{ m.s}^{-1}$) $C_{\beta Lg}^{in} = 27 \text{ kg.m}^{-3}$, $C_{\alpha La}^{in} = 9 \text{ kg.m}^{-3}$, $Pe_{\beta Lg} = 4,22 \times 10^7$, $Pe_{\alpha La} = 2,39 \times 10^7$ e $\Delta P = 250 \text{ kPa}$.

Para os três componentes observa-se que a concentração aumenta conforme aumenta a proximidade com a membrana, e $c_{B2} > c_{B1} > c_A$.

Para $z \sim 0$, $C_A^m = 9,45$; $C_{B1}^m = 29,43$ e $C_{B2}^m = 44,55 \text{ kg.m}^{-3}$. Sabendo que $R_A = 0,05197$; $R_{B1} = 0,088967$ e $R_{B2} = 0,40891$, pode-se calcular através da Equação 5.2 a concentração de permeado neste mesmo ponto, para cada caso. Portanto, para $z \sim 0$, chega-se a valores de $C_A^p = 8,95 \text{ kg.m}^{-3}$; $C_{B1}^p = 26,81$ e $C_{B2}^p = 26,33 \text{ kg.m}^{-3}$.

5.4.4 Considerações finais

A seletividade aparente no fracionamento da β -Lg e da α -La foi estudada por métodos numéricos. Foram consideradas diferentes características de configuração inicial da molécula de β -Lg.

A seletividade aparente média muda conforme as alterações de pressão transmembrana para uma dada concentração dos solutos na entrada e número de Reynolds: para o caso da presença de dímeros aumenta até um valor máximo e depois diminui, devido à polarização, tendendo a um valor constante. Para o caso de monômeros e para o caso da dimerização em valores superiores de pressão transmembrana, a

seletividade aparente tende a 1. Para a β -Lg conformada em dímeros a seletividade aparente é maior e a seletividade mais elevada é obtida em pressões baixas de operação.

A seletividade merece ser profundamente investigada, especialmente quando a resistência da membrana é elevada. Para o sistema em estudo, é importante que esta investigação inclua o *fouling* progressivo na membrana como uma parte importante da resistência global e como um fator que afeta a seletividade do sistema.

No estudo numérico apresentado as interações soluto-soluto e as interações soluto-membrana não foram levadas em consideração. No entanto, essas interações são um fator importante para quantificar a seletividade.

Como foi observado no final do Capítulo 4, o fracionamento de proteínas das soluções de soro de leite é complexo e envolve interações entre os componentes do soro e dos componentes com a membrana. Também, é dependente do pH, e possivelmente da força iônica das soluções.

Observando os espectros de massa do permeado das soluções, verifica-se que a seletividade foi baixa. Apesar de não terem sido quantificadas as diferentes proteínas, observa-se que há a passagem de mais de uma proteína para o permeado, e portanto, o fracionamento não foi efetivo.

O mecanismo de fracionamento das proteínas do soro é difícil de ser realizado experimentalmente, como foi demonstrado no capítulo anterior e o que já havia sido constatado por diversos autores (LEITE *et al.*, 2006; FOX e MCSWEENEY, 1998; YUNOS e FIELD, 2006; SMITH, 2003)

A separação de proteínas por sistemas de membranas é limitada pela polarização por concentração. No fracionamento de proteínas, a permeabilidade de uma proteína aumenta com a sua concentração à superfície da membrana. A proteína menos permeável é rejeitada e forma-se uma camada adicional que aumenta a resistência da transferência de massa. A permeabilidade da proteína menos permeável aumenta com a sua concentração e a seletividade da membrana diminui.

A separação ainda é dificultada porque não está se trabalhando com uma mistura binária, os tamanhos de proteínas do soro são próximos e há uma distribuição dos tamanhos dos poros das membranas.

Em trabalhos futuros estes fatores precisam ser considerados como parte importante do estudo numérico. Assim como, o escoamento de misturas complexas, envolvendo mais de duas proteínas poderia ser estudado.

Apesar de o método numérico não ter em conta o *fouling*, os resultados mostram que o sistema está em condições de elevada polarização. A consideração do *fouling* poderá reduzir essas condições de polarização, uma vez que o *fouling* faz baixar a velocidade de permeado. Pode-se fazer uma análise usando a resistência da membrana com *fouling*. Nesse caso a solução numérica aproximar-se-ia da realidade.

Ainda assim, a membrana estará muito polarizada. Isso prejudica a separação por dois motivos: baixa a seletividade e aumenta o *fouling*. Para tentar resolver estas questões pode-se: trabalhar em regime turbulento para reduzir a polarização; trabalhar com outros tipos de módulos que permitam condições de polarização menores, diluir a alimentação para reduzir o *fouling* e eventualmente a polarização (mas o efeito na polarização deverá ser limitado).

Desta forma, os dados numéricos têm a possibilidade de ser aproximados dos experimentais, e os fenômenos observados no escoamento real poderiam ser previstos em estudos CFD. Paralelamente, situações extremas poderiam ser evitadas e os processos de separação por membrana poderiam ser otimizados para ampliar a sua aplicação a nível industrial.

Capítulo 6

Conclusão e Sugestões

Neste capítulo estão apresentadas as conclusões a respeito dos resultados obtidos ao longo deste trabalho, bem como as sugestões para trabalhos futuros.

6.1 Conclusões

Alternativas para um adequado aproveitamento do soro de leite através do fracionamento dos seus componentes foi estudado. O fracionamento dos componentes do soro de leite representa uma alternativa que permite a utilização dos constituintes de maior importância comercial presentes neste subproduto de um modo racional. Os resultados obtidos demonstram que os processos de separação por membranas são adequados para o fracionamento do soro de leite.

Através da UF associada a DF obteve-se um concentrado proteico purificado contendo em média 35 kg.m^{-3} (70%, base seca) de proteína, 15 kg.m^{-3} (30%, base seca) de lactose e não apresentava presença detectável de sais. Enquanto o permeado deste processo não continha proteína, mas era composto de 40 kg.m^{-3} de lactose (em média 80%, base seca) e 10 kg.m^{-3} de sais minerais (em média 20%, base seca), condutividade elétrica máxima de 6 mS.cm^{-1} e pH em torno de 6.

Utilizando a ED com soluções de eletrodos de sulfato de potássio obteve-se uma desmineralização da solução de lactose de cerca de 90%. Os testes de melhoria de eficiência do processo demonstram que é possível diminuir a turbidez das soluções

secundárias (soluções de eletrodos finais) geradas. O que torna promissora a utilização da ED para a desmineralização de soluções de soro de leite.

A lactose e a proteína podem ser utilizadas em indústrias alimentícias, biotecnológicas e farmacêuticas. A água recuperada pode ser incorporada em alguma etapa do processo de fracionamento, como por exemplo na etapa de diafiltração.

Através da OI foi possível recuperar 50% da água e 85% dos sais foram retidos. E, assim, o efluente gerado ao final do processo foi a corrente rica em sais, que em trabalhos futuros pode vir a ser tratada por outros métodos.

O mecanismo do fracionamento de proteínas experimental mostrou-se complexo. As soluções testadas não apresentaram separação das proteínas do soro de leite considerável. Mas, alguma dependência da agregação de proteínas com a mudança de pH pôde ser observada e que deve ser levada em conta em trabalhos futuros.

A seletividade aparente no fracionamento da β -Lg e da α -La foi estudada por métodos numéricos, CFD. Foram consideradas diferentes características de configuração inicial da molécula de β -Lg-. A seletividade aparente média muda conforme as alterações de pressão transmembrana para uma dada concentração dos solutos na entrada e número de Reynolds: aumenta até um valor máximo e depois diminui, devido à polarização, tendendo a um valor constante. Para valores superiores de pressão transmembrana, a seletividade aparente tende a 1. O estudo numérico do fracionamento das proteínas necessita ser refinado, adicionando considerações relevantes aos sistemas de separação por membranas como *fouling*, em trabalhos futuros

Também, foram observados, em todos os casos, fenômenos inerentes aos processos de separação por membranas, como *fouling* e polarização por concentração, que devem ser minimizados para aumentar a eficiência, e, assim, ampliar e escalonar as aplicações desta tecnologia.

Finalmente, é possível afirmar que a tecnologia de membranas associada a outros processos de separação representa uma estratégia promissora para aproveitar os componentes do soro, produzir produtos de elevada qualidade, e ainda, diminuir o problema ambiental das indústrias.

6.2 Sugestões para trabalhos futuros

Com base nos estudos realizados e resultados obtidos muitos outros estudos podem ser propostos, a seguir estão listadas algumas sugestões advindas deste trabalho.

- Utilização os processos de separação com membranas associados a outras técnicas para separação dos componentes do soro.
- Comparação das técnicas com membranas com outras tecnologias de separação tradicionais.
- Pré-concentração dos produtos gerados (proteína e lactose) por UF e/ou NF.
- Secagem dos produtos gerados (concentrado de proteínas e lactose) por spray drier ou liofilizador.
- Recuperação de compostos da solução salina gerada na OI, por ED ou cromatografia.
- Combinação de pH, força iônica e temperatura para maximizar diferenças do volume hidrodinâmico do produto (proteínas de interesse) e impurezas.
- Separação da solução de eletrodos em dois circuitos diferentes para evitar o *fouling* mineral e proteico durante a ED.
- Modelagem e otimização do processo de concentração, purificação e fracionamento dos componentes do soro.
- Testes de diferentes técnicas de limpeza, com diferentes concentrações de reagentes e utilização de ultrassom.
- Avaliação de técnicas para minimizar *fouling* e polarização por concentração: variação das condições de operação, aplicação de ultrassom, emprego de membranas carregadas positiva ou negativamente.
- Síntese de membranas com características adequadas para o fracionamento das proteínas do soro de leite.

-
- Refinar o estudo numérico, considerando fatores importantes (como *fouling*, aumento da resistência global e a diminuição da seletividade) nos processos de separação por membranas.
 - Comparação dos dados experimentais com os numéricos obtidos para o processo de fracionamento das proteínas.
 - Testes biológicos em cobaias com os produtos gerados para verificar a qualidade e o seu potencial de aplicação.
 - Estudo da viabilidade econômica para construção de uma planta industrial.
 - Levantamento do mercado consumidor do soro de leite e técnicas para o seu melhor aproveitamento pelas indústrias de laticínios.

Capítulo 7

Referências Bibliográficas

- ABIQ, *Associação Brasileira das Indústrias de Queijo*. São Paulo. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em 25/04/2011.
- AFONSO, A.; MIRANDA, J. M.; CAMPOS, J. B .L. M. *Numerical study of BSA ultrafiltration in the limiting flux regime – effect of variable physical properties*, Desalination in press, 2009.
- AFONSO, M. D.; FERRER, J.; BÓRQUEZ, R. *An economic assessment of proteins recovery from fish meal effluents by ultrafiltration*. Trends in Food Science and Technology, v. 15, p. 506-512, 2004.
- AGARWAL, G.R. *Analysis of proteins transmission in vortex flow ultrafilter for mass transfer coefficient*, Journal of Membrane Science, v. 136, p. 141-151, 1997.
- AGROECONÔMICA Consultoria, *Especial: Perspectivas para 2010/2011*, Secretaria de Estado de Agricultura Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, Disponível em: <http://www.cileite.com.br/content/balan%C3%A7-comercial-d%C3%A9ficit-de-us-70-mi-no-1%C2%BA-semester> Acesso em 05/08/2010.
- AIMAR, P.; FIELD, R. *Limiting flux in membrane separations: a model base on the viscosity dependency of the mass transfer coefficient*, Journal of Membrane Science, v. 47, p. 579-589, 1992.
- AKOUM, O.; JAFFRIN, Y. M.; DING, L. H.; FRAPPART, M. *Treatment of dairy process waters using a vibrating filtration system and NF and RO membranes*. Journal of Membrane Science, v. 235, p. 111-122, 2004.
- ALICIEO, T.V.R.; MENDES, E.S.; PEREIRA, N.C.; LIMA, O.C.M. *Membrane ultrafiltration of crude soybean oil*. Desalination, v.148, p. 99-102, 2002.

- ALVAREZ, S.; LUCENA, M.E.; MENENDEZ, C.; RIERA, F.A.; ALVAREZ, R. *Beta-lactoglobulin removal from whey protein concentrates*. Separation and Purification Technology. v. 52, p. 310-316, 2006.
- AMADO, F.D.R. *Produção e caracterização de membranas catiônicas para eletrodialise com polímeros convencionais e polianilina dopada com diferentes ácidos orgânicos*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e dos Materiais. UFRGS, Porto Alegre, 2002.
- ANTUNES, A. J. *Funcionalidades de proteínas do soro de leite bovino*, São Paulo: Ed. Manole, 2003.
- APPLEGATE, L.E. *Membrane Separation Process*. Chemical Engineering, n. 12, v. 91, p. 64-89, 1984.
- ASTUDILLO, C.; CANCINO, J.; SAAVEDRA J. *Determination of colloid osmotic pressure through water activity for biological fluids*. New Biotechnology, v. 25, p. 180, 2009, disponível em: www.elsevier.com/locate/nbt, acesso em 05/05/2010.
- ATAMANENKO, I.; KRYVORUCHKO, A.; YURLOVA, L. *Study of the scaling process on membranes*, Desalination, v. 167, p. 327-334, 2004.
- ATRA, R.; VATAI, G.; BEKASSY-MOLNAR, E.; BALINT A. *Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose*, Journal of Food Engineering, v. 67, p.325-332, 2005.
- AYALA-BRIBIESCA, E., ARAYA-FARIAS, M., POURCELLY, G., BAZINET, L. *Effect of concentrate solution pH and mineral composition of a whey protein diluate solution on membrane fouling formation during conventional electrodialysis*. Journal of Membrane Science, v. 280, p. 790–801, 2006.
- AYALA-BRIBIESCA, E., POURCELLY, G., BAZINET, L. *Nature identification and morphology characterization of anion-exchange membrane fouling during conventional electrodialysis*. Journal of Colloid and Interface Science. v. 308 p. 182–190, 2007.
- BABU, P.R.; GAIKAR, V.G. *Membrane characteristics as determinant in fouling of UF Membranes*. Separation and Purification Technology, v. 24, p. 23-34, 2001.
- BACCHIN, P.; AIMAR, P.; FIELD, R.W. *Critical and sustainable fluxes: Theory, experiments and applications*. Journal of Membrane Science, v. 281, p. 42-69, 2006.
- BALAKRISHNAN, M.; AGARWAL, G.P. *Protein fractionation in a vortex flow filter. I: Effect of system hydrodynamics and solution environment on single protein transmission*, Journal of Membrane Science, v.112, p. 47-74, 1996.

- BALAKRISHNAN, M.; AGARWAL, G.P. *Protein fractionation in a vortex flow filter. II: Separation of simulated mixtures*, Journal of Membrane Science, v. 112, p. 75-84, 1996.
- BALANNEC, B.; VOURCH, M.; RABILLER-BAUDRY, M.; CHAUFER, B. *Comparative study of different nanofiltration and reverse osmosis membranes for dairy effluent treatment by dead-end filtration*. Separation and Purification Technology, v. 42, p. 195-200, 2005.
- BALDASSO, C. *Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. UFRGS, Porto Alegre, 2008.
- BALDASSO, C.; KANAN, J. H. C.; TESSARO, I. C. *An investigation of the fractionation of whey proteins by two microfiltration membranes with nominal pore size of 0.1 μm* International Journal of Dairy Technology. v.64, n.3, 2011a.
- BALDASSO, C.; BARROS, T.C.; TESSARO, I. C. *Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration*, Desalination v. 278, p. 381–386, 2011b.
- BARREDO-DAMAS, S.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; BES-PIÁ, A.; IBORRA-CLAR, M.I.; IBORRA-CLAR, A.; MENDOZA-ROCA, J.A. *Ceramic membrane behavior in textile wastewater ultrafiltration*. Desalination, v. 250, p. 623 – 628, 2010.
- BAZINET, L.; ARAYA-FARIAS, M. *Electrodialysis of calcium and carbonate high concentration solutions and impact on composition in cations of membrane fouling*. Journal Colloid Interface Science, v. 286, p. 639-646, 2005.
- BAZINET, L.; MONTPETIT, D.; IPPERSIEL, D.; AMIOT, J.; LAMARCHE, F. *Identification of skim milk electroacidification fouling: a microscopic approach*. Journal of Colloid and Interface Science, v.237, p. 62-69, 2001.
- BHATTACHARJEE, S.; BHATTACHARJEE, C.; DATTA, S., *Studies on the fractionation of β -lactoglobulin from casein whey using ultrafiltration and ion-exchange membrane chromatography*. Journal of Membrane Science, v.275, p.141–150, 2006.
- BOBRESHOVA, O.; NOVIKOVA, L.; KULINSTOV, P.; BALAVADZE, E. *Amino acids and water electrotransport through cation-exchange membranes*. Desalination, v.6, n.149, p. 363-368, 2002.
- BOSCHI, J.R. *Concentração e purificação das proteínas do soro de queijo por ultrafiltração*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

- BOTTOMLEY, R.C. *Process for obtaining concentrates having a high α -lactalbumin content from whey*. US Patent N° 5.008.376, 1991.
- BRAMAUD, C.; AIRNAR, P.; DAUFIN, G. *Optimisation of a whey protein fractionation process based on the selective precipitation of α -lactalbumin*. Le Lait, v.77, n.3, p.411-423, 1997.
- BRANDÃO, S.C.C. *Soro: um desafio para as fábricas de queijo*. Leite e Derivados, n.15, p. 13-19, 1994.
- BRANS, G. *Design of membrane systems for fractionation of particles suspensions*. PhD Thesis, Wageningen University, Netherlands, 2006.
- BRANS, G.; SCHROEN, C.G.P.H.; VAN DER SMAN, R.G.M; BOOM, R.M. *Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges*. Journal of Membrane Science, v. 243, p. 263–272, 2004.
- BUTYLINA, S.; LUQUE, S.; NYSTROMA, M. *Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration*. Journal of Membrane Science, v. 280, p. 418-426, 2006.
- BYLUND, G. *Dacry Processing Handbook*. Tetra Pak Processing Systems: 427 p., 1995.
- CALLE, E.V.; RUALES, J.; DORNIER, M.; SANDEAUX, J.; SANDEAUX, R.; POUCELLY, G. *Deacidification of the clarified passion fruit juice*. Desalination, v.6, n.149, p. 357 – 361, 2002.
- CAPITANI, C.D.; PACHECO, M.T.B.; GUMERATO, H.F.; VITALI, A.; SCHMIDT F.L. *Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo*. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.40, n.11, p.1123-1128, nov. 2005.
- CASADEMONT, C.; ARAYA-FARIAS, M.; POURCELLEY, G.; BAZINET, L. *Impact of electrodialytic parameters on cation migration kinetics and fouling nature of ion-exchange membranes during treatment of solutions with different magnesium/calcium ratios*. Journal of Membrane Science, v. 325, p. 570, 2008.
- CASADEMONT, C.; SISTAT, P.; RUIZ, B.; POURCELLEY, G.; BAZINET, L. *Electrodialysis of model salt solution containing whey proteins: Enhancement by pulsed electric field and modified cell configuration*. Journal of Membrane Science. v.328, p. 238–245, 2009.
- CASTRO, B. N., GERLA, P. E., *Hollow fiber and spiral cheese whey ultrafiltration: minimizing controlling resistance*. Journal of Food Engineering, v. 69, p. 495-502, 2005.

- CHAN, R.; CHEN, V.; BUCKNALL, M.P. *Ultrafiltration of protein mixtures: measurement of apparent critical flux, rejection performance, and identification of protein deposition*. Desalination, v.146, p.83-90, 2002.
- CHEANG, B.L.; ZYDNEY, A.L. *Separation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin using membrane ultrafiltration*. Biotechnol. Bioeng. v.83, p. 201–209, 2003.
- CHEANG, B.; ZYDNEY, A.L. *A two-stage ultrafiltration process for fractionation of whey protein isolate*. Journal of Membrane Science, v.231, p.159–167, 2004.
- CHEISON, S.C.; WANG, Z.; XU, S.Y. *Use of response surface methodology to optimize the hydrolysis of whey protein isolate in a tangential flow filter membrane reactor*. Journal of Food Engineering, v. 80, p. 1134 – 1145, 2007.
- CHENG, G.; WANG, Q.; SUNC, X.; MENG, H.; LI, J. *Experimental study on concentration of ammonium lactate solution from kitchen garbage fermentation broth by two-compartment electrodialysis*. Separation and Purification Technology, v. 62, p. 205–211, 2008.
- CHOI, H.; ZHANG, K.; DIONYSIOU, D.D.; OERTHER, D.B.; SORIAL, G.A., *Effect of permeate flux and tangential flow on membrane fouling for wastewater treatment*. Separation and Purification Technology, v. 45, p. 68 – 78, 2005.
- CHOLLANGI, A.; HOSSAIN, M. *Separation of proteins and lactose from dairy wastewater*. Chemical Engineering and Processing, 2006.
- CHOVE, B.E.; GRANDISON, A.S.; LEWIS, M.J. *Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration*. Food Hydrocolloids, v. 21, p. 1379-1388, 2007.
- COWAN, D.A.; BROWN, J.H., *Effect of Turbulence on limiting current in electrodialysis cells*, Ind. Eng. Chem. V. 51, n. 1445, 1959.
- DEC, B.; CHOJNOWSKI W. *Application of nanofiltration for demineralization and deacidification of Twarog acid whey*. Polish of Journal Natural Science, v 22, p. 320-332, 2007.
- DEEN, W.M. *Hindered Transport of Large Molecules in Liquid-Filled Pores*, AIChE Journal, v. 33, p. 1409 – 1425, 1987.
- DEERE, *Informações do mercado de Produtos lácteos*, Disponível em: http://www.deere.com.br/pt_BR/ag/veja_mais/info_mercado/milk.html Acesso em 05/08/2010

- EBERSOLD, M.F.; ZYDNEY, A.L. *The effect of membrane properties on the separation of protein charge variants using ultrafiltration*. Journal of Membrane Science, v. 243, p. 379 – 388, 2004.
- ELISSEEVA, G.S.; SHAPOSHNIK, V.A.; LUSCHIK, I.G. *Desmeneralization and separation of amino acids by electrodialysis with ion-exchange membranes*. Desalination, v.6, n. 149, p. 405 – 409, 2002.
- EMBRAPA, *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*, Brasília. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/mercado/tabela06.10.php> Acesso em 05/08/2010.
- ERDEM, I., CIFTCIOGLU, M., HARSA, S., *Separation of whey components by using ceramic composite membranes*. Desalination, v. 189, p.87-91, 2006.
- ESPINA, V.; JAFFRIN, M. Y.; DING, L.; CANCINO B. *Fractionation of pasteurized skim milk proteins by dynamic filtration*. Food Research International, v. 43, p. 1335–1346, 2010.
- FIELD, R.; AIMAR P. *Ideal limiting fluxes in ultrafiltration: comparison of various theoretical relationships*, Journal of Membrane Science, v. 80, 1993.
- FOLEY, G. *Ultrafiltration with variable volume diafiltration: A novel approach to water saving in diafiltration processes*. Desalination, v. 199, p. 220–221, 2006.
- FONG, B. Y.; NORRIS, C. S.; PALMANO, K. P. *Fractionation of bovine whey proteins and characterization by proteomic techniques*. International Dairy Journal, v. 18, n. 1, p. 23-46, 2008.
- FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, First Edition, London: Thomson Science, 378 p. 1998.
- GEKAS, V.F.; HALLSTROOM, B. *Mass transfer in the membrane concentration polarization layer under turbulent cross-flow. Critical literature review and adaptation of existing Sherwood correlations to membrane operations*, Journal of Membrane Science, v.30 p. 153-170, 1987.
- GESAN-GUIZIOU, G.; DAUFIN, G.; TIMMER, M.; ALLERSMA, D.; VAN DER HORST, C. *Process steps for the preparation of purified fractions of alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin from whey protein concentrates*. J. Dairy Res. v.66, p.225, 1999.
- GHIDOSI, R.; VEYRET, D.; MOULIN, P. *Computational fluid dynamics applied to membranes: State of the art and opportunities*, Chemical Engineering and Processing v.45, p. 437-454, 2006.

- GILL, W.N.; WILEY, D.E.; FELL, C.J.D.; FANE, A.C. *Effects of viscosity on concentration polarization in ultrafiltration*, AIChE J., v.34, p. 1563, 1988.
- GIRALDO-ZUÑIRA, A. D.; COIMBRA, J. S. R.; GOMES, J. C.; MINIM, L. A.; ROJAS, E. E. G.; GADE, A. D. *Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo*. Rev. Instit. Latic. Cândido Tostes, v. 59, p. 53-66, 2004.
- GIROTO, J.M.;PAWLOWSKY, U. *O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento*. Brasil Alimentos, n.10, p. 43-46, 2001.
- GÓMEZ, J.R.O. *Tenologías sostenibles. Revalorización de efluentes industriales mediante tecnologías de electromembrana*. Revista Mensual de Gestión Ambiental, v. 3, p. 13-25, 1999.
- GONÇALVES, F.; FERNANDES, C.; SANTOS, P.C.; PINHO, M.N. *Wine tartaric stabilization by electrodialysis and its assessment by the saturation temperature*, Journal of Food Engineering, v. 59, p. 229-235, 2003.
- GOSH R.; LI, Q.; CUI, Z. *Fractionation of BSA and lysozyme using ultrafiltration: Effect of gas sparging*, AIChE Journal, v.44, p. 61-67, 1998.
- GHOSH, R.; CUI, Z.F. *Simulation study of the fractionation of proteins using ultrafiltration*, Journal of Membrane Science, v. 180, p. 29-36, 2000.
- GRANDISON, A.S.; LEWIS, M.J. *Separation Processes in the food and Biothecnology Industries*. England, Woodhead Publishing, 287p., 1996.
- GREITER, M.; NOVALIN, S.; WENDLAND, M.; KULBE, K. D.; FISCHER, J. *Electrodialysis versus ion exchange: comparison of the cumulative energy demand by means of two applications*. Journal of Membrane Science, v. 233, p.11-19, 2004.
- GUADIX, A.; SORENSEN, E.; PAPAGEORGIOU, L. G.; GUADIX, E. M. *Optimal design and operation of continuous ultrafiltration plants*. Journal of Membrane Science, v. 235, p. 131-138, 2004.
- HAVEA, P.; SINGH, H.; CREAMER, L.K. *Characterisation of heat-induced aggregates of β -lactoglobulin, α -lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment*. Journal of Dairy Research, v. 68, p. 483-497, 2001.
- HABERT, A.; BORGES, C.; NOBREGA R.; COSTA, A.; OLIVEIRA, D.; RAMOS, G.M.; BERTOLDO, C. *Fundamentos e Operação dos Processos de Osmose Inversa e Nanofiltração*. Apostila do curso ministrado para CENPES/PETROBRÁS, 2006.
- HO, W.S.W.; SIRKAR, K.K. *Membrane Handbook*, 2 ed. New York: Chapman & Hall, 1992.

- HUFFMAN, L.M. *Processing whey protein for use as a food ingredient*. Food Technology, Feb, 1996.
- HWANG, K.J.; HUANG, P.S. *Cross-flow microfiltration of dilute macromolecular suspension*. Separation and Purification Technology, v. 68, p. 328 – 334, 2009.
- JAFFRIN, M.Y.; CHARRIER, J.P. *Optimization of ultrafiltration and diafiltration process for albumin production*. Journal of Membrane Science, v. 97, p. 71–81, 1994.
- JELÉN P. *Physico-Chemical Properties of Milk and Whey in Membrane Processing*, Journal Dairy Science, v. 62, p. 1343-1351, 1979.
- KABAY, N.; ARDA, M.; KURUCAOVALI, I.; ERSOZ, E.; KAHVECI, H.; CAN, M.; DAL, S.; KOPUZLU, S.; HANER, M.; DEMIRCIOGLU, M.; YUSKEL, M. *Effect of feed characteristics on the separation performances on monovalent and divalent salts by electrodialysis*, Desalination, v. 158, p. 95-100, 2003.
- KAPPLER, T.; POSTEN, C. *Fractionation of proteins with two-sided electro-ultrafiltration*. Journal of Biotechnology, v.128, p. 895-907, 2007.
- KARASUA, K.; YOSHIKAWAA, S.; OOKAWARAA, S.; OGAWAA, K.; KENTISHC, S. E.; STEVENSC, G. W. *A combined model for the prediction of the permeation flux during the cross-flow ultrafiltration of a whey suspension*. Journal of Membrane Science, v. 361, p. 71–77, 2010.
- KAUR, J.; AGARWAL G. P. *Studies on protein transmission in thin channel flow module: the role of dean vortices for improving mass transfer*, Journal of Membrane Science, v.196, p. 1-11, 2002.
- KEHOE, J.J.; MORRIS, E.R.; BRODKORB, A. *The influence of bovine serum albumin on β -lactoglobulin denaturation, aggregation and gelation*. Food Hydrocolloids, v. 21, p.747-755, 2007.
- KHIDER, K.; AKRETICHE, D.E.; LARBOT, A. *Purification of water effluent from a milk factory by ultrafiltration using Algerian clay support*. Desalination, v.167, p.147-151, 2004.
- KUCA, M.; SZANIAWSKA, D. *Application of microfiltration and ceramic membranes for treatment of salted aqueous effluents from fish processing*. Desalination, v. 241, p. 227 – 235, 2009.
- LAGRANGE, V.; DALLAS, P. *Produtos de soro dos EUA: Disponibilidade, recursos tecnológicos, aplicações*. Engenharia de Alimentos, n.15, p. 27-29, 1997.
- LANARA *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – II Métodos físicos e químicos*, LANARA - Laboratório Nacional

- de Referência Animal, Ministério da Agricultura – Secretaria de Defesa Agropecuária, Portaria 001/81 de 07/10/81.
- LEE, M.H. *Processing whey protein for use as a food ingredient*. Food Technology, v.50, p.49-52, 1996.
- LEITE, Z.T.C.; VAITSMAN, D.S.; DUTRA, P.B. *Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade*. Química Nova, v. 29, n. 4, p. 876-880, 2006.
- LEUNG, W.; PROBSTEIN, R.F. *Low polarization in laminar ultrafiltration of macromolecular solutions*, Ind. Eng Chem. Fundamentals, v. 18, p. 274, 1979.
- LI, Q.Y.; CUI, Z. F.; PEPPER, D. S. *Fractionation of HSA and IgG by gas sparged ultrafiltration*, Journal of Membrane Science, v. 136, p. 181-190, 1997.
- LINDSTRAND, V.; JONSON, A.S.; SUNDSTROM, G. *Organic fouling of electrodialysis membranes with and without applied voltage*. Desalination, v. 130, p. 73-84, 2000.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R.J. *Protein measurements with the Folin phenol reagent*. J. Biol. Chem., v.193, p.265-275, 1951.
- LUCENA, M. E.; ALVAREZ, S.; MENENDEZ, C.; RIERA, F.A.; ALVAREZ, R. *α -Lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates*. Separation and Purification Technology, v.52, p. 446–453, 2007.
- MARCOS, B.; MORESOLI, C.; SKOREPOVA, J.; Vaughan, B. *CFD modeling of a transient hollow fiber ultrafiltration system for protein concentration*, Journal of Membrane Science, v. 337, p. 136-144, 2009.
- MARTINEZ-FEREZ, A.; RUDLOFF, S.; GUADIX, A.; HENKEL, C. A; POHLENTZ, G.; BOZA, J. J.; GUADIX, E. M.; KUNZ, C., *Goats' milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: Isolation by membrane technology*. International Dairy Journal, v. 16, p. 173-181, 2006.
- MATTHEWS, M.E. *Whey Protein Recovery Process and Products*. Journal of Dairy Science, v.67, n.11, p.2680-2692, 1984.
- MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. *Functional Dairy Products*. Woodhead Publishing, England, 392 p., 2003.
- MEIEN, O.F.; NOBREGA, R. *Ultrafiltration model for partial solute rejection in the limiting flux region*, Journal of Membrane Science, v. 95, p. 227-239, 1994.
- METSAMUURONEN, S.; NYSTROM, M. *Evaluation of six flat sheet ultrafiltration membranes for fractionation of whey proteins*. Desalination, v. 200, p. 290-291, 2006.

- METSAMUURONEN, S.; NYSTROM M. *Enrichment of α -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes*, Journal of Membrane Science, v.337, p.248–256,2009.
- METSAMUURONEN, S.; MÄNTTÄRI, M.; NYSTRÖM, M. *Comparison of analysis methods for protein concentration and its use in UF fractionation of whey*. Desalination, In Press, 2011.
- MILLER, G.D.; JARVIS, J.K.; McBEAN, L.D. *Handbook of Dairy Products and Nutrition*, 2nd Ed., CRC Press LLC, Illinois, 2000.
- MILLER, G. L. *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. Analytical Chemistry, v. 31, n. 3, p. 426 - 428, 1959.
- MINHALMA, M.; MAGUEJO, V.; QUEIROZ, D.P.; PINHO, M. N. *Optimization of “Serpa” cheese whey nanofiltration for effluent minimization and by-products recovery*. Journal of Environmental Management. v. 82, p. 200-206, 2007.
- MIRANDA, J. M.; CAMPOS, J. B .L. M. *Concentration polarisation in a membrane placed under an impinging jet confined by a conical wall—a numerical approach*, Journal of Membrane Science. v.82, p. 257–270, 2000.
- MIZUBUTI, I.Y. *Soro de leite: Composição, Processamento e Utilização na Alimentação*. Semana Ciências Agrárias, v.15, n.1, p.80-94,1994.
- MORTENSON, M. A., VICKERS, Z. M., REINECCIUS, G. A. *Flavor of whey protein concentrates and isolates*. International Dairy Journal. 2008.
- MOUROUZIS M.S.A.; KARABELAS, A.J. *Whey protein fouling of microfiltration ceramic membranes – pressure effects*. Journal of Membrane Science. v. 282, p. 124-132, 2006.
- MULDER, M. *Basic Principles of Membrane Technology*. 2ndEd. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 564 p., 1996.
- MÜLLER, C.H.; AGARWAL,G.P.; MELIN, TH.; WINTGENS, Th. *Study of ultrafiltration of a single and binary protein solution in a thin spiral channel module*. Journal of Membrane Science, v. 227, p. 51–69, 2003.
- MULLER, A.; DAUFIN, G.; CHAUFER, B. *Ultrafiltration modes of operation for the separation of α -Lactalbumin from acid casein whey*. J. Membr. Sci., v.153, p.9–21,1999.
- NAKAMAE, I.J. *Anuário da pecuária brasileira*. Anualpec. São Paulo, p.191-232, 2004.

- NARONG, P.; JAMES, A. E. *Efficiency of ultrafiltration in the separation of whey suspensions using a tubular zirconia membrane*. Desalination, v. 219, p. 348 – 357, 2008.
- NEVES, B.S. *Aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios*. In: Embrapa Gado De Leite. Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar, p.97-108, 2001.
- NEVES, B.S. *Elaboração de bebidas lácteas a base de soro*. Revista Leite e Derivados, n.10, p. 50-54, 1993.
- NIKAEDO, P.H.L.; AMARAL, F.F.; PENNA, A.L.B. *Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado protéico de soro e misturas de gomas carragena e guar*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.40, n.3, p.397-404, 2004.
- OPONG, W.S.; ZYDNEY, A.L. *Diffusive and Convective Protein Transport through Asymmetric Membranes*, AIChE Journal, v. 37, p. 1497-1510, 1991.
- OUTINEN, M.; TOSSAVAINEN, O.; TUPASELA, T.; KOSKELA, P.; KOSKINEN, H.; RANTAMAKI, P.; SYVAOJA, E.L.; ANTILA, P.; KANKARE, V. *Fractionation of Proteins From Whey With Different Pilot Scale Processes*. Lebensm. Wiss.Technol. v. 29, p. 411 – 417, 1996.
- PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I.C.; FLORES, S. H.; DE JONG, E.V. *Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas*. Alim. Nutr., v.20, n.2, p. 231-239, abr./jun. 2009.
- PENG, C.; MENG, S.S.; LU, S.; VALDIVIESO, A.L. *Secondary potential in electrodialysis membranes and the effect on permselectivity*. Journal Colloid and Interface Science, v. 273, p. 256-261, 2004.
- PEREIRA, D.B.C. *Implementação de métodos para estimativa de desnaturação de soro-proteínas em controle de qualidade de produtos lácteos*. Milkbuzz Temático Tecnologia, fascículo I, ano I, n.º 1, São Paulo, p. 15-20, março/abril 2002.
- PINTO S.I.S; MIRANDA J.M.; CAMPOS J.B.L.M. *A numerical study of the apparent selectivity in the fractionation of two macromolecules by ultrafiltration*, Separation Science and Technology, in press, 2011.
- PLATT S.; MAURAMO M.; BUTYLINA S.; NYSTROM M. *Retention of pegs in cross-flow ultrafiltration through membranes*. Desalination, v.149, p. 417- 422, 2002.
- PORTO, L.M.; SANTOS, R.C.; MIRANDA, T.L.S. *Determinação das melhores condições operacionais no processo de produção de ricota*. Boletim CEPPA, v. 23, n.1, p.173-182, 2005.

- PRADANOS, P.; ARRIBAS, J.I.; HERNANDEZ, A. *Mass transfer coefficient and retention of PEGs in low pressure cross-flow ultrafiltration through asymmetric membranes*. Journal of Membrane Science, v. 99, p. 1 – 20, 1995.
- RAO, H. G. R. *Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk*. Desalination, v. 144, p. 319-324, 2002.
- RAUTENBACH, R.; ALBRECHT, R. *Membrane Processes*. John Wiley & Sons, New York, USA, 459 p, 1989.
- REIMANN, W. *Down Streaning of lactic acid from hydrolysate of barley after fermentantion*. Agricultural Engineering International: the CIGRE Journal, v.8, p.1-15, 2005.
- REKTOR, A., VATAI, G., *Membrane filtration of Mozzarella whey*. Desalination, v.162, p. 279-286, 2004.
- REZAEI, H.; ASHTIANI, F. Z.; FOULADITAJAR, A. *Effects of operating parameters on fouling mechanism and membrane flux in cross-flow microfiltration of whey*. Desalination, v.274, p. 262–271, 2011.
- RICEA, G.; BARBERB, A.; O’CONNORA, A.; STEVENSA, G.; KENTISHA, S. *Fouling of NF membranes by dairy ultrafiltration permeates*, Journal of Membrane Science v. 330, p. 117–126, 2009.
- RICHARDS, N.S.P.S. *Soro Lácteo – Perpectivas Industriais e Proteção ao Meio Ambiente*. Food Ingredients, n. 17, p. 20-27, 2002.
- RODRIGUES, L.R.M. *Valorização da fracção protéica do soro de queijo*. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia – Departamento de Engenharia Biológica. Universidade do Minho. Portugal, 2001.
- ROMÁN, A.; POPOVIĆ, S.; VATAI, G.; DJURIĆ, M.; TEKIC, M. N. *Process Duration and Water Consumption in a Variable Volume Diafiltration for Partial Demineralization and Concentration of Acid Whey*. Separation Science and Technology, v.45, p. 1347–1353, 2010.
- ROMÁN, A.; WANG, J.; CSANÁDI, J.; HODÚR, C.; VATAI, G. *Partial Demineralization and Concentration of Acid Whey by nanofiltration combined with diafiltration*. Desalination, v.241, p. 288-295, 2009.
- SAKSENA, S.; ZYDNEY, A.L. *Influence of protein-protein interactions on bulk mass transport during ultrafiltration*, Journal of Membrane Science, v. 125, p.93-108, 1997.

- SATA, T. *Studies on anion exchange membranes having permselectivity for specific anions in electrodialysis – effect of hydrophobicity of anion exchange membrane on permselectivity of anions*. Journal of Membrane Science, v. 182, p. 13-28, 2000.
- SATA, T.; SATA, T.; WONGKANG, Y. *Studies on cation-exchange membranes having permselectivity between cations in electrodialysis*. Journal of Membrane Science, v. 206, p. 31-60, 2002.
- SCHWINGE, J.; NEAL, P. R.; WILEY, D. E.; FLETCHER, D. F.; FANE, A. G. *Spiral wound modules and spacers: Review and analysis*, Journal of Membrane Science, v. 242 p. 129-153, 2004.
- SCOPES, R.K. *Protein Purification – Principles and Practice*, 2nd Ed., New York, Springer, 329 p., 1988.
- SGARBIERI, VC. *Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações*. São Paulo: Varela; 1996.
- SHEN, J.J.; PROBSTEN, R.F. *On the prediction of limiting flux in laminar ultrafiltration of macromolecular solutions*, Ind. Eng. Chem. Fund., v.16, p.459, 1977.
- SHEN, J.N.; LI, D.D.; QIU, J.H.; GAO, C.J. *Purification and concentration of collagen by charged ultrafiltration membrane of hydrophilic polyacrylonitrile blend*. Separation and Purification Technology, v. 66, p. 257 – 262, 2009.
- SHENGWEI, M.; STAVROS, C.; KASSINOS, D. *Direct simulation of the limiting flux: I. Interpretation of the experimental results*, Journal of Membrane Science, v.337 p. 81-91, 2009.
- SIMMONS, M.J.H.; JAYARAMAN, P.; FRYER, P.J. *The effect of temperature and shear rate upon the aggregation of whey protein and its implications for milk fouling*. Journal of Food Engineering, v. 79, p. 517 – 528, 2007.
- SMITH, G. *Dairy Processing – Improving quality*. New York, CRC Press, 531 p., 2003.
- SMITH, V.C. *Membranes ion exchange materials and the environments*. ASTM Standardization News, p. 30-33, 1992.
- SPIEGLER, K.S. *Polarization at ion exchange membrane-solution interfaces*, Desalination, v.9, p. 367-385, 1971.
- SPRINCHAN, E.G. *Optimization of Technological Regimes for Obtaining Protein–Mineral Concentrated Products from Secondary Milk Raw Materials*. Surface Engineering and Applied Electrochemistry, v. 45, p. 63–70, 2009.
- STRATHMANN, H. *Electrodialysis*. In: Winston Ho, W.S.; Sirkar, K.K. *Membrane Handbook*. Academic Publishers, London, p. 219-255, 2001.

- TANAKA, Y. *Limiting current density of an ion-exchange membrane and of an electrodialyser*. Journal of Membrane Science, v. 266, p. 6-17, 2005.
- TENCER, M.; CHARBONNEAU, R.; LAHOUD, N.; BERINI, P. *AFM study of BSA adlayers on Au stripes*, Applied Surface Science, v.253, p. 9209-9214, 2007.
- TIMMER J. M. K. E VAN DER HORST H. C. *Whey processing and separation technology: state-of-the-art and new developments*. Proc 2nd Int Whey Conf, Chicago, p. 27–29, October 1997, IDF Special Issue 9804, IDF Brussels, 40–65, 1998.
- URIBE, C.U; VINCENT-VELA, M.C.; ALVAREZ-BLANCO, S.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E. *Nanofiltration of sweet whey and prediction of lactose retention as a function of permeate flux using the KedemSpiegler and Donnan Steric Partioning models*. Separation and Purification Technology, v. 56, p. 38-46, 2007.
- USDEC – U. S. DAIRY EXPORT COUNCIL. *Características, Funções e Novas aplicações das proteínas do soro e suas novas frações*. Food Ingredients, n. 17, p.50-56, março/abril 2002.
- VAN REIS, R.; BRAKE, J.M.; CHARKOUDIAN, J.; BURNS, D.B.; ZYDNEY, A.L. *High-performance tangential flow filtration using charged membranes*. Journal of Membrane Science, v. 159, p. 133-142, 1999.
- VAN REIS, R.; ZYDNEY, A. *Membrane separation in biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology, v. 12, p. 208-211, 2001.
- VEIGA, P.G.; VIOTTO, W. H. *Fabricação de queijo Suisse por ultrafiltração de leite coagulado, Efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 21, p. 267-272, 2001.
- WAN, Y.; GHOSH, R.; CUI, Z. *High-resolution plasma protein fractionation using ultrafiltration*, Desalination, v.144, p. 301-306, 2002.
- WANG, Y.; HUANG, C.; XU, T. *Optimization of electrodialysis with bipolar membranes by using response surface methodology*. Journal of Membrane Science, v. 362, p. 249–254, 2010a.
- WANG, Y.; ZHANG, X.; XU, T. *Integration of conventional electrodialysis and electrodialysis with bipolar membranes for production of organic acids*. Journal of Membrane Science, v. 365, p. 294–301, 2010b.
- WIT, J.N. de. *Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products*, Journal of Dairy Science, v.81, p.597-608, 1998.
- WONG, N.P; JENESS, R.; KEENEY, M.; MARTH, E.H. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. 3rd Ed., New York: Aspen Publication, 779 p., 1999.

- XU, Y., SLEIGH, R., HOURIGAN, J., JOHNSON, R., *Separation of bovine immunoglobulin G and glycomacropeptide from dairy whey*, Process Biochemistry, v. 36, p. 393-399, 2000.
- XU, T. *Ion exchange membranes: State of their development and perspective*. Journal of Membrane Science, v. 263, p. 6-17, 2005.
- YADA, R.Y. *Protein in Food Processing*. England: Woodhead Publishing, 2004.
- YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO, J. *Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating condition*. Journal of Membrane Science. v. 209, p. 125 – 137, 2007.
- YUNOS, K.F.; FIELD, R.W. *Effect of sandwich configuration of ultrafiltration membranes on protein fractionation*. Desalination, v.199, p.222–224, 2006.
- ZADOW, J.G. *Whey and Lactose Processing*. England: Elsevier Applied Science, 1992.
- ZYDNEY, A.L. *Stagnant film model for concentration polarization in membrane systems*, Journal of Membrane Science, v.130, p. 275-281, 1997.
- ZYDNEY, A.L. *Protein separations using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation*. International Dairy Journal, v.8, p. 243-250, 1998.
- ZYDNEY, A.L.; PUJAR, N.S., *Protein transport through porous membranes: effects of colloidal interactions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 138, p. 133–143, 1998.
- ZYDNEY, A.L.; VAN REIS, R. *Membrane separations in biotechnology.*, Biochemical Engineering, Current Opinion in Biotechnology, v. 12, p. 208-211, 2001.

Apêndice A

A.1 Testes Preliminares - Estimativa do tamanho médio do poro

Nesta seção são apresentados os materiais e o método que foram utilizados para estimar o tamanho do poro (λ) da membrana testada para o fracionamento das proteínas. Este parâmetro é requisitado na Equação 5.18 da seção 5.2.3 Transporte Difusivo e Convectivo através da membrana. Por isso, antes de realizar as simulações considerando as proteínas, foram realizadas simulações, paralelamente a experimentos laboratoriais, com soluções de polietilenoglicol, de tamanho variado e conhecido, a fim de caracterizar a membrana e, desta forma, estimar o tamanho médio do poro.

Caracterização das Membranas de UF

A caracterização da membrana tem a finalidade de identificar as propriedades iniciais das membranas para que possam ser avaliadas as modificações destas durante os experimentos de permeação. Os primeiros procedimentos realizados foram a nível laboratorial. Neste âmbito, o desempenho da membrana foi avaliado através de medidas de permeabilidade hidráulica, resistência à permeação e retenção.

Soluções teste

Para avaliar a retenção foi realizada a caracterização da membrana verificando a retenção para soluções com solutos de diferentes massas molares (polietilenoglicol-PEG). As características dos diferentes PEG estão descritas na Tabela A.1.

Tabela A.1: Características dos PEG utilizados para os testes de caracterização das membranas

Componente	Massa Molar (Da)	Raio Molecular (nm)	Difusividade mássica (m^2s^{-1})
PEG 2	2.000	1,41	$1,8 \times 10^{-10}$
PEG 4	4.000	2,00	$1,3 \times 10^{-10}$
PEG 6	6.000	2,45	$1,0 \times 10^{-10}$
PEG 10	10.000	3,16	$8,1 \times 10^{-11}$
PEG 15	15.000	3,87	$6,6 \times 10^{-11}$
PEG 20	20.000	4,47	$5,6 \times 10^{-11}$
PEG 35	35.000	5,92	$4,2 \times 10^{-11}$

* adaptado de Prádanos *et al.* (1995).

Equipamento

A Figura A.1 mostra uma fotografia do equipamento utilizado para os experimentos de UF e a Figura A.2 é uma representação esquemática do sistema de bancada de UF.



Figura A.1: Fotografia do equipamento utilizado para os testes de caracterização da membrana.

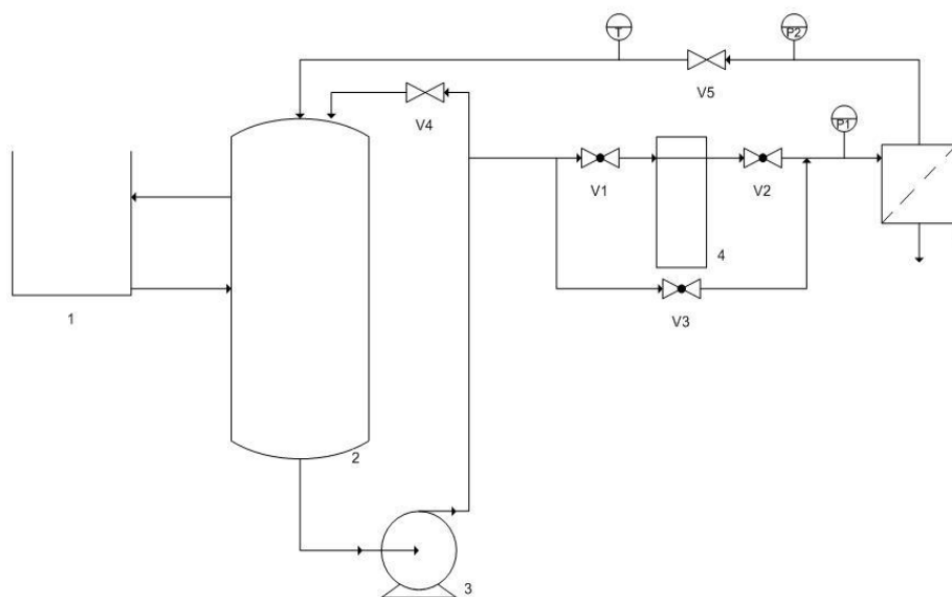


Figura A.2: Representação esquemática do sistema de bancada de UF. Legenda: (1) banho termostático, (2) tanque de alimentação, (3) bomba de engrenagens, (4) pré-filtro, (5) módulo para membrana, (P1) e (P2) manômetros.

Como pode ser visto na Figura A.2, o sistema consiste dos seguintes equipamentos:

- banho termostático (1), marca *Lauda*, com reservatório de $0,02 \text{ m}^3$, controle analógico de temperatura, precisão de 2°C , que opera na faixa de temperatura de 20 a 100°C ;
- tanque de alimentação de vidro (2), com capacidade de $0,002 \text{ m}^3$.
- bomba de engrenagens (3), fabricada pela *Procon*, construída em aço inoxidável e grafite, fornecendo uma pressão máxima de $17,23 \times 10^5 \text{ Pa}$ e vazão máxima de $7,89 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$;
- pré-filtro (4), da marca *Cuno* e fabricante *Engefiltros*, constituído de uma carcaça de aço inoxidável e elemento filtrante de polipropileno de $1 \mu\text{m}$;
- módulo plano para a membrana (5);
- termopar (T) do tipo J, com limites de erro padrão de $\pm 2,2^\circ\text{C}$ ou $\pm 0,75\%$. Este envia um sinal para um indicador de temperatura modelo *West 2300*, com graduação decimal em graus Celsius;
- dois manômetros (P1) e (P2), de aço inoxidável, localizados nas correntes de alimentação e concentrado, respectivamente, medem as pressões na entrada e na saída do módulo. Os manômetros da marca *Wika* possuem escala de 0 a $40 \times 10^5 \text{ Pa}$.

Membrana de UF

A escolha da membrana depende da qualidade do fluxo permeado e das características de retenção, porque a membrana deve reter alguns compostos e ser permeável a outros. A Tabela A.2 apresenta a membrana utilizada durante os experimentos, juntamente com as suas respectivas características.

Tabela A.2: Massas molares de corte da membrana utilizada nos experimentos de caracterização.

Membrana	MMC (Da)	Material
UF30	30.000	polietersulfona

A membrana foi fabricada por *DBD Filtros* e, conforme indicação do fabricante, deve ser utilizada em temperaturas inferiores a 370 K, em pH que esteja dentro da faixa de 0,5 e 13, possui espessura de 2×10^{-4} m e a camada seletiva com espessura média aproximada de 5×10^{-5} m.

Nas Figura A.3 e Figura A.4 observa-se as fotomicrografias da membrana de UF utilizada para os experimentos de caracterização. Na Figura A.3 é possível observar a camada suporte (responsável pela resistência mecânica) e a camada seletiva (camada de topo) da membrana. Na Figura A.4 observa-se a vista superior da membrana de UF, onde é possível verificar a presença de poros na camada seletiva.

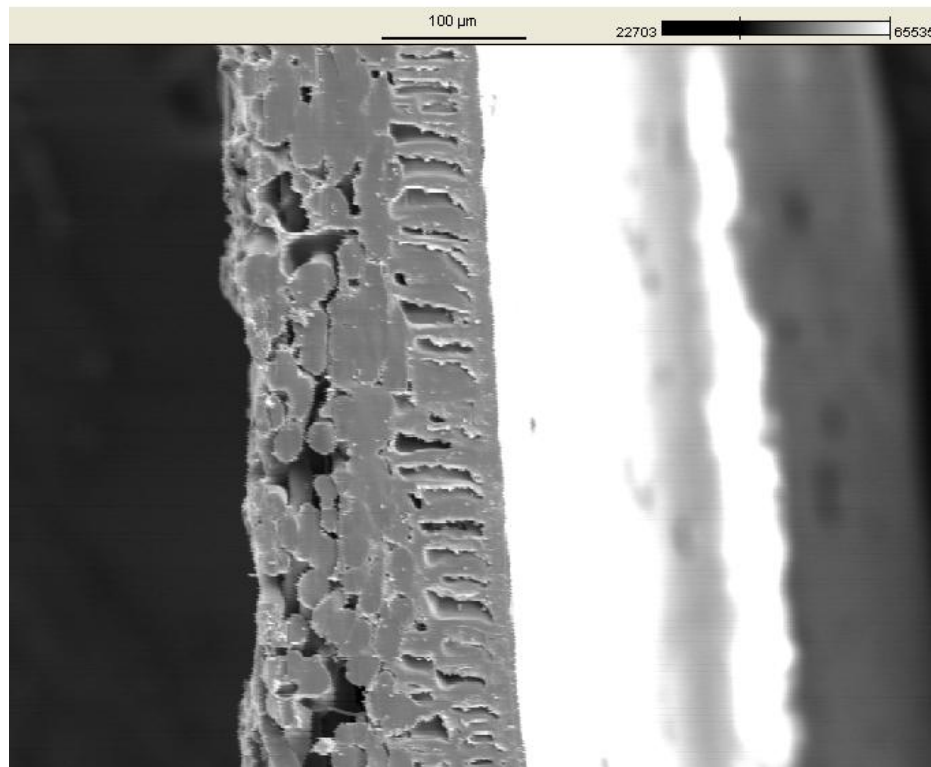


Figura A.3: Fotomicrografia da membrana UF30 obtida a 10 kV com magnitude de 200x Vista lateral.

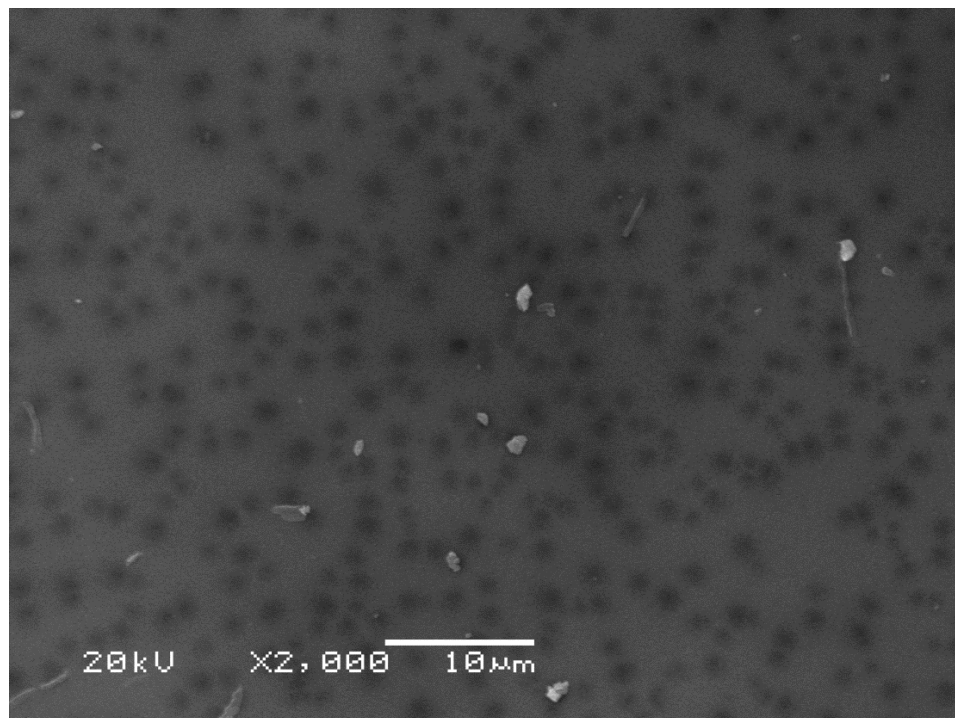


Figura A.4: Fotomicrografia da membrana UF30 obtida a 20 kV com magnitude de 2000x Vista superior.

Metodologia

O processo foi operado a temperatura de 30 ± 3 °C com uma vazão de alimentação média do sistema de 5 L.min^{-1} ($8 \times 10^{-5} \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$), o que representa uma velocidade inicial de escoamento (V_0) de $0,5 \text{ m.s}^{-1}$. A pressão transmembrana (ΔP) foi um parâmetro que foi variado durante os experimentos. O pH e a condutividade elétrica foram mensurados durante todo o experimento.

O sistema de filtração, em um primeiro momento, foi carregado com água destilada e a pressão transmembrana estabelecida foi de 800 kPa; em intervalos de 10 minutos o fluxo permeado era medido. Esse procedimento foi realizado com o objetivo de compactar as membranas de UF, adensando a microestrutura destas e, assim, evitar que diminuições de fluxo durante os experimentos ocorressem devido a este fator. Quando as medidas de fluxo se tornaram constantes (não variavam mais com o tempo decorrido), considerou-se que a membrana atingiu o grau máximo de compactação. A membrana era deixada em repouso por uma noite (aproximadamente 12 hs) e, caso houvesse a descompactação natural da membrana, o procedimento era repetido até que fosse atingido novamente o grau máximo de compactação.

Medidas de fluxo de água foram realizadas antes e após cada experimento com o objetivo de avaliar a permeabilidade hidráulica da membrana e a tendência ao *fouling*. Testes de permeação hidráulica são importantes para avaliar o comportamento das membranas servindo de referência para a avaliação do estado das mesmas após a passagem do efluente.

As medidas de fluxo de permeado foram realizadas através do método volumétrico direto, que consiste em calcular os dados de fluxo a partir da medida do tempo que um fluido leva para preencher um volume fixo.

A permeabilidade hidráulica foi determinada a partir de medidas de J_p obtido em cada ΔP , variando a pressão entre 100 e 800 kPa. Desta forma é possível calcular a resistência à permeação da membrana. A resistência à permeação (R_m) é um parâmetro derivado do modelo de resistências em série que descreve o transporte através da membrana. Este parâmetro pode ser determinado a partir da seguinte equação a seguir.

$$R_m = \frac{\Delta P}{\mu J_p} \quad (1.1)$$

O desempenho da membrana foi avaliado através destes parâmetros comparando os resultados obtidos no início do experimento de permeação (membrana com características de nova/limpa) com os obtidos após a permeação do efluente.

Após os testes de permeabilidade hidráulica iniciais, foram realizados os testes de caracterização com as soluções de PEG. Mediu-se o fluxo permeado desta solução, em diferentes pressões, assim como o realizado anteriormente para a água.

Foram realizados testes de permeação com soluções 0,05% (0,5 kg.m⁻³) de PEG com massa molar variando entre 2 a 35 kDa na membrana UF30. As características das moléculas utilizadas nestes experimentos estão apresentadas na Tabela A.1. Segundo PRÁDANOS *et. al.* (1995), a pressão osmótica de soluções de PEG, em baixas concentrações, é desprezível, e na temperatura do experimento a massa específica e a viscosidade dinâmica das soluções são, respectivamente, 1000 kg.m⁻³ e 8,99 x 10⁻⁴ Pa.s.

Nas condições do experimento com as características das soluções de PEG, chegou-se aos valores dos números adimensionais apresentados na Tabela A.3.

Tabela A.3: Valores dos números adimensionais para as condições experimentais e para as soluções de PEG.

Números adimensionais	
Re_0	1672
Pe	2,64 x 10 ⁷
Sc	1,58 x 10 ⁴

O teor de PEG das amostras de permeado e de concentrado foi avaliado através do método de TOC (teor de carbono total, método que está descrito posteriormente), e realizou-se o cálculo de retenção observada da membrana através da Equação 5.3.

Para calcular a retenção intrínseca da membrana utilizou-se a Equação 5.10, equação originada da teoria do filme. Plotou-se o gráfico de $\ln((1-R_{obs})/R_{obs})$ em função do J , e o coeficiente angular da curva representou o R de cada solução de PEG.

Com os valores de R em função da massa molar do PEG, fez-se uma curva, na qual a massa molar de corte da membrana é a massa molar para qual a membrana apresenta uma retenção de aproximadamente 95% das moléculas da solução de PEG.

Análise do Teor de Carbono Total

O Analisador de Carbono Orgânico Total (*TOC Analyzer*) da marca *Shimadzu*[®], modelo TOC-VCSH[®] foi utilizado para as análises das alíquotas de permeado e concentrado das soluções de PEG recirculadas no sistema de filtração.

O TOC funciona através de uma combustão seguida de detecção por infravermelho não dispersivo. O gás de arraste é o oxigênio de alta pureza e a temperatura de combustão da alíquota é de 680 °C. Esse equipamento trabalha na faixa de 4 ppb a 25000 ppm e os resultados são registrados em mg.L⁻¹ de carbono orgânico, carbono inorgânico e carbono total. O coeficiente de variação do equipamento nas análises é de até 2% e é possível realizar análises de amostras sólidas ou líquidas.

O analisador TOC é um equipamento totalmente automatizado. Após especificar o sistema de medição (calibrado anteriormente), as amostras são acondicionadas no amostrador automático (capacidade para 16 amostras), é especificado o sistema de coleta de dados e em algumas horas as amostras estarão analisadas. É possível exportar um arquivo texto com todas as informações da análise de TOC. Em média, a análise de cada amostra leva 16 min.

Uma vez determinadas as concentrações de carbono orgânico total em cada alíquota, é possível determinar o coeficiente de retenção observada, R_{obs} .

Resultados da Caracterização da Membrana de UF

Nesta seção são expostos os resultados obtidos durante a etapa de caracterização das membranas de UF. Estes são testes preliminares, que foram essenciais para o conhecimento das características da membrana, como: permeabilidade hidráulica; fluxo permeado, retenção observada e retenção real (intrínseca); assim como para estimativa do tamanho do poro da membrana. Todos os dados experimentais encontram-se documentados no Apêndice C.

Os resultados a seguir estão relacionados com caracterização da membrana UF30. A Figura A.5 apresenta os resultados dos fluxos permeados da água em função da pressão transmembrana para esta membrana.

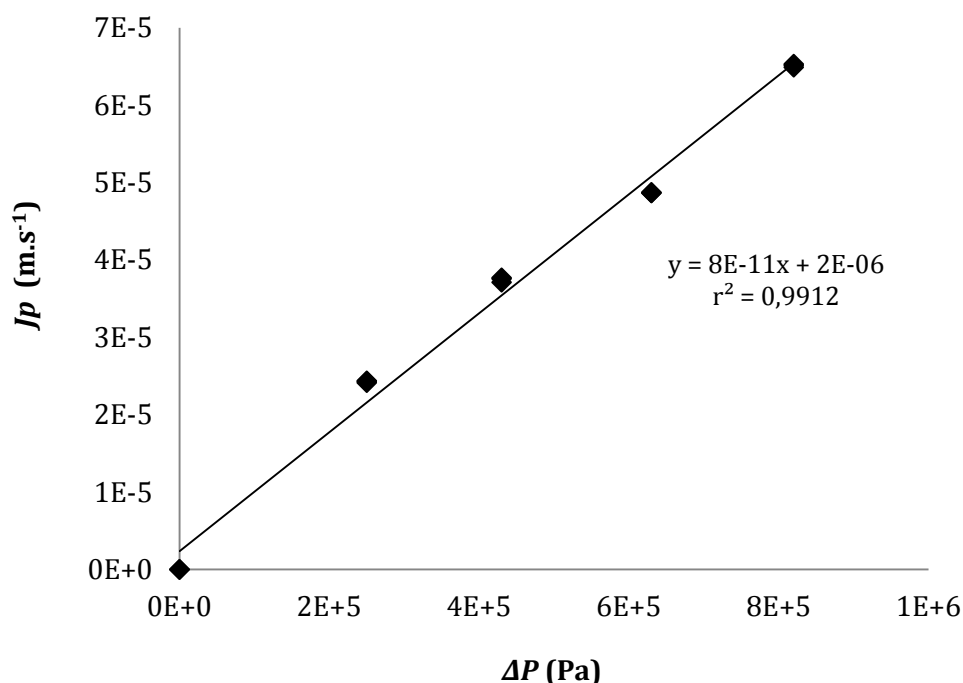


Figura A.5: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana, UF30, $V_0 = 0,5 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$.

Quando a alimentação é um solvente puro, parte do solvente puro escoar ao longo desta direção, atravessa a membrana e forma o permeado. O caudal de permeado depende da diferença de pressão hidrostática através da membrana, das propriedades físicas do fluido e de vários parâmetros estruturais da membrana, como: porosidade, espessura, tortuosidade e tamanho do poro. Ou seja, não exatamente uma membrana com maior tamanho de poro terá uma permeabilidade maior. Os valores de permeabilidade hidráulica são inerentes a cada membrana avaliada.

Com as medidas de permeabilidade hidráulica calculou-se a resistência da membrana, que está relacionada com a inclinação da curva gerada no gráfico da Figura A.5. A resistência da membrana é inversamente proporcional ao coeficiente angular da reta e é diretamente proporcional à viscosidade do fluido. Portanto, considerando a viscosidade da água a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, $\mu = 0,7978 \times 10^{-3} \text{ Pa.s}$, se obtém para esta membrana $R_m = 1,5 \times 10^{13} \text{ Pa}^{-1}.\text{s}^{-1}$. A equação que relaciona fluxo permeado com a pressão

transmembrana, indica que a relação entre a queda de pressão através da membrana e o caudal de permeado é linear, o que se verificou na prática ($r^2 = 0,9912$).

Na Figura A.6 apresenta-se o gráfico de fluxo permeado em função da pressão transmembrana para as soluções de PEG.

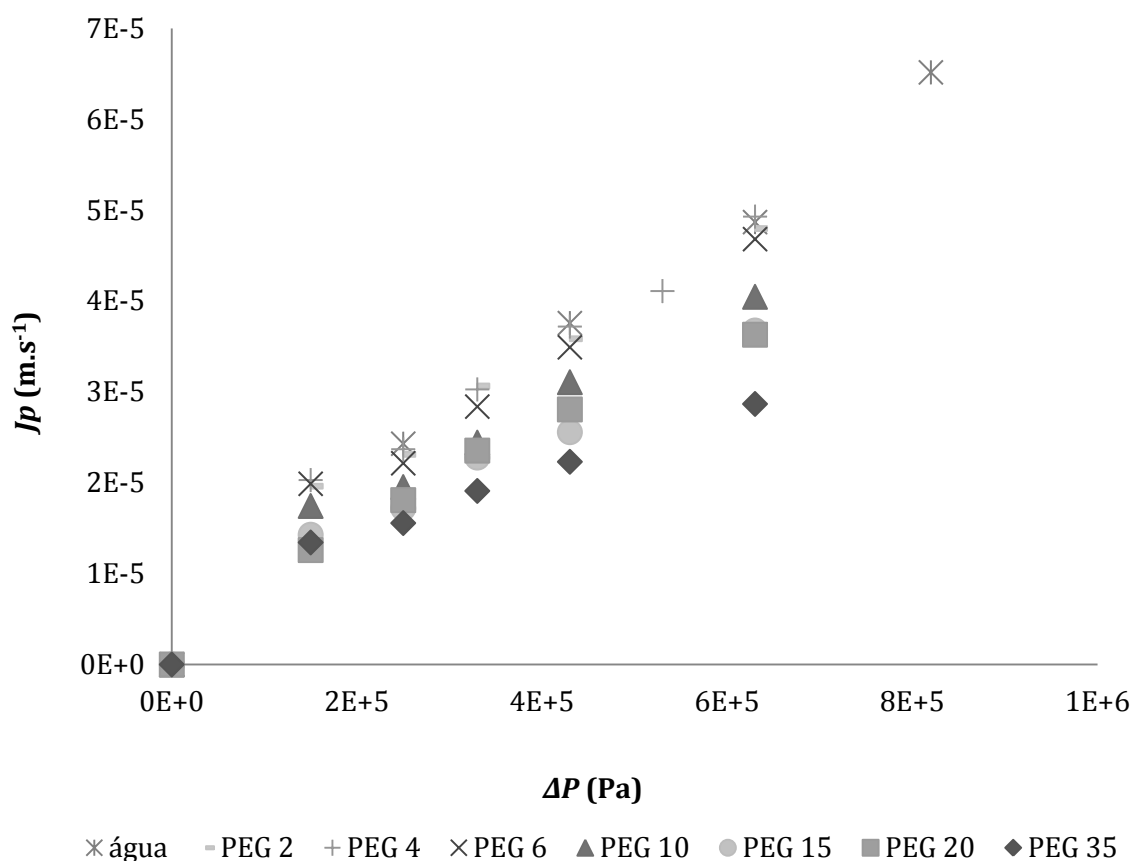


Figura A.6: Fluxo permeado das soluções de PEG ($0,5 \text{ kg.m}^{-3}$) em função da pressão transmembrana, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ \text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$.

Observa-se que há um aumento de J_p a medida que se aumenta a pressão do sistema, em todos os casos. Também, é possível observar que as soluções de PEG 2, 4 e 6 possuem fluxos de permeado comparáveis com o fluxo de água, e o fluxo aumenta linearmente com o aumento da pressão, indicando que não ocorreu polarização por concentração para estes casos. Para as soluções de PEG 10, 15, 20 e 35 o fluxo permeado é menor que o fluxo hidráulico, e as curvas de fluxo em função da pressão transmembrana não são lineares como nas soluções abordadas anteriormente. Ou seja, o fluxo é inversamente proporcional ao tamanho da molécula, e esta característica demonstra que apesar da baixa concentração das soluções de alimentação ($0,5 \text{ kg.m}^{-3}$) ocorreu

polarização por concentração para soluções com moléculas de massa molar superior a 10 kDa.

A diferença de pressão do sistema desloca parte do solvente na direção da membrana forçando-o a passar para o lado do permeado. No caso das soluções de PEG, o solvente transporta o soluto até à superfície da membrana. Como a membrana é parcialmente impermeável ao soluto, parte deste não a atravessa. Numa fase de estado não estacionário, o soluto acumula-se junto à superfície da membrana o que altera a distribuição de concentrações do lado do retido. Por causa do gradiente de concentrações resultante, o soluto difunde-se na direção da concentração *bulk* do retido. Em resumo, o transporte de soluto por convecção diminui, ao mesmo tempo que o transporte de soluto por difusão na direção oposta aumenta.

Quando a alimentação é composta por um solvente e um soluto de massa molar superior a MMC da membrana, o soluto se acumula junto à esta provocando uma resistência adicional ao escoamento de permeado, o que também faz com que a retenção observada seja diferente da retenção real.

Após a análise das alíquotas coletadas durante os experimentos de retenção, foram calculados os valores do coeficiente R_{obs} , conforme procedimento descrito anteriormente. Os resultados de retenção para a membrana UF30 estão apresentados na Figura A.7.

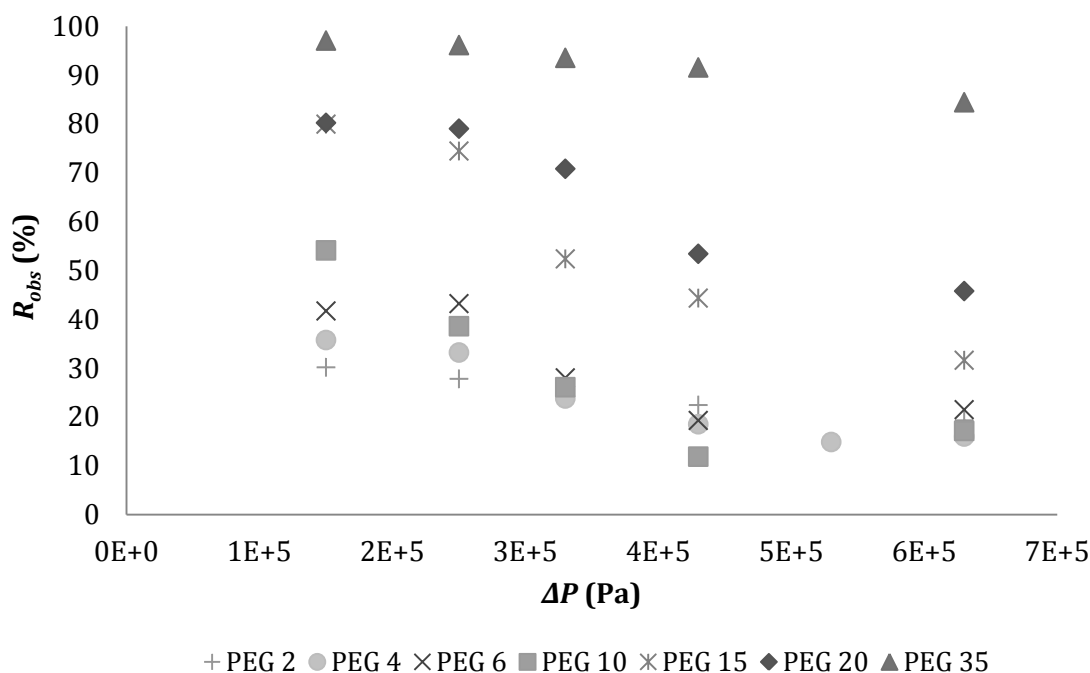


Figura A.7: Retenção observada em função da pressão transmembrana; membrana UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$. Desvio médio padrão $\pm 3\%$.

Na Figura A.6 verificou-se um aumento do fluxo permeado, em função do aumento da pressão transmembrana, e na Figura A.7 observou-se uma diminuição da R_{obs} , à medida que ΔP aumenta o que, também, é um indicativo da formação de filme polarizado por concentração. Além do mais, quanto maior a massa molar do PEG maior a retenção observada. PRÁDANOS *et al.* (1995) mostraram que o coeficiente de retenção, em princípio não deveria ser uma função da pressão, velocidade de recirculação e massa molar, no entanto diminui com o aumento da pressão transmembrana num processo de reciclo total quando ocorre polarização por concentração.

Após a análise das alíquotas coletadas durante os experimentos de retenção, foram calculados os valores do coeficiente R (retenção intrínseca), mediante aplicação do modelo do filme e conforme procedimento descrito no Capítulo 5. Utilizando os dados de R_{obs} e J dos PEG em diferentes pressões, foram plotados gráficos com curvas do tipo:

$$y = ax + b \quad (1.2)$$

onde $y = \frac{R_{obs}}{J}$, $x = J$, $a = -$ e $b = \frac{R_{obs}}{J}$, conforme a Equação 5.10, apresentada no Capítulo 5.

A retenções reais para os PEG relacionados a membrana UF30 foram calculados a partir do coeficiente linear das retas (Equação 1.3, coeficiente b). Ou seja, para o cálculo de R , a seguinte equação foi utilizada:

$$\text{---} \quad (1.4)$$

Na Figura A.8 apresenta-se as retas obtidas plotando-se o logaritmo natural da retenção observada em função do fluxo de polietilenoglicol. Nesta Figura A.8 optou-se por apresentar o resultado para as soluções de polietilenoglicol com três massas molares diferentes (2; 20 e 35 kDa), porque se fossem apresentadas todas as curvas neste gráfico, os pontos importantes das curvas não poderiam ser visualizadas devido a grande quantidade de informação. No entanto, as curvas para os PEG que foram omitidas neste gráfico, mostram o mesmo comportamento das apresentadas, e as equações das retas obtidas para cada um dos PEG estão apresentadas na Tabela A.4, assim como os valores calculados de R .

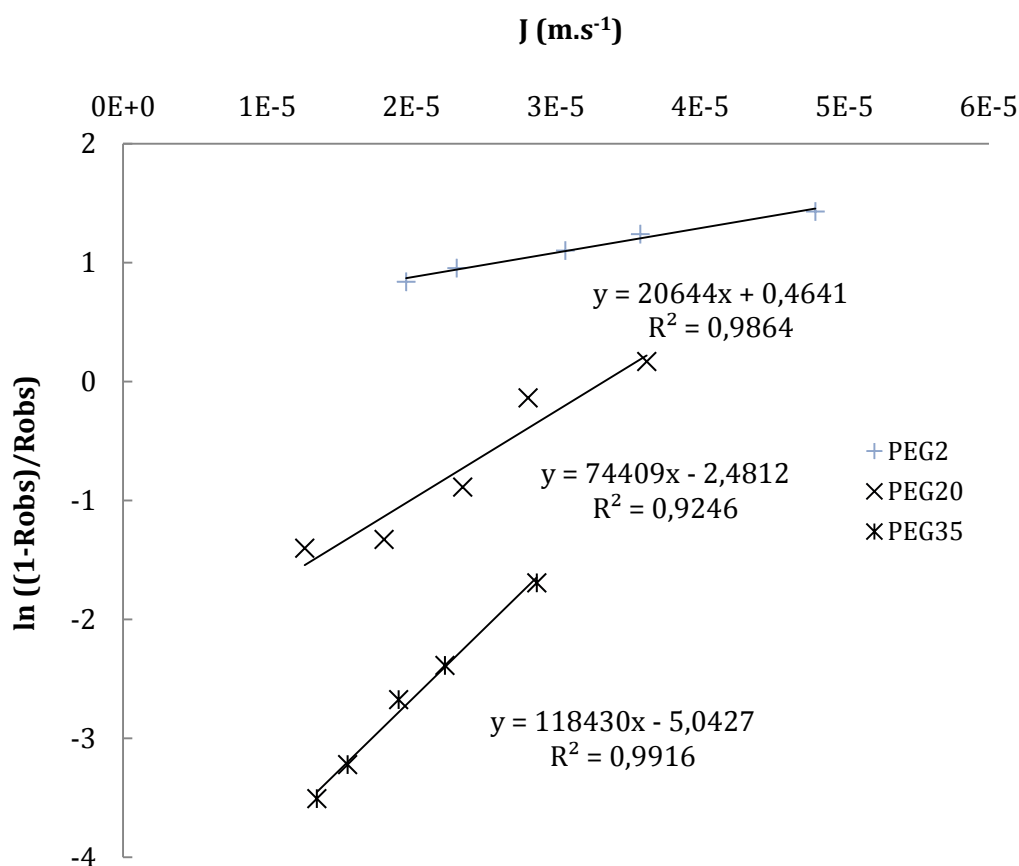


Figura A.8: Curvas de $\ln((1-R_{obs})/R_{obs})$ em função do fluxo permeado, UF30, $V_0 = 0,501 \text{ m.s}^{-1}$; $T = 30^\circ\text{C}$.

Tabela A.4: Retas obtidas do gráfico de retenção observada em função do fluxo permeado e Retenção intrínseca(calculada) da membrana em função das massas molares de PEG.

Massa Molar PEG (Da)	Retas obtidas através de		
	$\ln((1-R_{obs})/R_{obs})$ em função do fluxo permeado	r^2	R
2000	$y = 20644x + 0,4641$	0,98	0,3860
4000	$y = 42457x - 0,2055$	0,95	0,4511
6000	$y = 42152x - 0,4267$	0,94	0,6050
10000	$y = 76496x - 1,0494$	0,91	0,7406
15000	$y = 98286x - 2,6012$	0,99	0,9028
20000	$y = 74409x - 2,4812$	0,92	0,9409
35000	$y = 118430x - 5,0427$	0,99	0,9935

Com os valores de R em função da massa molar do PEG (Tabela A.4, colunas 4 e 1, respectivamente) fez-se a curva, na qual a massa molar de corte da membrana é a massa molar para qual a membrana apresenta uma retenção de aproximadamente 95% das moléculas da solução de PEG, como pode ser observado na Figura A.9.

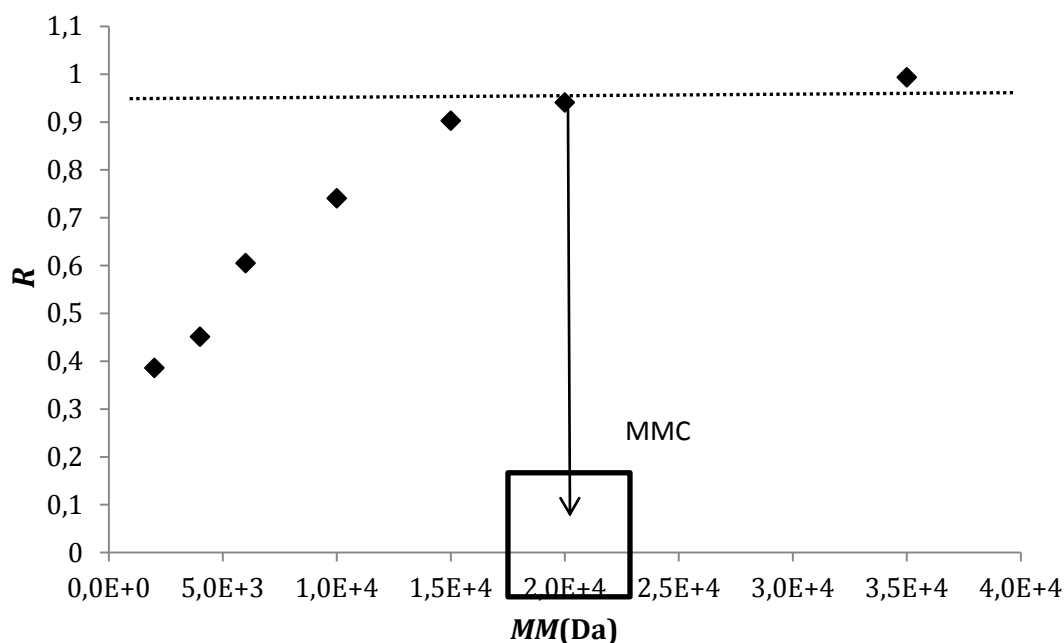


Figura A.9: Gráfico de massa molar de corte da membrana UF30, retenção intrínseca em função da massa molar de PEG.

Também é possível verificar que a retenção observada é diferente da retenção intrínseca, o que comprova que a polarização ocorreu para esta membrana.

Considerando os valores de retenção da membrana em função da massa molar de PEG é possível estimar a MMC da membrana que foi de aproximadamente 20 kDa, diferentemente do valor nominal fornecido pelo fabricante de 30 kDa. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que o fabricante faz aferições em amostras aleatórias de membranas fabricadas num mesmo lote. O fabricante não informou como foram feitas as aferições e/ou caracterizações das membranas. Outra hipótese para essa diferença de resultado é a possibilidade de ter sido usado um soluto diferente na caracterização. O PEG é uma molécula linear e pode, dependendo da tortuosidade dos poros da membrana analisada, ter uma retenção menor que uma molécula globular, que seria mais eficiente na caracterização da retenção na membrana, ou seja, poderia apresentar uma retenção maior.

Esse resultado mostra a importância dos testes de caracterização. Muitas vezes membranas indicadas para uso em certas aplicações acabam sendo descartadas, por esta diferença entre o que é informado pelo fabricante, e o que realmente ocorre nos experimentos

A partir da massa molar de corte, dos valores de retenção, para a molécula que ficou 95% retida, e dos dados da Tabela A.1, e das propriedades da membrana (espessura, dimensões do módulo) é possível, matematicamente utilizando as Equações 5.12 a 5.21, estimar o valor de s . Com o valor do s calculado, utiliza-se o programa *MembSim* para obter perfis de velocidade, de concentração, de seletividade ao longo da membrana; além de estimar o fluxo de permeado, e a retenção do sistema. No momento que os dados simulados são comparáveis aos experimentais, assume-se que o valor do tamanho do poro foi encontrado e este valor é usado para as simulações do fracionamento das proteínas.

Diversas simulações numéricas foram realizadas para encontrar o tamanho médio do poro. Considerando as características da molécula de PEG 20, manteve-se constante a pressão transmembrana e a malha do programa de simulação e variou-se o tamanho do poro (s) e, com isso, as características de difusividade, retenção intrínseca e observada calculada se modificaram também, como pode ser observado na Tabela A.5. Neste momento, a intenção era descobrir qual s aproximaria a retenção observada calculada da retenção observada experimental, que para pressão transmembrana de 150 kPa era de 80%. Este valor de pressão para os cálculos foi escolhido por ser o menor valor de pressão utilizada nos experimentos de laboratório, e por ser neste ponto que haveria a menor probabilidade da polarização por concentração ter acontecido. Na Tabela A.5

observa-se que o $s = 2,59 \times 10^{-9}$ foi a que teve a melhor aproximação entre os valores estudados.

Tabela A.5: Resumo dos dados das simulações numéricas realizadas para estimativa do tamanho do poro.

	malha	ΔP (Pa)	s	λ	D (m ² .s ⁻¹)	R int	R obs
s1	501x301	1.5E+05	2.89 E-9	0.774	4.44E-14	93.2	65.19
s2	501x301	1.5E+05	2.79 E-9	0.802	2.40E-14	95.0	70.70
s3	501x301	1.5E+05	2.69 E-9	0.831	1.12E-14	96.5	76.78
s4	501x301	1.5E+05	2.59 E-9	0.864	4.14E-15	97.8	80.06

Após encontrar o s que mais aproximava a retenção calculada pelo programa da retenção encontrada experimentalmente, foram realizados testes com diferentes malhas verticais e diferentes pressões transmembrana. Estes dados estão apresentados na Figura A.10.

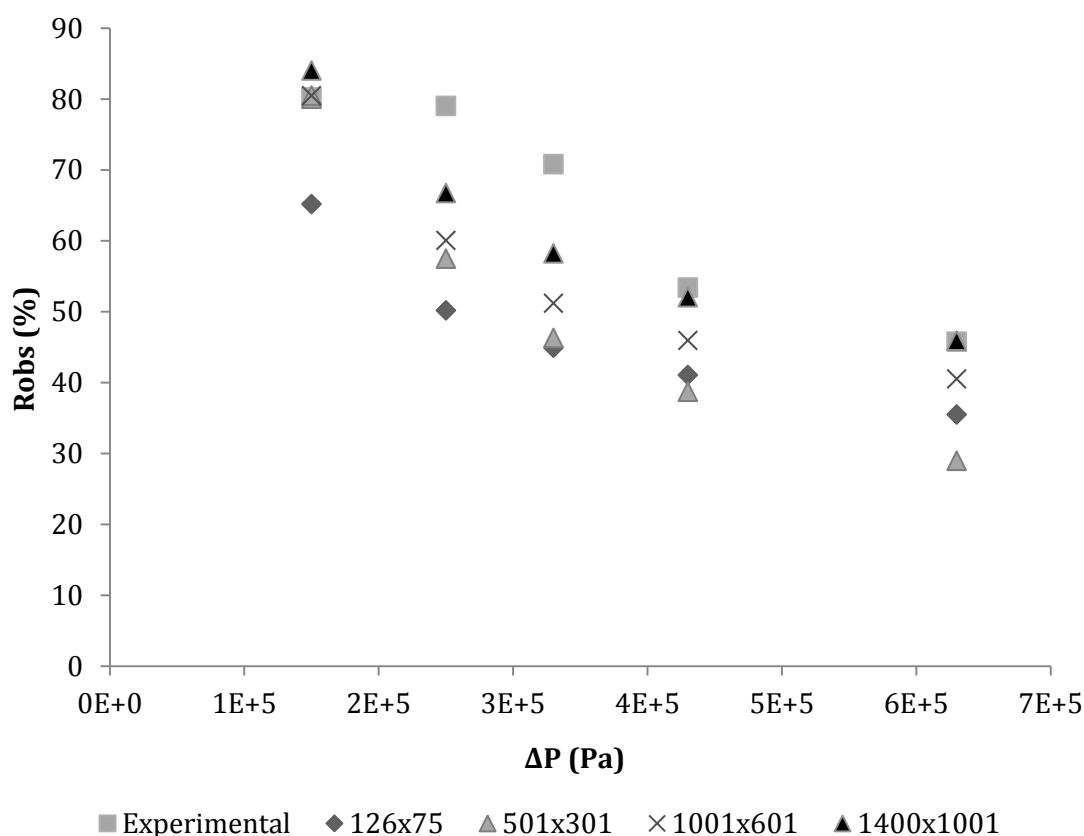


Figura A.10: Gráfico de retenção observada em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados para diferentes malhas.

Observa-se na Figura A.10 que a malha que mais divergiu dos resultados experimentais foi a de 126 x 75 nós (a com menor refinamento) e a que mais se aproximou foi a de 1400 x 1001 nós.

Diversos testes de malha foram realizados com o intuito de aproximar ainda mais os dados teóricos dos reais, no entanto, atingimos o limite do programa *MembSim* em termos de refinamento da malha, e, por isso, assumimos a malha de 1400x1001 para as simulações numéricas posteriores.

Na Tabela A.6 é apresentado o resumo dos resultados médios encontrados para o s , assumido como tamanho médio do poro da membrana e com a malha de 1400 x 1001.

Tabela A.6: Resumo dos dados das simulações numéricas realizadas para estimativa do tamanho do poro.

Pressão (Pa)	Cm	Cp	R obs calculada
1.5E+05	3.67	0.16	84.04
2.5E+05	7.65	0.33	66.76
3.3E+05	9.61	0.42	58.25
4.3E+05	11.03	0.48	52.05
6.3E+05	12.44	0.54	45.93

Observa-se que a concentração de moléculas de PEG na superfície da membrana (C_m) aumenta com o aumento da pressão. O mesmo acontece com a concentração no permeado (C_p).

No caso deste trabalho o s calculado foi $s = 2,59 \times 10^{-9}$ m e a malha utilizada foi 1400x1001. Os gráficos de fluxo permeado e da retenção observada em função da pressão transmembrana para os dados simulados e experimentais são apresentados nas Figura A.11 e Figura A.12.

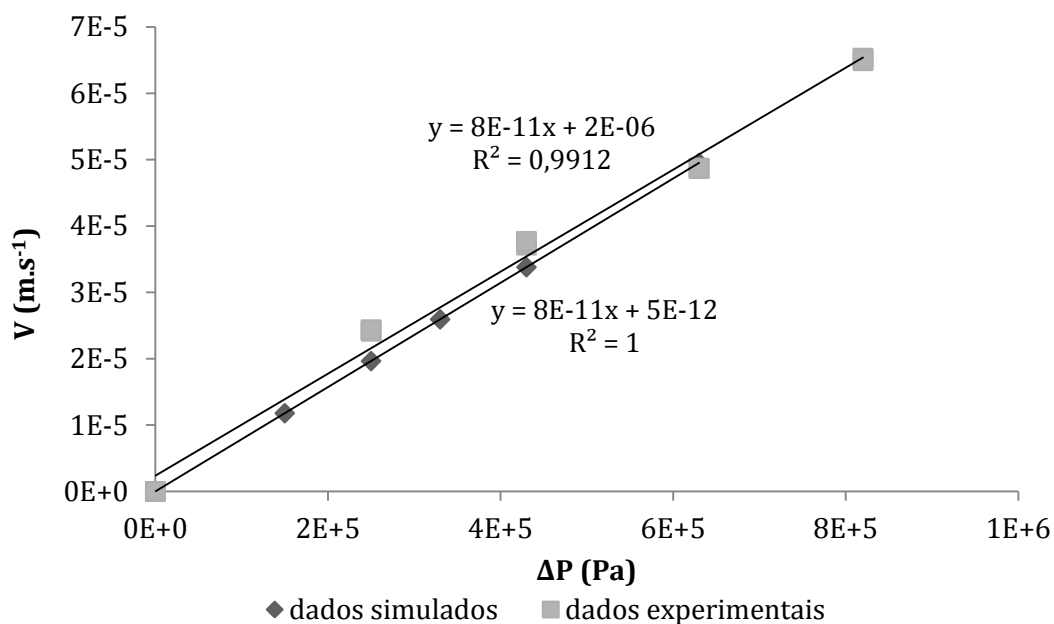


Figura A.11: Gráfico de fluxo hidráulico em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados.

É possível verificar que o fluxo de água para os dados simulados e para os experimentais estão bastante próximos, isto mostra que a pressão osmótica pode ser desprezada. Apesar de ocorrer polarização, isso não afeta a velocidade de permeado, o que implica que a pressão osmótica não varia com a concentração de PEG.

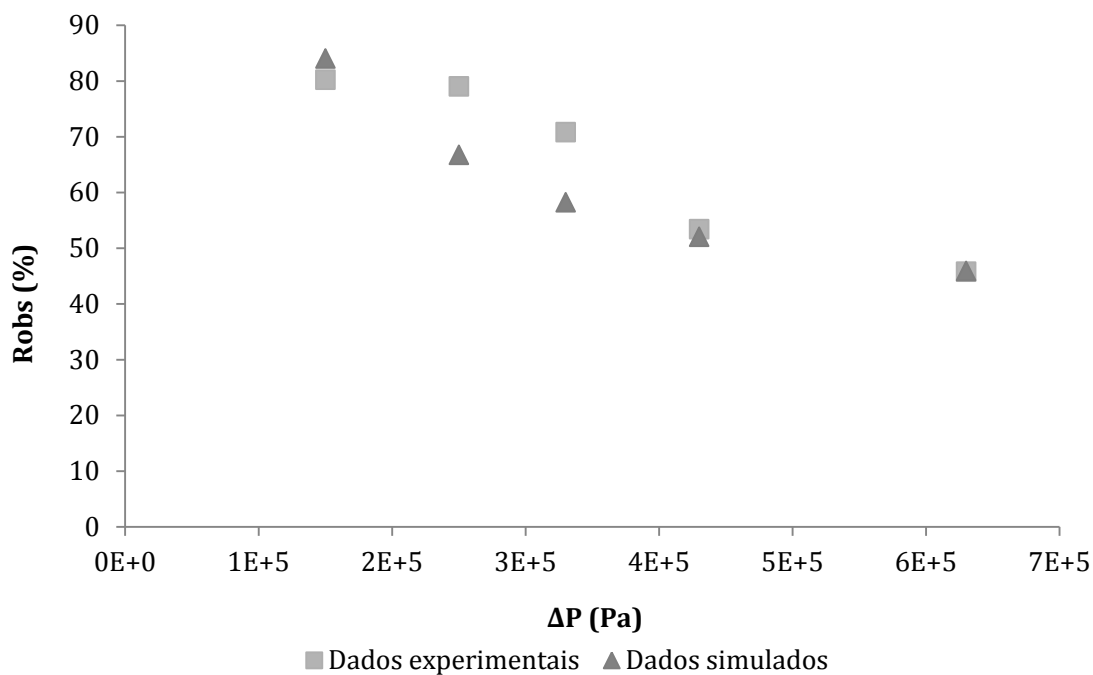


Figura A.12: Gráfico de retenção observada em função da pressão transmembrana – comparação de dados experimentais e simulados.

Quanto a retenção observada é possível verificar na Figura A.12 que as curvas dos dados experimentais e dos dados simulados não coincidem em todos os pontos de pressão transmembrana, mas no entanto estão bastante próximas.

Esta diferença nas curvas pode ser explicada porque assumimos um valor médio de tamanho de poro, no entanto em membranas de UF há uma distribuição de tamanho de poros, ou seja, não é um valor único, como foi considerado neste trabalho.

Apêndice B

B.1 Métodos Analíticos

Neste anexo estão descritos os métodos analíticos utilizados para a realização das análises das amostras estudadas durante a realização deste trabalho.

B.1.1 Análise de Extrato Seco Total - método gravimétrico

Materiais:

- cápsula de fundo chato de porcelana;
- areia tratada;
- dessecador com sílica gel ou cloreto de cálcio;
- pipeta volumétrica de 10 mL;
- banho-maria;
- estufa a 85 °C;
- balança analítica.

Procedimento

1. Cobrir as cápsulas de fundo chato com 10 g de areia tratada;
2. Levar a estufa a 105 °C por 1 hora;
3. Esfriar em dessecador por 45 minutos e pesar;
4. Pipetar volumetricamente 10 mL de amostra distribuindo a solução em toda a superfície da areia;
5. Levar ao banho-maria por 30 minutos;
6. Secar em estufa a 85 °C por 2 horas;
7. Esfriar em dessecador e pesar;

8. Repetir os procedimentos 6 e 7 até peso constante ou mínimo.

Obs.: Quando a quantidade de sólidos totais é muito pequena aconselha-se tomar 20 mL de amostra.

Cálculo do extrato seco total:

$$ST = \frac{\Delta m}{V} \quad (2.1)$$

onde: ST = sólidos totais (g.L⁻¹); Δm = diferença de massa antes e após a secagem (g); V = volume da amostra (L).

B.1.2 Análise de Lactose - Método do ácido dinitrossalicílico -

DNS

Materiais:

- estufa a 85 °C;
- reagente DNS;
- tubos de ensaio;
- lactose (padrão).

Método

1. Preparar uma solução de DNS:
 - a. 0,25 gramas de Ácido 3,5-dinitrossalicílico
 - b. 75,0 gramas de Tartarato de sódio e potássio dissolvidos em 50 mL de NaOH 2 M.
 - c. 250 mL de água.
2. Adicionar 200 µL de padrão, amostra ou controle a 2 mL de solução DNS.
3. Aquecer a mistura em banho-maria a 100° C por 10 min.
4. Esperar esfriar e ler a absorbância à temperatura ambiente e a 570 nm.
5. Aplicar o valor da leitura na respectiva equação da curva-padrão previamente elaborada para o aparelho.

Obs: Sensibilidade do método de 0,3 a 30 mM de lactose.

Metodologia para obtenção da curva-padrão para açúcares redutores

1. Preparar uma solução de lactose 5 g.L^{-1} .
2. Diluir para concentrações desejadas (Ex: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e $5,0 \text{ g.L}^{-1}$).
3. Colocar em tubo de ensaio: 200 μL da solução contendo o açúcar + 2 mL do reagente DNS.
4. Preparar uma solução sem lactose, contendo H_2O e DNS para zerar o aparelho.
5. Deixar em banho-maria a 100°C por 10 minutos.
6. Esperar esfriar até atingir a temperatura ambiente.
7. Ler a absorbância em espectrofotômetro a 570 nm.

Obs: A curva-padrão somente se aplica para leituras no aparelho em que foi estabelecida.

B.1.3 Determinação da proteína total - Método de Lowry**Reagentes:**

- reagente A: dissolver 0,5 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 1,0 g de citrato de sódio em 100 mL de água destilada; (esta é uma solução estável e pode ser preparada com antecedência);
- reagente B: dissolver 20,0 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e 4,0 g de hidróxido de sódio (NaOH) em 1,0 L de água destilada; (esta solução não é estável e deve ser preparada na hora da análise);
- reagente C: misturar 1 mL do reagente A e 50 mL do reagente B;
- reagente D: Reagente Folin-Ciocalteus 2 N e água destilada preparados na proporção 1:1; (solução estável);
- solução padrão de BSA ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$).

Procedimentos

1. Para determinar a concentração de proteínas da amostra, construir uma curva padrão de calibração com cinco concentrações diferentes de proteína, BSA – 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.
2. Adicionar 2,5mL do reagente C a um tubo de ensaio contendo 500 mL de amostra diluída apropriadamente (contendo até $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) de proteínas e misturar bem. A amostra deve ser diluída de forma que sua concentração fique dentro da amplitude da curva de calibração. Normalmente, diluições de 40 vezes são suficientes (50 mL de amostra + 1950 mL de água destilada);
3. Incubar a temperatura ambiente por 5-10 minutos;
4. Adicionar a seguir 250mL do reagente D, misturar bem e incubar novamente por 30 minutos;

5. Ler a absorbância à 750 nm.
6. A concentração das amostras é determinada pela interpolação dos valores de absorbância na curva padrão.

Obs.: A curva de calibração deve ser feita todas as vezes em que a metodologia for utilizada, já que alguns reagentes não são estáveis e devem ser preparados no momento da análise.

Apêndice C

Dados Experimentais

Neste apêndice estão documentadas as tabelas de dados dos experimentos realizados ao longo deste trabalho com as respectivos duplicatas.

C.1 UF - Concentração e purificação das proteínas

Tabela C.1: Dados de fluxo médio de água em função da ΔP , para as membranas UF-6001a 50 °C.

$\Delta P(kPa)$	$J_p (m.s^{-1})$	
100	1.71E-05	1.61E-05
200	2.94E-05	2.77E-05
300	4.48E-05	4.21E-05
400	5.96E-05	5.61E-05

Tabela C.2: Dados de fluxo médio de soro de leite em função da ΔP , para a membrana UF-6001, a 50 °C e vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} m^3.s^{-1}$

$\Delta P (kPa)$	$J_p (m.s^{-1})$	
375	1.30E-05	1.24E-05
325	1.10E-05	1.09E-05
270	9.26E-06	9.57E-06
215	7.74E-06	7.22E-06
175	6.41E-06	6.35E-06
125	5.48E-06	5.03E-06
75	2.95E-06	3.32E-06

Tabela C.3: Dados detalhados do processo de UF/DF, incluindo teor de sólidos totais, proteína, lactose, condutividade elétrica, pH para as amostras de concentrado e permeado monitoradas conforme o tempo e etapa dos processos de concentração e purificação do soro utilizando a membrana UF-6001, T= 50 °C, ΔP = 200 kPa e vazão de alimentação média de $2,33 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

Concentrado							
Etapa	t (min)	J_p ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$) $\pm 6\%$	ST ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 6\%$	Proteína ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 5\%$	Lactose ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 6\%$	Cond. elétrica ($\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$) $\pm 0,5\%$	pH $\pm 0,5\%$
UF	0	9.8E-06	58,1	9,3	41,8	6,45E-03	6,4
UF	35	7.9E-06	60,7	12,5	42,2	6,45E-03	6,4
UF	65	6.7E-06	62	15,6	43,4	6,49E-03	6,4
UF	95	5.1E-06	67,6	21,6	44	6,47E-03	6,4
UF	125	5.1E-06	72,3	26,8	44,5	6,49E-03	6,4
UF	155	5.2E-06	76,1	29,6	46	6,50E-03	6,4
UF	185	4.6E-06	79	31,5	47,3	6,63E-03	6,4
UF	215	4.4E-06	82,7	33,9	48,7	6,59E-03	6,4
UF	265	4.3E-06	85,9	36,8	49,1	6,64E-03	6,4
DF1	329	4.4E-06	71,5	36,5	35	4,63E-03	6,4
DF2	395	4.6E-06	64,7	36,8	27,9	3,28E-03	6,5
DF3	430	4.4E-06	59,5	36,6	22,9	2,68E-03	6,4
DF4	465	4.8E-06	52,5	36,9	15,6	2,23E-03	6,3

Permeado					
Etapa	ST ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 6\%$	Proteína ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 5\%$	Lactose ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) $\pm 6\%$	Cond. elétrica ($\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$) $\pm 0,5\%$	pH $\pm 0,5\%$
UF	47,3	0,4	39,2	6,30E-03	6,4
UF	46,7	0,0	41,9	6,29E-03	6,4
UF	46,2	0,0	41,5	6,35E-03	6,4
UF	45,2	0,0	39,0	6,37E-03	6,4
UF	45,0	0,0	38,4	6,42E-03	6,3
UF	45,0	0,0	41,2	6,40E-03	6,3
UF	44,2	0,0	41,9	6,40E-03	6,3
UF	49,6	0,0	41,2	6,58E-03	6,3
UF	50,9	0,0	42,8	6,64E-03	6,3
DF1	32,3	0,0	27,9	4,56E-03	6,3
DF2	19,3	0,0	19,4	3,09E-03	6,3
DF3	14,8	0,0	15,1	2,47E-03	6,3
DF4	12,1	0,0	10,7	1,96E-03	6,2

C.2 Eletrodíálise

Tabela C.4: Dados de corrente elétrica (A) e tensão elétrica (V) para as soluções de eletrodos CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl (condutividade elétrica de 6 mS.cm^{-1}). Desvio padrão médio = ± 4 a 5% .

K_2SO_4		NaCl		KCl		CaCl_2	
V (V)	i (A)	V (V)	i (A)	V (V)	i (A)	V (V)	i (A)
1	0.01	0.08	0.01	0.07	0.01	0.08	0.01
3.6	0.04	3.9	0.04	3.3	0.08	3.9	0.04
6.2	0.08	6.6	0.09	6.2	0.16	6.6	0.09
9.3	0.13	9.2	0.18	9.4	0.24	9.2	0.18
12.3	0.17	12.6	0.27	12.4	0.31	12.6	0.27
15.2	0.21	15.2	0.33	15.4	0.38	15.2	0.33
18.3	0.38	18.3	0.4	18.6	0.46	18.3	0.4
21.7	0.48	21.3	0.46	21.7	0.54	21.3	0.46
25.3	0.59	24.4	0.54	24.2	0.61	24.4	0.54
28.1	0.7	27.3	0.62	27.4	0.7	27.3	0.62
31.2	0.79	30.3	0.69	30.4	0.78	30.3	0.69

Tabela C.5: Dados de condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl) e respectivas duplicatas.

t (min)	K_2SO_4		NaCl		KCl		CaCl_2	
	Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	
0	5.92	5.99	5.75	5.85	5.34	5.14	5.67	5.57
10	5.55	5.65	5.48	5.58	5.04	4.67	5.37	5.18
20	5.25	5.35	5.18	5.28	4.57	4.27	4.98	4.75
30	4.81	5.00	4.90	5.00	4.17	3.87	4.55	4.35
40	4.35	5.01	4.65	4.75	3.77	3.45	4.15	3.97
50	3.93	4.50	4.35	4.45	3.35	3.04	3.77	3.59
60	3.47	3.95	4.10	4.20	2.94	2.61	3.39	3.26
70	3.08	3.38	3.84	3.94	2.51	2.29	3.06	2.96
80	2.63	2.90	3.61	3.71	2.19	2.07	2.76	2.69
90	2.38	2.40	3.38	3.48	1.968	1.921	2.49	2.43
100	2.15	2.00	3.09	3.19	1.821	1.826	2.23	2.15
110	2.01	2.11	2.93	3.03	1.721	1.793	1.948	1.989
120	1.92	1.99	2.68	2.78	1.693	1.755	1.777	1.786
130	1.85	1.85	2.44	2.54	1.648	1.709	1.584	1.649
140	1.78	1.80	2.25	2.35	1.597	1.658	1.4400	1.583
150	1.72	1.75	2.10	2.20	1.548	1.586	1.379	1.476
160	1.61	1.61	1.983	2.08	1.479	1.472	1.267	1.399
170	1.52	1.523	1.896	2.00	1.372	1.386	1.195	1.356
180	1.42	1.423	1.931	2.03	1.278	1.301	1.148	1.335
190	1.34	1.335	1.785	1.881	1.199	1.203	1.126	1.262
200	1.29	1.285	1.737	1.844	1.097	1.082	1.064	1.227
210	1.21	1.205	1.677	1.789	0.985	1.038	1.016	1.186
220	1.16	1.115	1.637	1.745	0.934	0.983	0.985	1.133
230	1.117	1.110	1.575	1.670	0.885	0.949	0.931	1.094
240	1.048	1.041	1.5	1.604	0.836	0.886	0.899	1.044
250	1.004	1.011	1.484	1.583	0.782	0.880	0.846	1.003
260	0.956	0.901	1.416	1.521	0.704	0.799	0.798	0.964
270	0.898	0.871	1.343	1.445	0.686	0.778	0.756	0.923
280	0.871	0.861	1.275	1.376	0.672	0.756	0.716	0.884
290	0.832	0.832	1.198	1.303	0.652	0.725	0.689	0.844
300	0.799	0.803	1.139	1.245	0.62	0.605	0.644	0.744

Tabela C.6: Dados de pH da solução teste em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl) e respectivas duplicatas.

t (min)	K_2SO_4 pH		NaCl pH		KCl pH		CaCl_2 pH	
0	6.31	6.30	6.48	6.50	6.48	6.00	6.46	6.40
10	6.00	6.10	6.44	6.40	6.00	5.95	6.41	6.30
20	5.80	5.90	6.30	6.30	5.70	5.85	6.17	6.20
30	5.24	5.42	6.12	6.20	5.30	5.75	5.82	6.10
40	4.81	4.71	5.71	6.10	4.93	5.45	5.45	5.70
50	4.58	4.68	5.44	5.70	4.56	4.99	5.13	5.50
60	4.30	4.44	5.21	5.50	4.19	4.46	4.86	5.12
70	3.99	4.01	4.93	5.12	3.81	4.29	4.62	4.85
80	3.48	3.95	4.54	4.85	3.54	3.91	4.44	4.55
90	3.35	3.48	4.31	4.55	3.25	3.64	4.25	4.21
100	3.12	3.01	4.19	4.21	2.97	3.35	4.06	4.11
110	2.90	2.80	4.04	4.11	2.77	2.99	3.88	3.99
120	2.71	2.68	3.84	3.99	2.69	2.88	3.70	3.82
130	2.64	2.61	3.52	3.82	2.69	2.79	3.60	3.62
140	2.55	2.65	3.32	3.62	2.58	2.65	3.46	3.26
150	2.51	2.50	3.16	3.26	2.54	2.55	3.32	3.12
160	2.50	2.44	3.02	3.12	2.53	2.54	3.21	3.10
170	2.49	2.49	2.92	2.99	2.54	2.54	3.14	3.00
180	2.51	2.50	2.78	2.88	2.54	2.54	3.06	3.00
190	2.51	2.50	2.77	2.77	2.56	2.54	3.04	3.01
200	2.48	2.50	2.77	2.76	2.55	2.56	3.03	2.96
210	2.53	2.50	2.78	2.76	2.60	2.55	3.04	2.96
220	2.50	2.50	2.67	2.76	2.65	2.60	2.97	2.96
230	2.70	2.50	2.65	2.60	2.65	2.70	3.00	2.96
240	2.62	2.60	2.61	2.60	2.73	2.70	2.98	2.96
250	2.74	2.60	2.61	2.50	2.78	2.70	2.98	2.96
260	2.68	2.60	2.64	2.50	2.74	2.80	2.98	2.96
270	2.71	2.70	2.61	2.50	2.88	2.88	2.98	2.96
280	2.75	2.70	2.61	2.50	2.95	2.89	2.98	2.96
290	2.78	2.75	2.61	2.50	2.92	2.90	3.02	2.96
300	2.78	2.79	2.61	2.50	2.97	2.90	3.02	2.96

Tabela C.7: Dados de condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl) e respectivas duplicatas.

t (min)	K_2SO_4 Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		NaCl Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		KCl Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		CaCl_2 Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	
0	5.90	6.05	5.70	5.90	6.05	6.17	5.98	6.30
10	5.90	6.05	5.86	6.06	6.46	6.58	6.11	6.43
20	5.90	6.05	6.07	6.27	6.81	6.93	6.53	6.85
30	5.90	6.05	6.17	6.37	7.16	7.28	6.98	7.30
40	5.92	6.07	6.35	6.55	7.43	7.55	7.52	7.84
50	6.05	6.2	6.48	6.68	7.68	7.80	7.93	8.25
60	6.32	6.47	6.66	6.86	8.01	8.13	8.29	8.61
70	6.46	6.61	6.87	7.07	8.23	8.35	8.45	8.77
80	6.70	6.85	7.07	7.27	8.32	8.44	8.49	8.81
90	6.84	6.99	7.24	7.44	8.58	8.70	8.57	8.89
100	6.92	7.07	7.39	7.59	8.70	8.82	8.64	8.96
110	7.05	7.20	7.56	7.76	8.83	8.95	8.68	9.00
120	7.15	7.30	7.74	7.94	8.69	8.81	8.69	9.01
130	7.22	7.37	7.84	8.04	8.89	9.01	8.70	9.02
140	7.23	7.38	8.00	8.20	8.92	9.04	8.71	9.03
150	7.22	7.37	8.16	8.36	8.90	9.02	8.69	9.01
160	7.23	7.38	8.26	8.46	8.94	9.06	8.71	9.03
170	7.26	7.41	8.28	8.48	8.89	9.01	8.68	9.00
180	7.23	7.38	8.32	8.52	8.87	8.99	8.51	8.83
190	7.23	7.38	8.41	8.61	8.86	8.98	8.49	8.81
200	7.21	7.36	8.46	8.66	8.86	8.98	8.42	8.74
210	7.14	7.29	8.51	8.71	8.75	8.87	8.43	8.75
220	7.14	7.29	8.51	8.71	8.69	8.81	8.35	8.67
230	7.18	7.33	8.53	8.73	8.84	8.96	8.24	8.56
240	7.12	7.27	8.57	8.77	8.78	8.90	8.02	8.34
250	7.15	7.30	8.55	8.75	8.78	8.90	8.05	8.37
260	7.12	7.27	8.56	8.76	8.70	8.82	7.80	8.12
270	7.15	7.30	8.55	8.75	8.77	8.89	7.74	8.06
280	7.18	7.33	8.64	8.84	8.82	8.94	7.74	8.06
290	7.17	7.32	8.65	8.85	8.81	8.93	7.74	8.06
300	7.19	7.34	8.66	8.86	8.78	8.90	7.74	8.06

Tabela C.8: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl) e respectivas duplicatas.

t (min)	K_2SO_4 pH		NaCl pH		KCl pH		CaCl_2 pH	
0	9.50	9.60	8.80	8.88	9.10	9.21	5.98	6.00
10	9.90	9.91	8.90	8.89	9.30	9.21	6.11	6.10
20	10.10	10.05	9.10	9.02	9.70	9.89	6.53	6.23
30	10.49	10.55	9.40	9.45	10.00	10.11	6.98	6.99
40	10.56	10.55	9.50	9.51	10.74	10.75	7.52	7.95
50	10.76	10.67	9.60	9.65	10.79	10.89	7.93	7.95
60	10.88	10.78	9.70	9.79	10.92	10.90	8.29	8.33
70	10.94	10.84	9.80	9.89	10.97	10.95	8.45	8.44
80	10.95	10.99	9.90	9.99	11.03	11.00	8.49	8.55
90	11.02	11.00	10.10	10.19	11.11	11.12	8.57	8.57
100	11.04	11.01	10.30	10.31	11.05	11.11	8.64	8.64
110	11.05	11.02	10.60	10.65	11.10	11.11	8.68	8.69
120	11.03	11.03	10.60	10.66	11.10	11.11	8.69	8.69
130	11.01	11.02	10.70	10.77	11.04	11.05	8.70	8.71
140	10.93	10.99	10.70	10.76	11.03	11.03	8.71	8.71
150	10.95	10.96	10.80	10.89	11.00	11.00	8.69	8.71
160	10.82	10.90	10.90	10.91	10.94	10.94	8.71	8.71
170	10.76	10.85	10.99	11.00	10.84	10.90	8.68	8.71
180	10.72	10.80	10.99	10.99	10.83	10.80	8.51	8.61
190	10.6	10.75	10.75	10.65	10.76	10.76	8.49	8.50
200	10.46	10.44	10.76	10.60	10.76	10.75	8.42	8.50
210	10.48	10.49	10.77	10.71	10.63	10.65	8.43	8.50
220	10.30	10.40	10.78	10.75	10.51	10.55	8.35	8.44
230	10.20	10.25	11.01	11.10	10.33	10.35	8.24	8.34
240	10.02	10.21	10.98	10.99	10.29	10.30	8.02	8.34
250	10.02	10.05	10.94	10.99	10.11	10.06	8.05	8.24
260	9.88	9.78	10.88	10.98	10.06	10.06	7.80	8.00
270	9.82	9.98	10.77	10.87	9.93	9.94	7.74	7.95
280	9.67	9.89	10.79	10.89	9.94	9.94	7.74	7.85
290	9.62	9.72	10.75	10.85	9.94	9.94	7.74	7.84
300	9.68	9.70	10.66	10.75	9.88	9.90	7.74	7.84

Tabela C.9: Média dos dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

t (min)	K_2SO_4 i(A)	NaCl i(A)	KCl i(A)	CaCl_2 i(A)
0	0.75	0.43	0.45	0.65
10	0.77	0.41	0.80	0.68
20	0.77	0.42	0.82	0.67
30	0.75	0.43	0.84	0.70
40	0.74	0.44	0.85	0.69
50	0.74	0.45	0.87	0.67
60	0.74	0.45	0.85	0.65
70	0.71	0.45	0.77	0.63
80	0.68	0.45	0.75	0.62
90	0.66	0.45	0.71	0.57
100	0.63	0.45	0.66	0.55
110	0.61	0.45	0.64	0.52
120	0.60	0.44	0.63	0.49
130	0.58	0.43	0.63	0.46
140	0.57	0.42	0.62	0.41
150	0.56	0.42	0.60	0.38
160	0.54	0.41	0.57	0.38
170	0.53	0.40	0.55	0.34
180	0.51	0.40	0.52	0.34
190	0.49	0.40	0.49	0.34
200	0.47	0.39	0.46	0.32
210	0.45	0.39	0.44	0.3
220	0.34	0.39	0.43	0.29
230	0.33	0.38	0.39	0.28
240	0.32	0.43	0.39	0.27
250	0.31	0.42	0.36	0.26
260	0.31	0.42	0.33	0.25
270	0.30	0.42	0.32	0.23
280	0.29	0.42	0.30	0.22
290	0.29	0.41	0.29	0.22
300	0.28	0.40	0.28	0.21

**Tabela C.10: Média dos dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl).
Desvio padrão médio $\pm 4\%$.**

t (min)	K_2SO_4 $R_{\text{ap}}(\Omega)$	NaCl $R_{\text{ap}}(\Omega)$	KCl $R_{\text{ap}}(\Omega)$	CaCl_2 $R_{\text{ap}}(\Omega)$
0	42.93	74.88	71.56	49.54
10	41.82	78.54	40.25	47.35
20	41.82	76.67	39.27	48.06
30	42.93	74.88	38.33	46.00
40	43.51	73.18	37.76	46.67
50	43.51	71.56	36.90	48.06
60	43.51	71.56	37.76	49.54
70	45.21	71.56	41.69	50.95
80	47.21	71.56	42.80	51.77
90	48.64	71.56	45.21	56.32
100	50.95	71.56	48.64	58.36
110	52.62	71.56	50.16	61.73
120	53.50	73.18	50.95	65.51
130	55.34	74.88	50.95	69.78
140	56.32	76.67	51.77	78.29
150	57.32	76.67	53.50	84.47
160	59.44	78.54	56.32	84.47
170	60.57	80.50	58.36	94.41
180	62.94	80.50	61.73	94.41
190	65.51	80.50	65.51	94.41
200	68.30	82.56	69.78	100.31
210	71.33	82.56	72.95	107.00
220	94.41	82.56	74.65	110.69
230	97.27	84.74	82.31	114.64
240	100.31	74.88	82.31	118.89
250	103.55	76.67	89.17	123.46
260	103.55	76.67	97.27	128.40
270	107.00	76.67	100.31	139.57
280	110.69	76.67	107.00	145.91
290	110.69	78.54	110.69	145.91
300	114.64	80.50	114.64	152.86

Tabela C.11: Média dos dados de teor de sais da solução teste (kg.m^{-3}) em função do tempo (min) variando as soluções de eletrodos com condutividade elétrica inicial de 6 mS.cm^{-1} (CaCl_2 , K_2SO_4 , KCl , NaCl). Desvio padrão máximo $\pm 3\%$.

t (min)	K_2SO_4 sais (kg.m^{-3})	NaCl sais (kg.m^{-3})	KCl sais (kg.m^{-3})	CaCl_2 sais (kg.m^{-3})
0	11.52	11.21	10.45	11.06
10	10.84	10.71	9.89	10.50
20	10.28	10.15	9.01	9.78
30	9.46	9.63	8.27	8.98
40	8.60	9.16	7.53	8.23
50	7.82	8.60	6.74	7.53
60	6.97	8.14	5.98	6.82
70	6.24	7.66	5.18	6.20
80	5.41	7.23	4.59	5.65
90	4.94	6.80	4.17	5.14
100	4.51	6.26	3.90	4.66
110	4.25	5.96	3.71	4.14
120	4.08	5.50	3.66	3.82
130	3.97	5.05	3.58	3.46
140	3.82	4.70	3.48	3.19
150	3.72	4.42	3.39	3.08
160	3.50	4.20	3.26	2.87
170	3.35	4.04	3.07	2.74
180	3.16	4.11	2.89	2.65
190	3.00	3.83	2.74	2.61
200	2.90	3.74	2.55	2.49
210	2.75	3.63	2.35	2.40
220	2.67	3.56	2.25	2.35
230	2.57	3.44	2.16	2.25
240	2.46	3.30	2.07	2.17
250	2.38	3.27	1.97	2.08
260	2.29	3.15	1.82	2.00
270	2.18	3.01	1.79	1.92
280	2.13	2.89	1.76	1.85
290	2.06	2.74	1.73	1.78
300	2.00	2.63	1.67	1.71

Tabela C.12: Dados de corrente elétrica (A) e tensão elétrica (V) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica variáveis de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$.

K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$)	
V (V)	i (A) ± 0.02	V (V)	i (A) ± 0.05	V (V)	i (A) ± 0.03	V (V)	i (A) ± 0.04
1.4	0.01	1	0.01	1	0.01	1	0.01
3.6	0.03	3.6	0.04	3.6	0.03	2.9	0.03
6.6	0.07	6.2	0.08	6.2	0.09	4.9	0.09
8.8	0.11	9.3	0.13	9.3	0.19	9.1	0.19
12.6	0.17	12.3	0.17	12.3	0.33	12	0.33
15.6	0.22	15.2	0.21	15.2	0.42	15.3	0.42
18.6	0.27	18.3	0.38	18.3	0.51	17.9	0.51
21	0.3	21.7	0.48	21.7	0.63	20.9	0.63
24.8	0.37	25.3	0.59	25.3	0.74	23.9	0.74
27.8	0.42	28.1	0.7	28.1	0.88	27	0.88
30.5	0.47	31.2	0.79	31.2	1.03	30.3	1.03

Tabela C.13: Dados de condutividade elétrica da solução teste ($mS.cm^{-1}$ a 25 °C) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$.

t (min)	K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$) Cond. elétrica ($mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$) Cond. elétrica ($mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$) Cond. elétrica ($mS.cm^{-1}$)		K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$) Cond. elétrica ($mS.cm^{-1}$)	
0	5.92	6.02	5.83	5.93	5.78	5.88	5.70	5.80
10	5.55	5.65	5.34	5.44	5.42	5.52	4.95	5.05
20	5.25	5.35	4.76	4.86	5.04	5.14	4.14	4.24
30	4.81	4.91	4.15	4.25	4.65	4.75	3.50	3.60
40	4.35	4.45	3.60	3.70	4.18	4.28	2.99	3.09
50	3.93	4.03	3.06	3.16	3.83	3.93	2.55	2.65
60	3.47	3.57	2.60	2.70	3.50	3.60	2.22	2.32
70	3.08	3.18	2.27	2.37	3.16	3.26	1.978	2.08
80	2.63	2.73	2.05	2.15	2.89	2.99	1.903	2.00
90	2.38	2.480	1.898	1.998	2.55	2.650	1.830	1.930
100	2.15	2.250	1.829	1.929	2.30	2.400	1.739	1.839
110	2.01	2.110	1.750	1.850	2.06	2.160	1.680	1.780
120	1.919	2.019	1.673	1.773	1.81	1.910	1.560	1.660
130	1.858	1.958	1.52	1.620	1.613	1.713	1.403	1.503
140	1.78	1.880	1.435	1.535	1.492	1.592	1.333	1.433
150	1.723	1.823	1.316	1.416	1.436	1.536	1.252	1.352
160	1.606	1.706	1.228	1.328	1.383	1.483	1.123	1.223
170	1.523	1.623	1.127	1.227	1.339	1.439	1.033	1.133
180	1.423	1.523	1.021	1.121	1.293	1.393	0.921	1.021
190	1.335	1.435	0.95	1.050	1.266	1.366	0.847	0.947
200	1.285	1.385	0.861	0.961	1.231	1.331	0.765	0.865
210	1.205	1.305	0.79	0.890	1.178	1.278	0.712	0.812
220	1.160	1.260	0.73	0.830	1.142	1.242	0.672	0.772
230	1.107	1.207	0.686	0.786	1.105	1.205	0.619	0.719
240	1.048	1.148	0.637	0.737	1.049	1.149	0.586	0.686
250	1.004	1.104	0.595	0.695	1.005	1.105	0.534	0.634
260	0.956	1.056	0.574	0.674	0.976	1.076	0.511	0.611
270	0.898	0.998	0.549	0.649	0.936	1.036	0.487	0.587
280	0.871	0.971	0.529	0.629	0.896	0.996	0.463	0.563
290	0.832	0.932	0.513	0.613	0.854	0.954	0.445	0.545
300	0.799	0.830	0.495	0.500	0.807	0.815	0.428	0.500

Tabela C.14: Dados de pH da solução teste em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$ e para respectivas duplicatas (desvio padrão médio $\pm 3,8\%$).

t (min)	K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$) pH	
0	6.31	6.00	6.64	6.54	6.65	6.60	6.31	6.41
10	6.00	6.05	6.05	6.35	6.55	6.56	5.40	5.65
20	5.80	5.90	5.25	5.36	6.38	6.45	4.81	4.95
30	5.24	5.55	4.68	4.75	6.08	6.00	4.25	4.95
40	4.81	4.95	4.26	4.11	5.68	5.60	4.03	4.00
50	4.58	4.90	3.84	3.99	5.36	5.39	3.46	3.00
60	4.30	4.50	3.46	3.55	5.10	5.19	3.30	3.00
70	3.99	4.21	3.09	3.14	4.78	4.84	2.89	2.90
80	3.48	3.55	2.78	2.99	4.57	4.65	2.84	2.80
90	3.35	3.45	2.65	2.62	4.28	4.96	2.63	2.60
100	3.12	3.11	2.53	2.51	3.97	3.96	2.62	2.60
110	2.90	2.99	2.42	2.53	3.73	3.96	2.52	2.50
120	2.71	2.80	2.42	2.45	3.48	3.55	2.56	2.50
130	2.64	2.65	2.35	2.36	3.22	3.40	2.50	2.50
140	2.55	2.56	2.38	2.39	3.04	3.06	2.52	2.50
150	2.51	2.51	2.38	2.39	2.89	2.95	2.56	2.50
160	2.50	2.50	2.37	2.39	2.77	2.96	2.59	2.50
170	2.49	2.50	2.41	2.40	2.70	2.99	2.63	2.50
180	2.51	2.50	2.45	2.40	2.63	2.60	2.69	2.50
190	2.51	2.50	2.55	2.50	2.58	2.90	2.73	2.63
200	2.48	2.50	2.59	2.50	2.57	2.90	2.78	2.68
210	2.53	2.50	2.65	2.60	2.55	2.65	2.81	2.91
220	2.50	2.50	2.71	2.70	2.53	2.63	2.88	2.90
230	2.70	2.60	2.75	2.70	2.53	2.63	2.93	2.90
240	2.62	2.62	2.84	2.80	2.53	2.63	3.02	3.00
250	2.74	2.65	2.88	2.80	2.54	2.64	3.07	3.00
260	2.68	2.69	2.97	2.90	2.54	2.64	3.12	3.11
270	2.71	2.70	3.00	3.00	2.55	2.65	3.18	3.10
280	2.75	2.70	3.05	3.00	2.57	2.67	3.25	3.20
290	2.78	2.70	3.13	3.10	2.58	2.68	3.30	3.30
300	2.78	2.70	3.18	3.10	2.62	2.72	3.36	3.30

Tabela C.15: Dados de de condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} .

t (min)	K_2SO_4 (6 mS.cm^{-1}) Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		K_2SO_4 (12 mS.cm^{-1}) Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		K_2SO_4 (3 mS.cm^{-1}) Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		K_2SO_4 (18 mS.cm^{-1}) Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	
0	5.90	6.00	12.23	12.13	3.15	3.25	17.91	18.01
10	5.90	6.00	12.50	12.40	3.39	3.49	17.67	17.77
20	5.90	6.00	12.75	12.65	3.56	3.66	17.78	17.88
30	5.90	6.00	12.91	12.81	3.74	3.84	19.25	19.35
40	5.92	6.02	13.11	13.01	3.93	4.03	19.43	19.53
50	6.05	6.15	13.27	13.17	4.07	4.17	19.74	19.84
60	6.32	6.42	13.65	13.55	4.22	4.32	19.72	19.82
70	6.46	6.56	13.86	13.76	4.36	4.46	19.94	20.04
80	6.70	6.80	14.07	13.97	4.52	4.62	20.20	20.30
90	6.84	6.94	14.08	13.98	4.85	4.95	20.40	20.50
100	6.92	7.02	14.10	14.00	5.06	5.16	20.60	20.70
110	7.05	7.15	14.11	14.01	5.21	5.31	20.60	20.70
120	7.15	7.25	14.10	14.00	5.38	5.48	20.50	20.60
130	7.22	7.32	14.10	14.00	5.44	5.54	20.30	20.40
140	7.23	7.33	14.10	14.00	5.56	5.66	20.60	20.70
150	7.22	7.32	14.07	13.97	5.69	5.79	20.60	20.70
160	7.23	7.33	14.07	13.97	5.73	5.83	20.70	20.80
170	7.26	7.36	13.78	13.68	5.77	5.87	20.60	20.70
180	7.23	7.33	13.86	13.76	5.81	5.91	20.50	20.60
190	7.23	7.33	13.74	13.64	5.85	5.95	20.50	20.60
200	7.21	7.31	13.85	13.75	5.85	5.95	20.50	20.60
210	7.14	7.24	13.75	13.65	5.86	5.96	20.70	20.80
220	7.14	7.24	13.89	13.79	5.87	5.97	20.80	20.90
230	7.18	7.28	13.81	13.71	5.86	5.96	20.80	20.90
240	7.12	7.22	13.84	13.74	5.85	5.95	20.70	20.80
250	7.15	7.25	13.41	13.31	5.83	5.93	20.50	20.60
260	7.12	7.22	13.66	13.56	5.84	5.94	20.30	20.40
270	7.15	7.25	13.93	13.83	5.82	5.92	19.79	19.89
280	7.18	7.28	13.88	13.78	5.78	5.88	19.40	19.50
290	7.17	7.27	13.85	13.75	5.74	5.84	18.27	18.37
300	7.19	7.20	13.65	13.70	5.76	5.90	17.95	18.00

Tabela C.16: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$ (desvio padrão médio $\pm 12\%$).

t (min)	K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$) pH		K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$) pH	
0	9.50	9.60	9.5	9.95	9.20	10.05	9.30	10.79
10	9.90	9.65	11.04	11.55	9.46	10.34	10.48	10.78
20	10.10	10.01	10.99	11.90	9.72	10.48	10.67	10.73
30	10.49	10.59	11.11	11.04	10.05	10.68	10.79	10.86
40	10.56	10.66	11.21	10.99	10.34	10.82	10.78	10.83
50	10.76	10.86	11.30	11.11	10.48	10.92	10.73	10.79
60	10.88	10.88	11.36	11.21	10.68	11.05	10.86	10.77
70	10.94	10.95	11.41	11.30	10.82	11.10	10.83	10.69
80	10.95	10.95	11.41	11.36	10.92	11.19	10.79	10.65
90	11.02	11.00	11.41	11.41	11.05	11.20	10.77	10.50
100	11.04	11.00	11.41	11.41	11.10	11.22	10.69	10.33
110	11.05	11.00	11.36	11.41	11.19	11.03	10.65	10.15
120	11.03	11.00	11.15	11.41	11.20	11.23	10.50	10.10
130	11.01	11.00	10.97	11.36	11.22	11.25	10.33	9.85
140	10.93	10.99	10.91	11.15	11.03	11.25	10.15	9.63
150	10.95	10.99	10.74	10.97	11.23	11.25	10.10	9.35
160	10.82	10.89	10.52	10.91	11.25	11.24	9.85	9.27
170	10.76	10.79	10.33	10.74	11.25	11.24	9.63	9.08
180	10.72	10.69	10.36	10.52	11.25	11.19	9.35	8.93
190	10.60	10.60	9.92	10.33	11.24	11.14	9.27	8.79
200	10.46	10.50	9.83	10.36	11.24	11.09	9.08	8.63
210	10.48	10.45	9.74	9.92	11.19	11.06	8.93	8.46
220	10.30	10.30	9.62	9.83	11.14	11.04	8.79	8.29
230	10.20	10.20	9.50	9.74	11.09	10.98	8.63	8.30
240	10.02	10.02	9.35	9.62	11.06	10.95	8.46	8.50
250	10.02	10.02	9.25	9.50	11.04	11.00	8.29	8.46
260	9.88	9.99	9.11	9.35	10.98	11.00	8.16	8.30
270	9.82	9.99	9.07	9.25	10.94	11.00	8.03	8.10
280	9.67	9.89	8.95	9.11	10.83	11.00	7.90	8.00
290	9.62	9.89	8.96	8.99	10.76	10.99	7.79	7.90
300	9.68	9.88	8.92	8.95	10.74	10.85	7.77	7.80

Tabela C.17: Média dos dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$. Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

t (min)	K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$) i(A)	K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$) i(A)	K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$) i(A)	K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$) i(A)
0	0.75	0.57	0.53	1.23
10	0.77	1.00	0.53	1.16
20	0.77	1.03	0.56	1.16
30	0.75	1.05	0.57	1.01
40	0.74	1.00	0.57	0.96
50	0.74	0.94	0.59	0.88
60	0.74	0.88	0.59	0.81
70	0.71	0.81	0.60	0.75
80	0.68	0.75	0.59	0.73
90	0.66	0.73	0.56	0.71
100	0.63	0.71	0.52	0.68
110	0.61	0.70	0.49	0.72
120	0.60	0.69	0.46	0.70
130	0.58	0.67	0.43	0.66
140	0.57	0.64	0.40	0.62
150	0.56	0.61	0.39	0.58
160	0.54	0.57	0.38	0.54
170	0.53	0.54	0.37	0.49
180	0.51	0.50	0.36	0.46
190	0.49	0.47	0.38	0.43
200	0.47	0.44	0.37	0.38
210	0.45	0.42	0.36	0.36
220	0.34	0.39	0.35	0.34
230	0.33	0.36	0.34	0.32
240	0.32	0.34	0.32	0.31
250	0.31	0.33	0.26	0.29
260	0.31	0.31	0.25	0.29
270	0.30	0.30	0.24	0.27
280	0.29	0.29	0.23	0.26
290	0.29	0.28	0.23	0.25
300	0.28	0.27	0.22	0.24

**Tabela C.18: Média dos dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 $mS.cm^{-1}$.
Desvio padrão médio $\pm 4\%$.**

t (min)	K_2SO_4 (6 $mS.cm^{-1}$) $R_{ap}(\Omega)$	K_2SO_4 (12 $mS.cm^{-1}$) $R_{ap}(\Omega)$	K_2SO_4 (3 $mS.cm^{-1}$) $R_{ap}(\Omega)$	K_2SO_4 (18 $mS.cm^{-1}$) $R_{ap}(\Omega)$
0	42.80	56.32	60.57	26.10
10	41.69	32.10	60.57	27.67
20	41.69	31.17	57.32	27.67
30	42.80	30.57	56.32	31.78
40	43.38	32.10	56.32	33.44
50	43.38	34.15	54.41	36.48
60	43.38	36.48	54.41	39.63
70	45.21	39.63	53.50	42.80
80	47.21	42.80	54.41	43.97
90	48.64	43.97	57.32	45.21
100	50.95	45.21	61.73	47.21
110	52.62	45.86	65.51	44.58
120	53.50	46.52	69.78	45.86
130	55.34	47.91	74.65	48.64
140	56.32	50.16	80.25	51.77
150	57.32	52.62	82.31	55.34
160	59.44	56.32	84.47	59.44
170	60.57	59.44	86.76	65.51
180	62.94	64.20	89.17	69.78
190	65.51	68.30	84.47	74.65
200	68.30	72.95	86.76	84.47
210	71.33	76.43	89.17	89.17
220	94.41	82.31	91.71	94.41
230	97.27	89.17	94.41	100.31
240	100.31	94.41	100.31	103.55
250	103.55	97.27	123.46	110.69
260	103.55	103.55	128.40	110.69
270	107.00	107.00	133.75	118.89
280	110.69	110.69	139.57	123.46
290	110.69	114.64	139.57	128.40
300	114.64	118.89	145.91	133.75

Tabela C.19: Média dos dados de teor de sais na solução teste (kg.m^{-3}) em função do tempo (min) para as soluções de eletrodos de sulfato de potássio- K_2SO_4 , com condutividade elétrica de 3; 6; 12 e 18 mS.cm^{-1} .

t(min)	K_2SO_4 (6 mS.cm^{-1}) sais (kg.m^{-3})	K_2SO_4 (12 mS.cm^{-1}) sais (kg.m^{-3})	K_2SO_4 (3 mS.cm^{-1}) sais (kg.m^{-3})	K_2SO_4 (18 mS.cm^{-1}) sais (kg.m^{-3})
0	11.52	11.36	11.26	11.12
10	10.84	10.45	10.59	9.72
20	10.28	9.37	9.89	8.21
30	9.46	8.23	9.16	7.02
40	8.60	7.21	8.29	6.07
50	7.82	6.20	7.64	5.26
60	6.97	5.35	7.02	4.64
70	6.24	4.74	6.39	4.19
80	5.41	4.33	5.89	4.05
90	4.94	4.04	5.26	3.92
100	4.51	3.92	4.79	3.75
110	4.25	3.77	4.35	3.64
120	4.08	3.63	3.88	3.42
130	3.97	3.34	3.51	3.12
140	3.82	3.18	3.29	2.99
150	3.72	2.96	3.18	2.84
160	3.50	2.80	3.09	2.60
170	3.35	2.61	3.00	2.43
180	3.16	2.41	2.92	2.23
190	3.00	2.28	2.87	2.09
200	2.90	2.12	2.80	1.94
210	2.75	1.98	2.70	1.84
220	2.67	1.87	2.64	1.76
230	2.57	1.79	2.57	1.66
240	2.46	1.70	2.46	1.60
250	2.38	1.62	2.38	1.51
260	2.29	1.58	2.33	1.46
270	2.18	1.53	2.25	1.42
280	2.13	1.50	2.18	1.37
290	2.06	1.47	2.10	1.34
300	2.00	1.43	2.01	1.31

Tabela C.20: Dados de condutividade elétrica da solução teste (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos.

t(min)	ED inversa		Adição de base		Adição de ácido	
	Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		Cond. elétrica (mS.cm^{-1})		Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	
0	6.09	6.39	6.12	6.70	6.35	6.40
10	5.57	5.85	5.14	5.30	6.05	6.00
20	4.96	5.21	4.27	4.50	5.66	5.66
30	4.39	4.61	3.92	4.02	5.33	5.33
40	3.81	4.00	3.48	3.74	5.00	5.00
50	3.44	3.61	3.07	3.00	4.78	4.78
60	3.05	3.20	2.71	2.70	4.46	4.46
70	3.17	3.33	4.11	5.00	4.33	4.33
80	3.05	3.20	3.58	4.50	4.06	4.06
90	2.94	3.09	3.04	3.04	3.80	3.80
100	2.8	2.94	2.53	2.53	3.56	3.56
110	2.65	2.78	2.1	2.1	3.33	3.33
120	2.51	2.64	1.72	1.72	3.11	2.77
130	2.43	2.55	2.55	2.55	2.95	2.61
140	2.24	2.35	2.00	2.00	2.77	2.45
150	2.17	2.28	1.72	1.23	2.61	2.31
160	2.05	2.15	1.45	1.53	2.45	2.19
170	1.93	2.03	1.19	1.95	2.31	2.12
180	1.83	1.93	1.05	1.52	2.19	2.19
190	1.77	1.86	2.05	2.05	2.12	2.12
200	1.68	1.77	1.69	1.69	2.04	2.04
210	1.59	1.67	1.41	1.41	1.958	1.58
220	1.50	1.58	1.19	1.19	1.898	1.98
230	1.43	1.50	1.04	1.04	1.832	1.32
240	1.36	1.43	0.90	0.97	1.788	1.88
250	1.31	1.38	1.37	1.77	1.744	1.44
260	1.24	1.31	1.17	1.71	1.686	1.86
270	1.11	1.17	1.03	1.31	1.639	1.39
280	1.11	1.17	0.90	0.94	1.593	1.93
290	1.05	1.11	0.80	0.81	1.548	1.48
300	1.01	1.07	0.71	0.79	1.508	1.50

Tabela C.21: Dados médios de pH da solução teste em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

t(min)	ED inversa pH	adição de base pH	adição de ácido pH
0	4.70	4.82	4.80
10	4.43	4.46	4.75
20	4.16	4.09	4.67
30	3.99	3.93	4.56
40	3.62	3.73	4.45
50	3.38	3.50	4.33
60	3.14	3.29	4.24
70	3.28	6.11	4.16
80	3.25	5.16	4.09
90	3.24	4.68	3.95
100	3.21	4.33	3.85
110	3.19	4.03	3.74
120	3.06	3.82	3.66
130	3.08	5.27	3.51
140	2.94	4.75	3.43
150	3.02	4.32	3.34
160	3.06	4.18	3.24
170	2.97	3.94	3.18
180	2.81	3.82	3.10
190	2.88	6.12	2.98
200	2.88	5.24	2.97
210	2.74	4.84	2.92
220	2.88	4.57	2.86
230	2.7	4.36	2.83
240	2.69	4.23	2.78
250	2.67	5.51	2.74
260	2.62	5.08	2.72
270	2.68	4.84	2.71
280	2.46	4.65	2.69
290	2.85	4.08	2.68
300	2.50	4.40	2.65

Tabela C.22: Dados de condutividade elétrica da solução de eletrodos (mS.cm^{-1} a 25°C) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos K_2SO_4 com condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base ($\text{KOH } 0.5 \text{ M}$) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

t(min)	ED inversa Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	adição de base Cond. elétrica (mS.cm^{-1})	adição de ácido Cond. elétrica (mS.cm^{-1})
0	18.22	16.27	18.04
10	15.16	14.9	17.13
20	14.73	15.96	14.59
30	15.36	17.06	15.57
40	14.97	15.93	16.46
50	14.15	14.67	14.81
60	14.22	14.25	14.4
70	12.57	14.08	17.29
80	15.12	14.54	15.57
90	16.21	15.68	15.15
100	15.3	16.36	15.08
110	15.68	17.26	15.08
120	15.94	17.34	15.11
130	16.08	18.83	18
140	17.33	19.05	17.25
150	17.43	19.73	17.02
160	17.83	21.03	16.99
170	17.91	20.5	16.78
180	17.56	21.08	16.7
190	17.14	21.9	19.37
200	16.25	22.1	19.35
210	16.43	22.3	19.24
220	16.06	22.5	19.21
230	15.95	23.2	19.25
240	15.88	23.3	19.37
250	15.71	23.3	19.63
260	15.78	23.2	19.69
270	15.96	23.7	19.71
280	15.84	24.1	19.75
290	15.87	24.2	19.66
300	16.07	24.1	19.74

Tabela C.23: Dados de pH da solução de eletrodos em função do tempo (min) com soluções de eletrodos K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de $18 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 5\%$.

t(min)	ED inversa pH	adição de base pH	adição de ácido pH
0	2.82	2.91	2.98
10	3.06	3.15	3.23
20	3.41	4.07	3.55
30	4.39	6.75	4.32
40	9.55	9.53	8.4
50	10.44	10.31	10.17
60	10.86	10.72	10.8
70	10.27	11.08	8.24
80	10.12	11.37	9.72
90	9.89	11.59	10.21
100	9.69	11.72	10.6
110	9.53	11.81	10.87
120	9.4	11.86	11.03
130	9.32	11.96	8.68
140	8.4	12.02	9.19
150	7.96	12.07	9.41
160	7.62	12.1	9.56
170	7.35	12.13	9.63
180	7.14	12.14	9.67
190	6.39	12.18	7.46
200	5.58	12.2	7.6
210	5.09	12.23	7.75
220	4.74	12.25	7.78
230	4.6	12.25	7.74
240	4.53	12.26	7.68
250	4.53	12.26	7.15
260	4.55	12.3	7.06
270	4.6	12.3	7.04
280	4.64	12.25	6.91
290	4.62	12.25	6.88
300	4.65	12.25	6.8

Tabela C.24: Dados de corrente elétrica (A) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

t(min)	ED inversa i(A)	adição de base i(A)	adição de ácido i(A)
0	1.59	1.52	0.99
10	1.72	1.52	0.95
20	1.79	1.54	0.96
30	1.81	0.88	0.99
40	1.87	0.93	1.01
50	1.86	0.93	1.03
60	1.83	0.92	1.02
70	0.66	1.15	1.07
80	0.66	1.15	1.04
90	0.63	1.12	1.02
100	0.63	1.05	1
110	0.63	0.97	0.97
120	0.63	0.89	0.94
130	0.56	1.09	0.93
140	0.56	1.01	0.88
150	0.56	0.91	0.85
160	0.54	0.82	0.83
170	0.54	0.74	0.78
180	0.54	0.66	0.76
190	0.51	1	0.78
200	0.51	0.91	0.73
210	0.49	0.83	0.69
220	0.45	0.75	0.66
230	0.44	0.67	0.63
240	0.42	0.61	0.6
250	0.42	0.8	0.63
260	0.42	0.73	0.59
270	0.42	0.66	0.56
280	0.42	0.6	0.53
290	0.42	0.55	0.51
300	0.24	0.39	0.51

Tabela C.25: Dados de resistência aparente (Ω) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 4\%$.

t(min)	ED inversa Rap (Ω)	adição de base Rap (Ω)	adição de ácido Rap (Ω)
0	20.25	21.18	32.53
10	18.72	21.18	33.89
20	17.99	20.91	33.54
30	17.79	36.59	32.53
40	17.22	34.62	31.88
50	17.31	34.62	31.26
60	17.60	35.00	31.57
70	48.79	28.00	30.09
80	48.79	28.00	30.96
90	51.11	28.75	31.57
100	51.11	30.67	32.20
110	51.11	33.20	33.20
120	51.11	36.18	34.26
130	57.50	29.54	34.62
140	57.50	31.88	36.59
150	57.50	35.38	37.88
160	59.63	39.27	38.80
170	59.63	43.51	41.28
180	59.63	48.79	42.37
190	63.14	32.20	41.28
200	63.14	35.38	44.11
210	65.71	38.80	46.67
220	71.56	42.93	48.79
230	73.18	48.06	51.11
240	76.67	52.79	53.67
250	76.67	40.25	51.11
260	76.67	44.11	54.58
270	76.67	48.79	57.50
280	76.67	53.67	60.75
290	76.67	58.55	63.14
300	82.56	63.14	65.71

Tabela C.26: Dados de teor de sais na solução teste (kg.m^{-3}) em função do tempo (min) com soluções de eletrodos: K_2SO_4 condutividade elétrica inicial de 18 mS.cm^{-1} , variando condições de operação: ED inversa; teste com adição de base (KOH 0.5 M) na solução teste; teste com adição de ácido (ácido cítrico 0.5 M) na solução de eletrodos. Desvio padrão médio $\pm 6\%$.

t(min)	ED inversa Sais (kg.m^{-3})	adição de base Sais (kg.m^{-3})	adição de ácido Sais (kg.m^{-3})
0	11.84	11.90	12.32
10	10.87	10.07	11.77
20	9.74	8.46	11.04
30	8.68	7.80	10.43
40	7.60	6.99	9.81
50	6.91	6.22	9.40
60	6.19	5.55	8.81
70	6.41	8.16	8.57
80	6.19	7.17	8.06
90	5.98	6.17	7.58
100	5.72	5.22	7.13
110	5.44	4.42	6.71
120	5.18	3.72	6.30
130	5.03	5.26	6.00
140	4.68	4.23	5.67
150	4.55	3.72	5.37
160	4.33	3.22	5.07
170	4.11	2.74	4.81
180	3.93	2.47	4.59
190	3.82	4.33	4.46
200	3.65	3.66	4.31
210	3.48	3.14	4.16
220	3.31	2.73	4.04
230	3.17	2.46	3.92
240	3.05	2.20	3.84
250	2.96	3.07	3.76
260	2.83	2.69	3.65
270	2.59	2.43	3.56
280	2.59	2.20	3.48
290	2.48	2.00	3.39
300	2.40	1.85	3.32

Tabela C.27: Dados de teor de sais (kg.m^{-3}) em função da condutividade elétrica (mS.cm^{-1}) para a solução teste.

Sais (kg.m^{-3})	Condutividade (mS.cm^{-1})
11.29	5.93
5.95	2.91
4.6	1.928
3.65	1.544
2.9	1.15
1.41	0.842

C.3 Osmose Inversa

Tabela C.28: Dados de condutividade elétrica do permeado e retido, temperatura, retenção e fluxo permeado em função do tempo para solução teste utilizada na OI.

t (min)	Cond. elétrica permeado (mS.cm ⁻¹)	Cond. elétrica retido (mS.cm ⁻¹)	T (° C)	R (%)	J _p (m.s ⁻¹)±3%
0	0.820	15.800	29.5	95	2.27E-06
10	1.091	18.020	30.0	94	1.78E-06
20	1.499	19.670	30.4	92	1.41E-06
30	1.974	21.400	30.3	91	1.02E-06
40	2.770	22.600	30.2	88	7.99E-07
50	3.880	23.900	30.5	84	5.68E-07
60	4.280	24.300	30.9	82	4.68E-07
70	4.830	24.800	31.7	81	4.11E-07
80	5.380	25.900	32.4	79	3.50E-07
90	5.800	25.700	32.7	77	3.00E-07
100	6.490	26.900	34.1	76	2.47E-07
110	7.050	26.900	34.2	74	2.05E-07

Tabela C.29: Permeabilidade hidráulica da membrana de OI, antes do experimento, após o experimento e após a limpeza em função da pressão transmembrana.

ΔP (Pa)	J _p de água inicial (m.s ⁻¹)	J _p de água após experimento (m.s ⁻¹)	J _p de água após limpeza (m.s ⁻¹)
2.E+05	3.E-06	3.E-06	4.E-06
2.E+05	3.E-06	3.E-06	4.E-06
2.E+05	3.E-06	3.E-06	4.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	6.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	6.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	6.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	8.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	8.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	8.E-06
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05

Tabela C.30: Retenção de NaCl (2 kg.m^{-3}) antes do experimento com a solução teste, após o experimento com a solução teste e após a limpeza química, em função da pressão transmembrana.

ΔP (Pa)	R (%) antes do experimento	R (%) após o experimento	R (%) após a limpeza
2.E+05	81	90	83
2.E+05	80	90	82
2.E+05	88	95	92
4.E+05	88	95	91
4.E+05	90	96	93
4.E+05	90	96	93
6.E+05	93	97	95
6.E+05	93	97	95
6.E+05	94	97	95
8.E+05	94	97	95

Tabela C.31: Dados de condutividade elétrica do permeado e retido, temperatura, retenção e fluxo permeado em função do tempo para solução teste utilizada na OI (duplicata).

t (min)	Cond. elétrica permeado (mS.cm^{-1})	Cond. elétrica retido (mS.cm^{-1})	T ($^{\circ}\text{C}$)	R (%)	J_p (m.s^{-1})
0	0.554	16.080	30.8	97	2.34E-06
10	0.999	19.260	30.3	95	1.56E-06
20	1.335	20.800	30.2	94	1.18E-06
30	2.310	22.400	31.0	90	6.59E-07
40	2.900	23.300	31.9	88	5.30E-07
50	3.640	24.000	33.1	85	4.05E-07

Tabela C.32: Permeabilidade hidráulica da membrana de OI, antes do experimento, após o experimento e após a limpeza em função da pressão transmembrana (duplicata).

ΔP (Pa)	J_p (m.s^{-1}) água inicial	J_p (m.s^{-1}) água após experimento	J_p (m.s^{-1}) água após limpeza
2.E+05	3.E-06	4.E-06	4.E-06
2.E+05	3.E-06	4.E-06	4.E-06
2.E+05	3.E-06	4.E-06	4.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	6.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	6.E-06
4.E+05	6.E-06	6.E-06	7.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	9.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	9.E-06
6.E+05	9.E-06	8.E-06	9.E-06
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
8.E+05	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05
1.E+06	1.E-05	1.E-05	1.E-05

Tabela C.35: Dados de teor de carbono das amostras de concentrado e de permeado, retenção e fluxo permeado das soluções de PEG em função da pressão para a membrana UF30, T= 300K.

ΔP (Pa)	TC permeado (mg/L) $\pm 3\%$	TC concentrado (mg/L) $\pm 3\%$	R (%) $\pm 3\%$	Jp (m.s ⁻¹) $\pm 3\%$
PEG2000				
1.7E+05	176,4	252,6	30,17	1,96E-05
2.5E+05	182,8	253,2	27,80	2,31E-05
3.3E+05	189,9	253	24,94	3,06E-05
4.3E+05	195,6	252,2	22,44	3,58E-05
6.3E+05	204,4	253,3	19,31	4,80E-05
PEG4000				
1.7E+05	175	272,4	35,76	2,03E-05
2.5E+05	180,9	270,8	33,20	2,37E-05
3.3E+05	205,1	269,1	23,78	3,03E-05
4.3E+05	219,3	269,1	18,51	3,72E-05
6.3E+05	227,4	270,7	16,00	4,93E-05
PEG6000				
1.7E+05	154,3	264,7	41,71	1,99E-05
2.5E+05	158,1	278,4	43,21	2,21E-05
3.3E+05	186,9	259,6	28,00	2,84E-05
4.3E+05	210,5	260,8	19,29	3,49E-05
6.3E+05	204,5	260,5	21,50	4,68E-05
PEG10000				
1.7E+05	114,8	250,2	54,12	1,74E-05
2.5E+05	155,2	252,7	38,58	1,95E-05
3.3E+05	184,1	249,1	26,09	2,44E-05
4.3E+05	220,5	250,2	11,87	3,11E-05
6.3E+05	206,9	249,7	17,14	4,05E-05
PEG15000				
1.7E+05	52,66	262,9	79,97	1,43E-05
2.5E+05	67,34	263,7	74,46	1,72E-05
3.3E+05	124,3	261	52,38	2,28E-05
4.3E+05	144,6	259,8	44,34	2,56E-05
6.3E+05	176,3	257,8	31,61	3,68E-05
PEG20000				
1.7E+05	140,2	258,6	80,24	1,26E-05
2.5E+05	125,4	269,2	79,04	1,81E-05
3.3E+05	77,36	265,2	70,83	2,35E-05
4.3E+05	56,4	269,1	53,42	2,81E-05
6.3E+05	52,95	267,9	45,78	3,63E-05
PEG35000				
1.7E+05	16,23	557,5	97,09	1,34E-05
2.5E+05	21,07	548,8	96,16	1,56E-05
3.3E+05	35,52	550,7	93,55	1,91E-05
4.3E+05	45,9	545,2	91,58	2,23E-05
6.3E+05	85,14	547,6	84,45	2,87E-05

C.5 Fracionamento das proteínas do soro de leite

Tabela C.36: Dados de compactação das membranas UF30 utilizadas para o fracionamento das proteínas do soro de leite, T= 300K, $\Delta P=800$ kPa.

Compactação t (min)	J (m.s ⁻¹)					
	R1	R2	N1	N2	W1	W2
0	1,31E-04	1,15E-04	1,05E-04	1,05E-04	9,86E-05	1,13E-04
10	1,03E-04	1,03E-04	9,92E-05	9,88E-05	9,76E-05	1,03E-04
20	9,07E-05	9,71E-05	9,14E-05	9,68E-05	9,37E-05	9,47E-05
30	8,49E-05	9,38E-05	8,57E-05	9,31E-05	9,09E-05	8,91E-05
40	8,02E-05	9,03E-05	8,21E-05	8,77E-05	8,85E-05	8,46E-05
50	7,61E-05	8,65E-05	7,92E-05	8,66E-05	8,64E-05	8,08E-05
60	7,20E-05	8,61E-05	7,69E-05	8,62E-05	8,47E-05	7,79E-05
70	7,05E-05	8,40E-05	7,49E-05	8,45E-05	7,47E-05	7,51E-05
80	6,77E-05	8,31E-05	7,31E-05	8,34E-05	7,03E-05	7,28E-05
90	6,64E-05	8,30E-05	7,18E-05	8,25E-05	6,95E-05	7,10E-05
100	6,40E-05	8,17E-05	7,11E-05	8,06E-05	6,86E-05	6,93E-05
110	6,25E-05	8,13E-05	6,99E-05	8,00E-05	6,79E-05	6,79E-05
120	6,16E-05	8,17E-05	6,84E-05	7,86E-05	6,70E-05	6,60E-05
130	6,02E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,87E-05	6,65E-05	6,51E-05
140	5,94E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,84E-05	6,63E-05	6,47E-05
150	5,82E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,84E-05	6,58E-05	6,37E-05
160	5,82E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,84E-05	6,57E-05	6,35E-05
170	5,80E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,84E-05	6,54E-05	6,30E-05
180	5,77E-05	8,13E-05	6,70E-05	7,84E-05	6,55E-05	6,30E-05

Tabela C.37: Dados de permeabilidade hidráulica da membrana de UF30 antes do experimento e permeabilidade do soro para cada solução testada.

J (m.s ⁻¹)							
P (Pa)	água	R1	R2	N1	N2	W1	W2
8,2E+5	6,53E-05	-	-	-	-	-	-
8,2E+5	6,52E-05	-	-	-	-	-	-
6,3E+5	4,86E-05	5,78E-06	7,82E-06	7,15E-06	6,02E-06	4,48E-06	4,52E-06
6,3E+5	4,87E-05	5,63E-06	7,76E-06	7,73E-06	5,87E-06	4,50E-06	4,50E-06
4,3E+5	3,71E-05	4,99E-06	6,63E-06	5,46E-06	4,93E-06	4,10E-06	4,13E-06
4,3E+5	3,76E-05	4,88E-06	6,55E-06	5,2E-06	4,88E-06	4,08E-06	4,11E-06
2,5E+5	2,43E-05	3,71E-06	4,29E-06	4,05E-06	3,76E-06	3,33E-06	3,40E-06
2,5E+5	2,44E-05	3,75E-06	4,29E-06	4,1E-06	3,77E-06	4,09E-06	3,41E-06
0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela C.38: Permeabilidade hidráulica da membrana de UF após o experimento de permeação do soro de leite.

P (Pa)	J (m.s⁻¹)					
	R1	R2	N1	N2	W1	W2
6,3E+5	5,78E-06	1,15E-05	1,66E-05	6,24E-06	1,51E-05	1,24E-05
6,3E+5	5,63E-06	1,15E-05	1,62E-05	6,23E-06	1,62E-05	1,17E-05
4,3E+5	4,99E-06	8,28E-06	1,24E-05	5,15E-06	1,24E-05	7,52E-06
4,3E+5	4,88E-06	8,27E-06	1,19E-05	5,14E-06	1,29E-05	7,51E-06
2,5E+5	3,71E-06	4,89E-06	5,2E-06	3,85E-06	5,04E-06	4,62E-06
2,5E+5	3,75E-06	4,91E-06	5,18E-06	3,84E-06	5,02E-06	4,63E-06
0,0E+0	0	0	0	0	0	0

Tabela C.39: Dados de permeação do soro de leite das membranas UF30 utilizadas para o fracionamento das proteínas do soro de leite, T= 300K, ΔP=200 kPa.

t (min)	J (m.s⁻¹)					
	R1	R2	N1	N2	W1	W2
0	4,18E-06	4,29E-06	4,04E-06	3,82E-06	3,39E-06	3,41E-06
30	4,1E-06	4,29E-06	4,1E-06	3,79E-06	3,36E-06	3,38E-06
60	3,81E-06	4,21E-06	3,98E-06	3,76E-06	3,33E-06	3,35E-06
90	3,72E-06	4E-06	3,67E-06	3,72E-06	3,25E-06	3,27E-06
120	3,73E-06	3,81E-06	3,53E-06	3,66E-06	3,22E-06	3,23E-06
150	3,68E-06	3,73E-06	3,36E-06	3,65E-06	3,23E-06	3,25E-06
180	3,67E-06	3,6E-06	3,39E-06	3,65E-06	3,20E-06	3,22E-06
210	3,9E-06	3,59E-06	3,35E-06	3,64E-06	3,18E-06	3,19E-06
240	3,6E-06	3,52E-06	3,31E-06	3,63E-06	3,16E-06	3,17E-06
270	3,64E-06	3,45E-06	3,27E-06	3,6E-06	3,15E-06	3,16E-06
300	3,49E-06	3,39E-06	3,16E-06	3,58E-06	3,14E-06	3,15E-06
330	3,81E-06	3,36E-06	3,12E-06	3,57E-06	3,12E-06	3,14E-06
360	3,6E-06	3,37E-06	3,15E-06	3,48E-06	3,09E-06	3,10E-06
390	3,43E-06	3,33E-06	3,18E-06	3,46E-06	3,04E-06	3,06E-06
420	3,27E-06	3,28E-06	3,17E-06	3,45E-06	3,03E-06	3,04E-06
450	3,14E-06	3,24E-06	3,16E-06	3,44E-06	3,00E-06	3,02E-06
480	3,1E-06	3,24E-06	3,16E-06	3,44E-06	2,94E-06	2,96E-06

Tabela C.40: Dados do processo de UF, incluindo teor de sólidos totais, proteína, lactose, condutividade elétrica, pH para as amostras de concentrado e permeado monitoradas conforme o volume de permeado recolhido dos processos de fracionamento das proteínas do soro utilizando a membrana UF30, T= 30 °C, ΔP= 200 kPa.

Amostra	V de permeado recolhido (L)	Proteína (kg.m ⁻³)	Lactose (kg.m ⁻³)	pH	Ke (mS.cm ⁻¹)	Sais (kg.m ⁻³)	Gorduras (kg.m ⁻³)	ST (kg.m ⁻³)
R1C1	0	13,9	38,5	6,8	3,9	7,7	-	60,2
R1C2	0,2	14,0	42,4	6,6	4,0	7,9	-	65,3
R1C3	0,4	15,0	43,9	6,5	4,0	8,0	-	67,4
R1C4	0,6	15,5	39,3	6,3	4,3	8,6	-	69,3
R1P2	0,2	1,0	40,6	6,7	3,7	7,4	-	50,0
R1P3	0,4	2,0	38,8	6,5	3,8	7,6	-	50,1
R1P4	0,6	3,6	42,5	6,3	4,1	8,1	-	50,7
R2C1	0	13,7	38,1	5,0	4,7	9,2	-	60,3
R2C2	0,2	13,0	37,9	5,0	4,7	9,2	-	60,6
R2C3	0,4	13,5	37,8	5,0	4,7	9,3	-	60,7
R2C4	0,6	13,6	49,2	4,9	4,8	9,5	-	61,1
R2P2	0,2	2,4	44,0	5,0	4,4	8,8	-	55,3
R2P3	0,4	2,5	44,4	5,0	4,6	9,1	-	56,7
R2P4	0,6	3,2	51,3	4,9	4,7	9,3	-	60,6
N1C1	0	10,1	52,4	6,7	10,4	19,9	3,0	85,4
N1C2	0,2	10,9	52,2	6,5	10,5	20,1	3,0	86,2
N1C3	0,4	10,7	50,4	6,5	10,5	20,1	3,0	84,2
N1C4	0,6	11,5	55,0	6,5	10,5	20,1	3,0	86,6
N1P2	0,2	3,0	44,0	6,6	10,4	19,9	-	66,9
N1P3	0,4	2,0	43,0	6,6	10,4	19,9	-	64,9
N1P4	0,6	2,8	46,2	6,5	10,3	19,6	-	68,6
N2C1	0	8,9	49,1	5,0	8,2	15,8	2,5	76,3
N2C2	0,2	9,0	46,0	5,1	8,2	15,8	2,6	73,4
N2C3	0,4	10,0	43,3	5,1	8,3	15,9	2,2	71,5
N2C4	0,6	10,3	43,7	5,1	8,5	16,3	2,9	73,2
N2P2	0,2	1,0	35,0	5,1	8,2	15,7	-	51,7
N2P3	0,4	2,0	35,0	5,1	8,3	15,9	-	52,9
N2P4	0,6	2,0	35,2	5,1	8,3	15,9	-	53,2

Continuação da Tabela C.40

Amostra	V de permeado recolhido (L)	Proteína (kg.m ⁻³)	Lactose (kg.m ⁻³)	pH	ke (mS.cm ⁻¹)	Sais (kg.m ⁻³)	Gorduras (kg.m ⁻³)	ST (kg.m ⁻³)
W1C1	0	38,2	26,6	6,6	2,5	5,2	-	70,1
W1C2	0,2	39,0	27,0	6,5	2,7	5,5	-	71,5
W1C3	0,4	40,0	29,0	6,0	2,7	5,6	-	74,6
W1C4	0,6	41,0	31,4	5,8	2,8	5,8	-	78,2
W1P2	0,2	4,0	11,0	6,6	2,3	4,8	-	19,8
W1P3	0,4	3,0	13,0	6,5	2,2	4,7	-	20,7
W1P4	0,6	3,4	11,9	6,1	2,5	5,2	-	20,5
W2C1	0	39,4	26,5	5,0	2,9	5,9	-	71,8
W2C2	0,2	39,0	27,5	4,9	3,0	6,0	-	72,6
W2C3	0,4	40,0	29,6	4,9	3,0	6,0	-	75,6
W2C4	0,6	41,4	31,8	4,9	2,9	6,0	-	79,1
W2P2	0,2	2,4	10,0	5,0	3,0	6,1	-	18,5
W2P3	0,4	2,5	12,0	5,0	3,1	6,2	-	20,7
W2P4	0,6	1,6	10,9	5,0	3,1	6,3	-	18,7

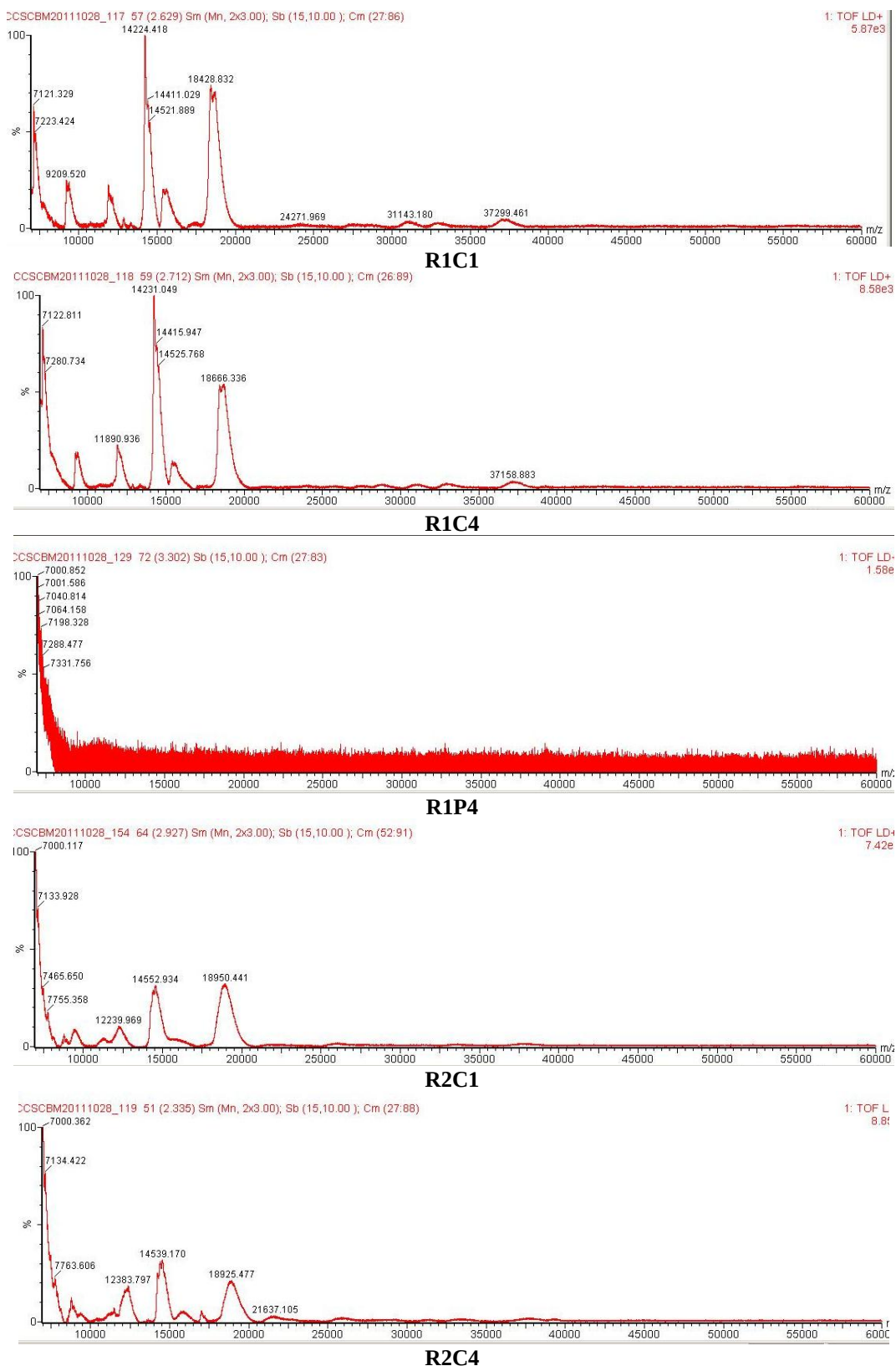


Figura C.1: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

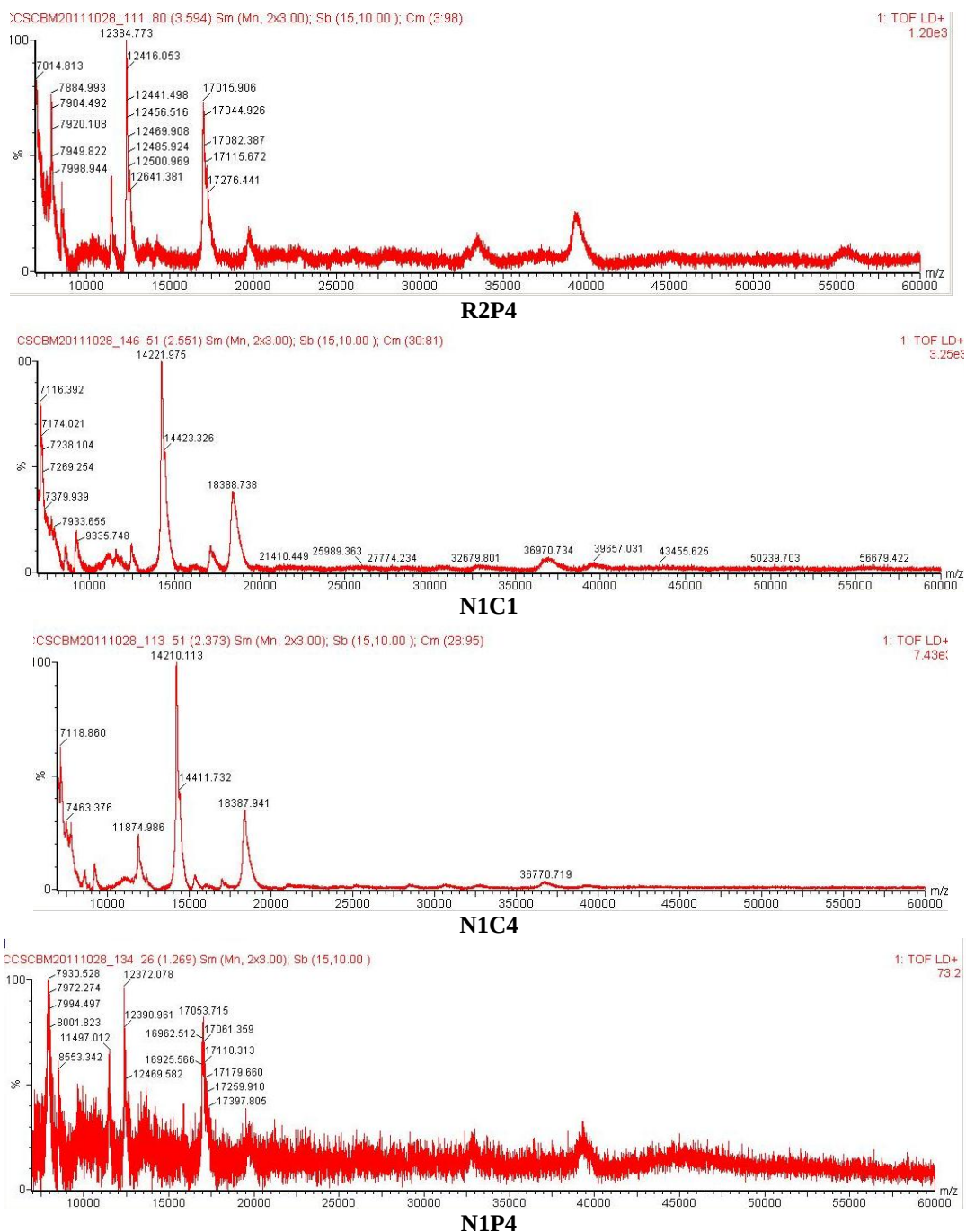
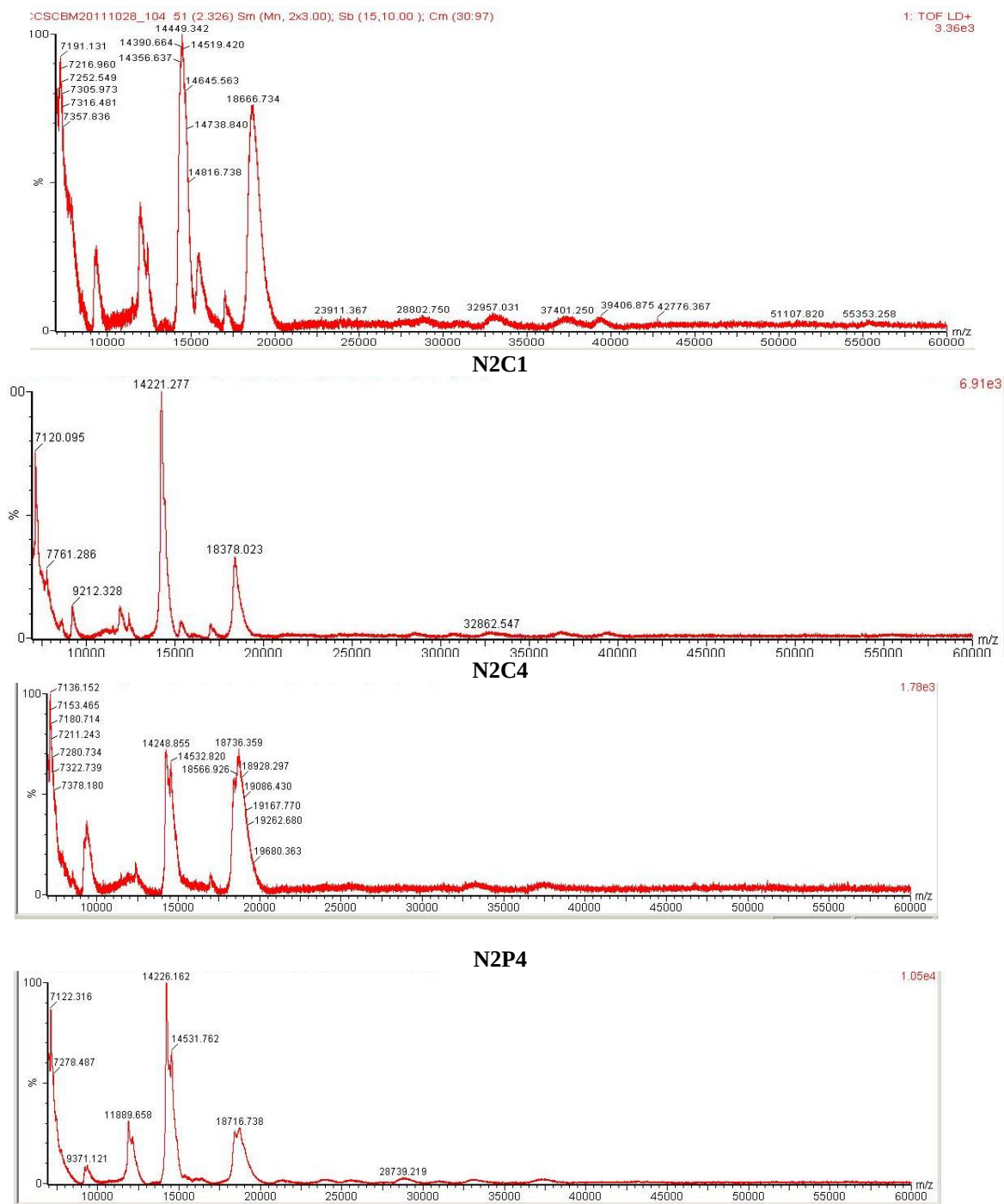


Figura C.2: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.



W1C1

Figura C.3: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

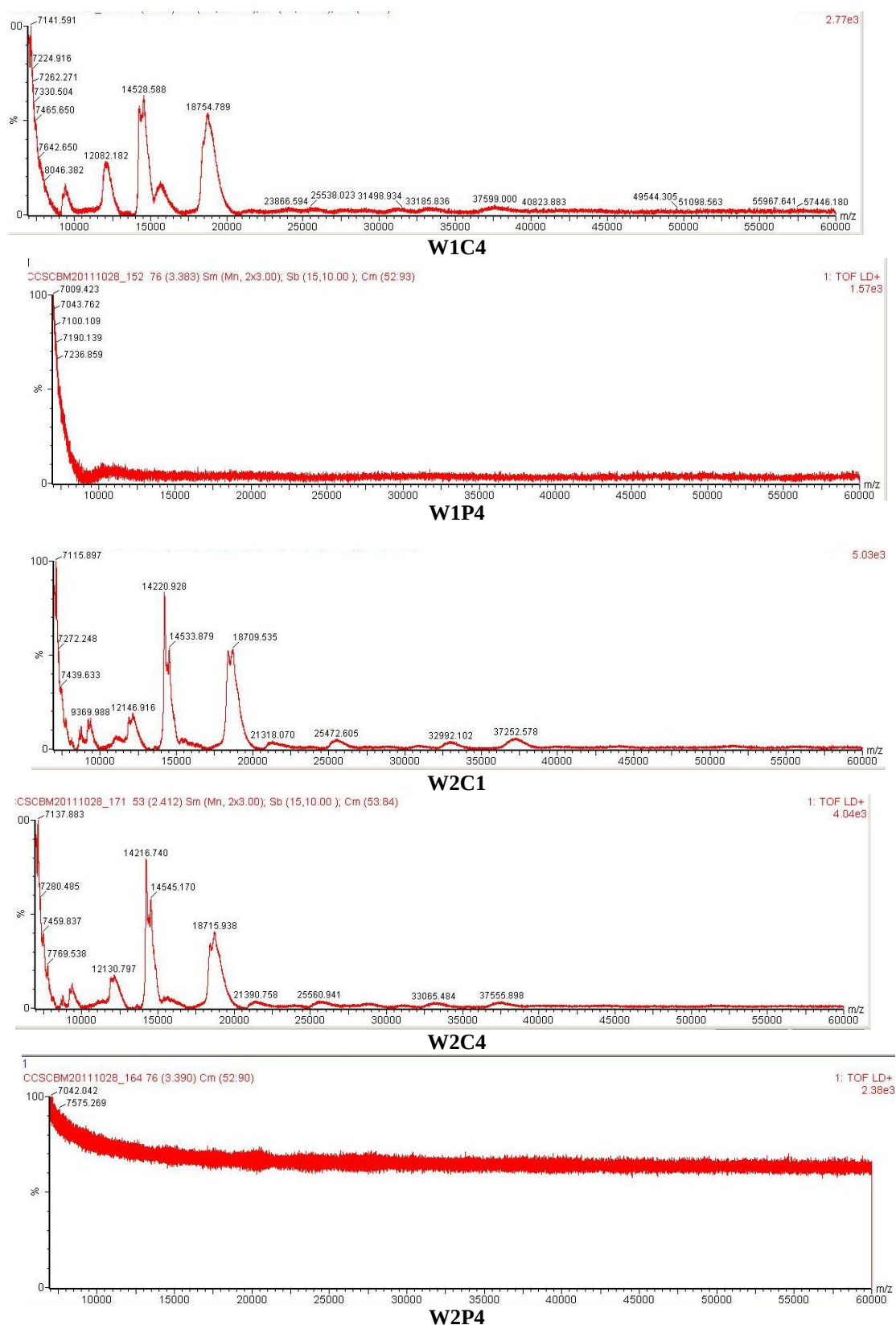


Figura C.4: Duplicata dos espectros de massa MALDI-TOF/MS das amostras em resolução em massa, utilizando a irradiância a laser limiar. 25 kV - potencial de aceleração, 25 - pulsos de laser em média.

Apêndice D

Atividades Acadêmicas

Camila Baldasso

Categoria I – Títulos Acadêmicos

2008 - 2011 Doutorado em Engenharia Química na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil; com co-tutela da Faculdade de Engenharia Química e Biológica da Universidade do Porto, Portugal.

Título: Fracionamento dos componentes do soro de leite através de processos de separação por membranas

Orientador: Isabel Cristina Tessaro – UFRGS
 Ligia Damasceno Marczak – UFRGS
 João Bernardo Lares Moreira Campos - Universidade do Porto

2006 - 2008 Mestrado em Engenharia Química na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

Título: Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas.

Orientador: Isabel Cristina Tessaro

2000 - 2005 Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

Título: Substituição das proteínas cárneas por proteínas vegetais.

Orientador: Plinho Francisco Hertz

Categoria II – Atividades Científicas

II.1 - Atividades de Produção Científica, Técnica

Artigo completo publicado em periódico

1. BALDASSO, C. ; KANAN, J. H. C.A ; TESSARO, I. C. An investigation of the fractionation of whey proteins by two microfiltration membranes with nominal pore size of 0.1µm. International Journal of Dairy Technology (Print), p. no-no, 2011.
 2. BALDASSO, C. ; BARROS, T.C. ; TESSARO, I. C. . Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. Desalination (Amsterdam), v.278, p.381 - 386, 2011.
 3. PAGNO, C. H. ; BALDASSO, C. ; TESSARO, I. C. ; FLORES, S. H. ; JONG, E.V. . Obtention of whey protein and characterization of its technological functional properties.. Alimentos e Nutrição (UNESP. Marília), v. 20, p. 231-239, 2009.
-

Trabalho científico apresentado em congresso e publicado na íntegra em anais

1. BALDASSO, Camila ; TESSARO, Isabel Cristina ; RUVER, G. S. . Desmineralização do soro de leite através da eletrodialise. In: XVIII Congresso

Brasileiro de Engenharia Química, 2010, Foz do Iguaçu. XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2010.

2. BALDASSO, Camila; BARROS Tatiana Castro de; TESSARO Isabel Cristina. Concentração e purificação das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química (17. : 2008 set. 14-17 : Recife, PE). Engenharia química : energia e novos desafios : [Anais] [recurso eletrônico], [São Paulo] : ABEQ, 2008. 8 f.

Outras produções científicas

A) Resumos publicados em anais de congressos

1. RUVER, G.S. ; TESSARO, I. C. ; BALDASSO, CAMILA . Desmineralização do Soro de leite através da eletrodialise. In: Salão de Iniciação Científica, 2009, Porto Alegre. XXI Salão de Iniciação Científica, 2009.
2. BARROS, T.C. ; BALDASSO, CAMILA ; TESSARO, I. C. . Fracionamento dos componentes do soro de leite. In: Salão de Iniciação Científica, 2008, Porto Alegre. XX Salão de Iniciação Científica, 2008.

B) Participações em eventos

1. Cobeq.Desmineralização do soro de leite por eletrodialise. 2010. (Congresso).
 2. VIII Oktoberforum.Desmineralização do soro de leite através da eletrodialise. 2009. (Congresso).
 3. Cobeq.Concentração e purificação das proteínas do soro lácteo. 2008. (Congresso).
 4. VII Oktoberforum. 2008. (Congresso).
 5. VI Oktoberforum.Concentração e purificação das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas. 2007. (Congresso).
 6. V Oktoberforum. 2006. (Congresso).
 7. Semana Acadêmica da Engenharia de Alimentos. 2005. (Seminário).
 8. Semana Acadêmica da Engenharia de Alimentos. 2004. (Seminário).
 9. Semana Acadêmica da Engenharia de Alimentos. 2003. (Seminário).
-
-

Categoria III – Atividades Didáticas

Orientação e Co-Orientação de monografia

Trabalho de conclusão de curso de graduação – co-orientação

1. Gisele Cristina Leindecker. Fracionamento das proteínas do soro de leite in natura. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
2. Nathalia Dal Piaz. Aplicação de membranas na área da saúde. 2011. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientação de aluno bolsista de iniciação científica

Iniciação Científica – Co-orientação

1. Gabriel Ruver. Aproveitamento do Soro lácteo para utilização na alimentação humana. 2009. Iniciação Científica. (Graduando em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul.
2. Allan Morcelli. Desmineralização do soro de leite através da eletrodialise. 2009. Iniciação Científica. (Graduando em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
3. Gabriel dos Santos da Silveira. Tratamento de soluções salinas geradas do processo de desmineralização do soro de leite por osmose inversa. 2011. Iniciação Científica. (Graduando em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
4. Tatiana de Castro Barros. Concentração e Fracionamento de Proteínas. 2008. Iniciação Científica. (Graduando em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul.
5. Adriano Vasconcellos Soares. Estudo de diferentes técnicas para fracionamento de proteínas. 2011. Iniciação científica (Graduando em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Participação como membro de banca examinadora

1. Participação em banca de Hiroki Toba. Avaliação da aplicação do processo de eletrólise no tratamento do chorume de aterro sanitário, 2011 (Graduação em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul
2. Participação em banca de Felipe Andreis. Redução dos níveis de cromo em águas residuais utilizando *Saccharomyces Cerevisiae* como bioadsorvente, 2011 (Graduação em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul
3. Participação em banca de Graziela Salvan Cerveira. Estudo teórico para a filtração do alumínio líquido. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
4. Participação em banca de Carine Pertille. Estudo da influência do ClO_2 em um sistema de Osmose inversa industrial. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
5. Participação em banca de Fernanda Borges. Estudo da estação de tratamento de efluentes industriais na filial Ambev Águas Claras do Sul: Análise de Estratégias para Redução de Dosagem de Soda Cáustica. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
6. Participação em banca de Silvana Sherer. Tratamento Térmico e Reciclagem Energética no Cenário dos Resíduos Sólidos do Brasil. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
7. Participação em banca de Felipe Bresolin. Projeto de uma planta de leite em pó. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade de Caxias do Sul.
8. Participação em banca de Emiliana Rodriguez Inthamoussul. Estudo e avaliação do impacto de NPEs no processo de caustificação. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
9. Participação em banca de Antonella Canarim. Redução das emissões de metano oriundas dos resíduos sólidos urbanos de Porto Alegre. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
10. Participação em banca de Julia Alvarez Coelho. Estudo preliminar da transferência de massa na desidratação osmótica do mirtilo. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande

do Sul.

11. Participação em banca de Natalia Prates Honaiser. Estudo do comportamento reológico de chocolates. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Outras participações – comissão julgadora

1. Participação em banca de Jefferson Luis Diel no VIII Oktoberforum. DIEI, J. L.; MORCELLI, A V; TESSARO, I. C.; CASSINI, A. S.; CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS CERÂMICAS TUBULARES. 2009. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Categoria IV – Outras atividades

2007 - 2007 Workshop de Alimentos. (Carga horária: 8h).
Centro Universitário Univates.

2006 - 2006 Extensão universitária em Matlab. (Carga horária: 40h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

2000 - 2000 Extensão universitária em Nutrição. (Carga horária: 12h).
Universidade Estadual de Campinas.
