



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

MODELAGEM DE PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE CALDO CLARIFICADO CONTENDO ENZIMAS POR ULTRAFILTRAÇÃO

Tamila Ferreira Pereira¹ e Andrea Limoeiro Carvalho²

1. Bolsista PROBIC, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: tamilaferreira1@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: limoeiro@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Modelagem de processos, ultrafiltração, enzimas.

INTRODUÇÃO

A geração de resíduos e subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo. Dessa forma, além de ações para redução do volume de resíduos gerados, a destinação final destes carece de melhorias e alternativas de tratamentos para melhor aproveitamento (PINTO *et al.*, 2005; MARTINS, FARIAS, 2002).

Neste cenário, a fermentação em estado sólido (FES) desempenha um papel de destaque no aproveitamento de resíduos sólidos, pois, em virtude do crescimento microbiano, ocorre a síntese de diversos compostos, dos quais muitos apresentam grande interesse para diversos segmentos industriais, além de elevado valor agregado. Nessa linha, destacam-se as enzimas (PINTO *et al.*, 2005), e uso de substratos para FES como o resíduo (torta) gerado na extração do óleo do licuri.

O extrato enzimático obtido após a FES deve ser purificado para a obtenção das enzimas, dentre as possibilidades para isso, tem-se o processo de ultrafiltração (UF) por membranas. Nesse contexto, pretende-se validar o modelo proposto por Silva *et al.* (2011) para obtenção do fluxo dos principais componentes avaliados de forma a simular o processo de ultrafiltração em uma possível ampliação de escala.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

Para a produção do caldo enzimático as actinobactérias utilizadas neste estudo foram adquiridas junto ao Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LAPEM). Os substratos, torta e casa de licuri, foram provenientes da Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES), localizada na microrregião de Piemonte da Diamantina.

Inicialmente os micro-organismos recebidos foram ativados em meio YM a 28°C por 10 dias. Simultaneamente realizou-se o desgorduramento da torta de licuri, utilizando a metodologia de Rodrigues (2017), adaptada. O inóculo foi preparado em arroz e incubado por 10 a 12 dias a 28°C, seguida da indução da produção de enzimas, em meio fermentativo, durante 10 dias a 28°C.

O extrato enzimático bruto foi obtido por extração com água e submetido a etapas de clarificação por filtração e centrifugação. Então, sucedeu-se a etapa de UF, com

membrana de PES de 10 kDa, operada em batelada, com recirculação do retido até atingir o fator de concentração volumétrica (FCV) de 1,3; 2,5; 2,8; 3,2; 5,6 e 7,6.

Foram feitas análises físico-químicas das amostras retidas, permeadas e a inicial, tais como a análise de proteínas por Lowry (LOWRY *et al.*, 1951), de açúcares redutores por DNS (ANVISA, 2012), de sólidos totais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) e a determinação da atividade de lipase (BONINE, 2011).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

A Tabela 1 apresenta os resultados da permeabilidade hidráulica da membrana, obtidos por meio da medida do fluxo médio permeado de água deionizada.

Tabela 1. Permeabilidade da membrana à água deionizada.

	Permeabilidade ($10^{-11} \text{ m} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)
1º uso	0,90
2º uso	3,45
3º uso	1,62
4º uso	1,57
5º uso	0,95
6º uso	1,57
7º uso	1,27
8º uso	1,57

Observa-se que os resultados supracitados apresentaram grande variação, principalmente inicialmente, pelo fato da recuperação da permeabilidade da membrana ao longo dos experimentos, mediante um processo de lavagem eficiente.

Na Figura 1 estão ilustrados os valores fluxos médios de extrato enzimático e da água nos diferentes FCV. Ao compará-los, constata-se que houve a redução deste em todos os FCVs quando utilizou-se o caldo, como esperado, pois, Barros (2002) assegura que o acentuado desvio no fluxo, quando comparado ao fluxo da água pura é devido ao aumento da concentração de soluto.

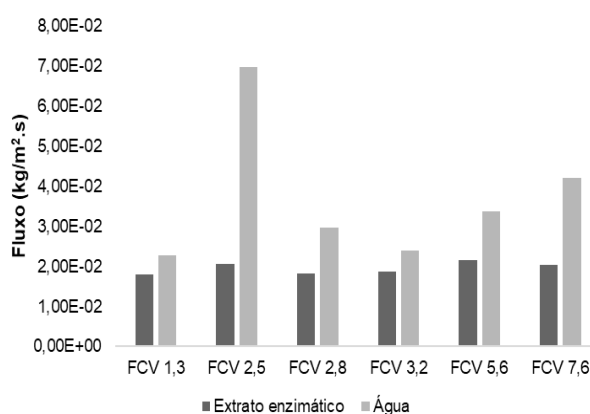


Figura 1 – Fluxo médio de permeado e da água nos diferentes fatores de concentração.

A partir da Figura 1, nota-se que não houve alteração no fluxo do permeado à medida que aumentou o FCV, demonstrando que a polarização de concentração com a passagem do caldo enzimático não influenciou no fluxo do permeado. Esta maior estabilidade nos fluxos pode ser explicada em função do aumento da permeabilidade da membrana ao longo dos experimentos.

Após o processo de concentração, uma amostra de permeado e retido de cada experimento foi analisada em relação ao teor de sólidos, proteínas e açúcares redutores e assim foi possível determinar a seletividade e a porcentagem de rejeição da membrana a estas partículas, Figuras 2 e 3, respectivamente. Não se observou seletividade da membrana às proteínas e, por isso, ela não foi apresentada graficamente.

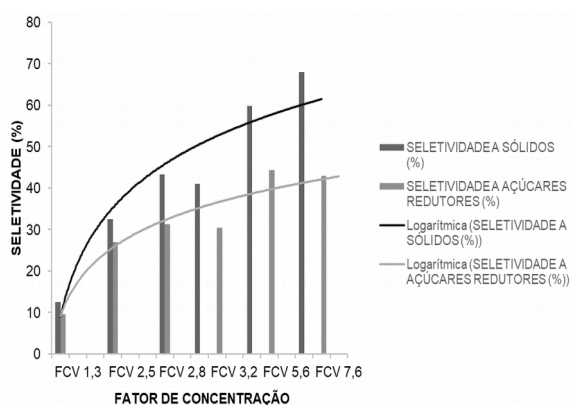


Figura 2 – Seletividade da membrana aos compostos alvo.

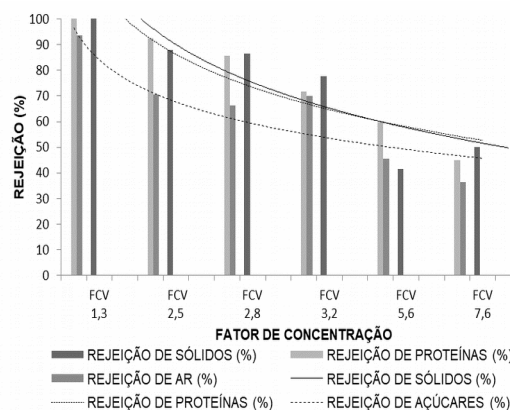


Figura 3 – Rejeição da membrana aos compostos alvo.

Observa-se na Figura 2 que a seletividade aos açúcares redutores aumentou assim como aos sólidos totais. No entanto, este elevado teor de sólidos do permeado em relação aos açúcares redutores indica que há passagem de outros sólidos além dos açúcares redutores. A partir da análise da composição centesimal das amêndoas e da casca de licuri, meios sólidos utilizados para a fermentação, realizada por Crepaldi *et al.* (2001), o qual destaca os lipídios, carboidratos e proteína como os principais constituintes e sabendo-se que a hidrólise enzimática da lipase tem como subprodutos os ácidos graxos e glicerol, insolúveis em água, acredita-se que os outros sólidos presentes no permeado, sejam sais solúveis, provenientes da solução nutriente adicionada ao meio fermentativo, ou que estejam presentes na composição do meio em menor quantidade, ou ainda outros açúcares não redutores.

Verifica-se na Figura 3, que à medida que aumenta o FCV, houve maior permeação dos nutrientes através da membrana, exceto para proteína, por causa da incrustação (*fouling*) das partículas na superfície da membrana, devido ao maior FCV, o que aumenta a concentração da solução retida, promovendo uma maior polarização da concentração e, conseqüentemente, uma camada gel mais estável. Quanto a rejeição da membrana aos sólidos totais, nota-se que este foi proporcional a de proteínas. O aumento no FCV também ocasionou uma diminuição na rejeição dos açúcares redutores, o que se deve ao aumento da seletividade da membrana a estes compostos, resultando em um caldo com maior purificação. A seletividade dos açúcares redutores aconteceu pelo fato de que no processo ultrafiltração os açúcares simples não são retidos, pois Gautério (2016) denota que estas moléculas apresentam massa molar entre 0,2 a 0,5 KDa e a massa molar de corte da membrana de ultrafiltração utilizada foi de 10 kDa.

Após a análise dos resultados experimentais obtidos para a atividade enzimática da lipase, não foi possível realizar a modelagem do processo de purificação do extrato bruto enzimático por ultrafiltração, pois alguns resultados são incoerentes, impossibilitando conclusões fidedignas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

No presente trabalho, os ensaios de permeabilidade hidráulica evidenciaram que, a permeabilidade da membrana poliétersulfona com massa molecular de corte de 10 kDa pode ser recuperada ao longo dos experimentos após a lavagem com hidróxido de amônio a 5%.

Em todos os experimentos de concentração foi possível obter total retenção das proteínas, apesar da redução na porcentagem de rejeição com a aumento da concentração, devido aos fenômenos de incrustação e polarização da concentração. A membrana apresentou maior seletividade aos sólidos totais com o aumento dos fatores de concentração, de modo que o elevado teor de sólidos no permeado em relação ao de açúcares redutores indicou a passagem de outros sólidos além dos últimos.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 55, de 14 de novembro de 2012*. Dispõe sobre os detergentes enzimáticos de uso restrito em estabelecimentos de assistência à saúde com indicação para limpeza de dispositivos médicos e dá outras providências.
- BARROS, S.T.D. 2002. Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: modelagem e simulação do fluxo de permeado e determinação dos mecanismos de fouling. Universidade Estadual de Campinas, Tese.
- BONINE, B.M. 2011. Produção de lipase pelo fungo *Mycelio phthora* sp. F.2.1.4, caracterização e imobilização da solução enzimática bruta. Universidade Estadual Paulista, Dissertação.
- CREPALDI, I.C.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. de.; RIOS, M.D.G.; PENTEADO, M. de V.C.; SALATINO, A. 2001. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). *Revta brasil. Bot.* 24: 155-159
- GAUTÉRIO, G.V. 2016. Purificação de peroxidase por cromatografia de troca iônica em leito expandido integrado à ultrafiltração e sua aplicação na redução dos níveis de deoxinivalenol. Universidade Federal do Rio Grande, Dissertação.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193,265-275.
- MARTINS, C. R.; FARIAS, R. de M. 2002. Produção de alimentos x desperdício: Tipos, causas e como reduzir perdas na produção agrícola–Revisão. *Revista da FZVA* 9(1):20-32.
- PINTO, G.A.S.; BRITO, E.S. de; ANDRADE, A.M.R.; FRAGA, S.L.P.; TEIXEIRA, R.B. 2005. Fermentação em estado sólido: uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais tropicais. *Comunicado técnico on line*, 102(1), pp. 1-5
- RODRIGUES, H.C.S.R. 2017. Produção de lipase e pectinase por fermentação em estado sólido utilizando resíduo de licuri como substrato. Universidade Federal da Bahia, Dissertação.
- SILVA, V.; MARTÍN, A.; MARTÍNEZ, F.; MALFEITO, J.; PRÁDANOS, P.; PALACIO, L.; HERNÁNDEZ, A. 2011. Electrical characterization of NF membranes. A modified model with charge variation along the pores. *Chem. Eng. Sci.*, 66(2011): 2898-2911.