RECUPERAÇÃO DE PROTEÍNAS DAS ÁGUAS RESIDUAIS DO PROCESSAMENTO DE LULA

LUCIENE CORRÊA DAS NEVES

TESE APRESENTADA AO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.

ESCOLA DE QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
2006

RECUPERAÇÃO DE PROTEÍNAS DAS ÁGUAS RESIDUAIS DO PROCESSAMENTO DE LULA

LUCIENE CORRÊA DAS NEVES

Tese submetida ao corpo docente da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Aprovada por:

Profª. _____ - Orientadora
(Drª Selma Gomes. F. Leite)

Profª. _____ - Orientadora
(Drª Virgínia Martins da Matta)

Profª. _____
(Drª Ana Lúcia Vendramini)

Profª. _____
(Drª Suely Pereira Freitas)

Profª. _____
(Drª Lourdes Maria C. Cabral)

Profª. _____
(Drª Luciana Helena Maia Porte)

Proªf. _____
(Drª Marília Penteado Stephan)

ESCOLA DE QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
2006

Neves, Luciene Corrêa das.

xv, 134 f.

Recuperação de Proteínas das Águas Residuais do Processamento de Lula / Luciene Corrêa das Neves – Rio de Janeiro, 2006.

Tese: Doutor em Ciências – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química, Curso de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2006

Orientadoras: Selma Gomes Ferreira Leite; Virgínia Martins da Matta

1. Ultrafiltração
2. Proteínas de Lula
3. Extrusão
4. Tratamento de Resíduos

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química
II. Título

Aos meus irmãos, Walmyr, Lair e Leticia
e aos meus sobrinhos, Monique e Mário Luiz,
presentes de Deus na minha vida.

Agradecimentos

A Deus, que a cada dia me presenteia, colocando novos e importantes amigos em meu caminho e recarregando minhas esperanças.

Às minhas orientadoras, Dra. Selma G. F. Leite, que mais uma vez apostou no meu trabalho, contribuindo para o meu crescimento profissional, e Dra. Virgínia M. da Matta, uma pessoa que consegue conjugar, de forma excepcional, as responsabilidades da orientação com o carinho da amizade e a cumplicidade do companheirismo.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, que mais uma vez me acolheu permitindo o desenvolvimento deste trabalho científico. Ao Dr. Carlos Carvalho, ao Sr. Francisco e à Tatiana, pela colaboração nos processamentos de extrusão. Aos amigos Selma, Filé, LF, Fernando, Luciana, Denise, Flávia, Claudão, André Formiga, Mônica, Zizi, Ed, Angela, André, Lourdes, Daisy, Ingrid, Sérgio, Sônia, Aline, Lourdinha, Neida, Jeane, Manu e Andrezinho, que direta ou indiretamente contribuíram com este trabalho.

A todos os amigos integrantes ou agregados do Laboratório de Microbiologia Industrial da Escola de Química, Narcisa, Paula, Fábio, Márcio Marçano, Bianca, Lívia, Claudete, Aline Bravo, Alexandre, Márcio Brito, Cristiane, Tati, Sheilinha, Andréa Rodrigues, Silvinha, Ricardo, Érika, Andréa Paulinho, Fabiana, Aline e Verônica, por compartilharmos tanto os momentos de alegria como os de angústia durante este período de tese.

À Profa. Maria Alice e suas alunas Yovanca, Michele, Etel e Tatiana, do Laboratório de Enzimologia Industrial da Escola de Química, que me acolheram com todo carinho durante a realização das análises de DQO.

Ao CNPq e à FAPERJ pelo auxílio financeiro concedido durante a realização deste trabalho científico.

Às amigas Roselee e Marlene, nossos “anjos” de plantão no Programa de Pós-graduação da Escola de Química-UFRJ.

Ao meu amigo/irmão Orlando, pela sua colaboração na edição desta tese e, principalmente, por ser minha consciência nos meus momentos de desânimo.

À Cláudia, Luciana e Inês, pessoas capazes de demonstrar e vivenciar todos os significados e adjetivos contidos na palavra amizade.

Aos meus amigos Márcio Marques, Renata, Silvana e Almir, que, de uma forma ou de outra, sempre estiveram, estão e sempre estarão presentes em minha vida.

E por fim, mas não menos importante, à minha família, Monique, Mário Luiz, Leticia, Lair, Walmyr e Tia Lenir, pelo apoio, incentivo e confiança em mim depositado.

Resumo

Durante a elaboração de lula em conserva, os anéis de lula são branqueados em salmoura (NaCl 2%) e enlatados, enquanto a salmoura é descartada. Nesta etapa do processamento 4% a 6% das proteínas do manto de lula são perdidas na salmoura residual. Neste trabalho avaliou-se a influência da retenção nominal das membranas, o efeito do pH, da velocidade tangencial e da pressão transmembrana sobre o fluxo de permeado, durante a ultrafiltração (UF) da salmoura residual, objetivando a recuperação de proteínas. Foram testadas quatro membranas planas, com área de filtração de 0,0146 m^2 e retenção nominal de 10, 20, 50 e 100 kDa. A pressão transmembrana foi de 200 kPa e a velocidade tangencial foi 0,4 m/s. A membrana de 20 kDa apresentou o melhor desempenho na recuperação de proteínas (fator de concentração de 1,7). A retenção nominal das membranas não teve efeito considerável sobre o pH e a concentração de cloreto da salmoura. O perfil eletroforético (SDS-PAGE) mostrou ausência de material protéico em todas as frações de permeado. A UF foi eficiente na diminuição da carga poluidora do resíduo, com redução de 95% da turbidez e de até 67% da DQO. A membrana de 100 kDa foi utilizada para a avaliação do efeito do pH sobre a recuperação de proteínas e os experimentos foram conduzidos no pH natural da salmoura, 7,0, e em pH 5,0. A presença de material protéico na fração de permeado, aliada aos valores de nitrogênio e DQO, mostrou que a diminuição do pH prejudicou a recuperação de proteínas e, consequentemente, aumentou a carga poluidora do resíduo. Para avaliar o efeito da velocidade tangencial e da pressão transmembrana foram utilizadas duas membranas poliméricas planas, com retenção nominal de 20 e 50 kDa. Foram testadas três velocidades, 0,4, 0,6 e 1,2 m/s, variando-se a pressão transmembrana de 100 a 400 kPa. O efeito positivo da pressão sobre o fluxo de permeado foi observado para as três velocidades, em ambas as membranas estudadas. O fluxo limite foi alcançado com a velocidade tangencial de 0,4 m/s, a 200 kPa, quando a membrana de 50 kDa foi testada. Finalmente, o retido da UF foi utilizado na formulação de extrusados. Foram testados três valores de umidade, 25, 30 e 35%. Os extrusados obtidos a partir da formulação com 35% de umidade foram os que apresentaram melhor Índice de Absorção de Água (IAA), bem como a melhor aparência do produto final expandido. A extrusão mostrou-se uma boa alternativa para a aplicação das proteínas recuperadas por ultrafiltração.

Abstract

During canned squid elaboration, squid rings are blanched in brine (2% NaCl) and conditioned in cans, while the brine is discarded. In this process step, 4% to 6% of squid meat proteins are lost in the residual brine. In this work the influence of membranes cut off, the effect of pH, tangential velocity and transmembrane pressure on the permeate flux was evaluated during the ultrafiltration (UF) of the residual brine, aiming at the protein recovering. Four flat sheet membranes were tested, with filtration area of 0.0146 m^2 and cut off 10, 20, 50 and 100 kDa. The transmembrane pressure was 200 kPa and the tangential velocity 0.4 m/s. The 20 kDa membrane presented the best performance in proteins recovery (concentration factor of 1.7). The membranes cut off did not have a considerable effect on pH and on chloride concentration of the brine. The electrophoresis profile (SDS-PAGE) showed absence of proteic material on all the permeate fractions. The UF was efficient in decreasing pollutant load from residue, with 95% turbidity reduction and, at least, 67% of the chemical oxygen demand (COD). The 100 kDa membrane was tested to evaluate the effect of pH on protein recovery and the experiments were carried out in the brine natural pH, 7.0, and in pH 5.0. The presence of proteic material on permeate fraction, allied to the values of nitrogen and COD, showed that the pH decreasing of the brine affected negatively the recovery of proteins and, consequently, increased the pollutant load of the residue. Two flat sheet polymeric membranes with cut off 50 and 20 kDa were used to evaluate the effect of tangential velocity and transmembrane pressure. Three tangential velocities were tested, 0.4, 0.6 and 1.2 m/s, varying the transmembrane pressure from 100 kPa to 400 kPa. The positive effect of pressure on the permeate flux was observed for the three tangential velocities in both membranes studied. The limit flux was reached when tangential velocity was 0.4 m/s and 200 kPa, with the 50 kDa membrane. Finally, the UF retentate was used in extrudates formulation. Three moisture values were tested: 25, 30 and 35%. The extrudates obtained from the formulation with 35% of moisture were the ones that presented better Water Absorption Index (WAI), as well as the best appearance of the expanded final product. The extrusion was shown as a good alternative for the application of the proteins recovered by ultrafiltration.

Índice

Capítulo I - Introdução *1*

Capítulo II - Objetivo *6*

II.1 – Objetivos específicos **7**

Capítulo III - Lula *8*

III.1 – Características da Lula **9**

III.2 – Características das principais proteínas **10**

III.2.1 – Proteínas sarcoplasmáticas 10

III.2.2 – Proteínas miofibrilares 11

III.2.3 – Proteínas constituintes do colágeno 15

III.3 – Proteínas encontradas em lula **16**

III.4 – Aplicações das proteínas encontradas em lula **19**

Capítulo IV - Ultrafiltração *20*

IV.1 – Ultrafiltração **24**

IV.2 – Manutenção do fluxo de permeado **29**

IV.2.1 – Polarização de concentração 29

IV.2.2 – *Fouling* 29

IV.2.3 – Técnicas empregadas no controle dos fenômenos que causam a redução do fluxo permeado 33

IV.3 – Aplicações da tecnologia de membranas na separação de proteínas **38**

IV.4 – Recuperação de proteínas presentes em resíduos **41**

Capítulo V - Extrusão *43*

V.1 – Parâmetros importantes da extrusão termoplástica **46**

V.1.1 – Parâmetros estruturais: matéria-prima 46

V.1.1.1 – Classificação dos ingredientes de acordo com sua função *47*

V.1.1.2 – Características do arroz *48*

V.1.2 – Parâmetros de processo 50

V.2 – Parâmetros de qualidade do produto final **51**

V.2.1 – Expansão 51

V.2.2 – Grau de cozimento 51

V.2.3 – Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA) 52

V.3 – Mudanças químicas e nutricionais que as proteínas sofrem durante a extrusão 52

Capítulo VI - Material e Métodos 55

VI.1 – Material 56

VI.2 – Metodologia experimental 56

VI.2.1 – Obtenção da salmoura 58

VI.2.2 – Ultrafiltração da salmoura 60

VI.2.2.1. – Fluxo de permeado 62

VI.2.2.2 – Permeabilidade hidráulica 62

VI.2.2.3 – Limpeza da membrana 63

VI.2.2.4 – Avaliação do efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção de proteínas. 63

VI.2.2.5 – Avaliação do efeito do pH da salmoura sobre a retenção de proteínas 64

VI.2.2.6 – Avaliação do efeito da velocidade tangencial e da pressão transmembrana sobre a retenção de proteínas 65

VI.2.3 – Extrusão 66

VI.2.3.1 – Condicionamento da amostra 66

VI.2.3.2 – Processo de extrusão 67

VI.2.3.3 – Expansão dos produtos 67

VI.3 – Métodos analíticos 69

VI.3.1 – Proteína total 69

VI.3.2 – pH 69

VI.3.3 – Turbidez 69

VI.3.4 – Sólidos totais 70

VI.3.5 – Cloreto 70

VI.3.6 – Nitrogênio 70

VI.3.7 – Demanda Química de Oxigênio (DQO) 71

VI.3.8 – Perfil eletroforético de proteínas 71

VI.3.9 – Viscosidade 72

VI.3.10 – Densidade 73

VI.3.11 – Índice de Absorção de Água (IAA) e Índice de Solubilidade em Água (ISA) 73

Capítulo VII - Resultados e Discussão *74*

VII.1 – Avaliação do efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção de proteínas. 75

VII.1.1 – Desempenho do processo 75

VII.1.2 – Proteína total 79

VII.1.3 – Turbidez 80

VII.1.4 – Teor de sólidos totais e pH 81

VII.1.5 – Concentração de cloreto e de nitrogênio total 82

VII.1.6 – Demanda Química de Oxigênio (DQO) 83

VII.1.7 – Perfil eletroforético de proteínas 85

VII.2 – Avaliação do efeito do pH da salmoura sobre a retenção de proteínas 87

VII.2.1 – Desempenho do processo 87

VII.2.2 – Proteína total 89

VII.2.3 – Turbidez 90

VII.2.4 – Teor de sólidos totais, concentração de cloreto e nitrogênio total 91

VII.2.5 – Demanda Química de Oxigênio 92

VII.2.6 – Perfil eletroforético de proteínas 93

VII.3 – Avaliação do efeito da velocidade tangencial e da pressão transmembrana sobre o fluxo de permeado. 95

VII.3.1 – Caracterização da salmoura 95

VII.3.2 – Desempenho do processo 95

VII.4 – Avaliação de uma aplicação para as proteínas recuperadas por ultrafiltração. 99

VII.4.1 – Índice de Absorção de Água 99

VII.4.2 – Índice de Solubilidade em Água 100

VII.4.3 – Teor de nitrogênio total e proteína total 101

VII.4.4 – Imagens dos extrusados 102

Capítulo VIII - Conclusões *104*

Capítulo IX - Sugestões *107*

Capítulo X - Referências Bibliográficas *110*

Anexos *125*

Anexo 1 – Análises de Proteína 126

Anexo 2 – Análises de Turbidez **127**
Anexo 3 – Análises de Sólidos Totais **128**
Anexo 4 – Análises de pH **129**
Anexo 5 – Análises de Cloreto **130**
Anexo 6 – Análises de Nitrogênio **131**
Anexo 7 – Análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO) **132**
Anexo 8 – Produção Científica **133**
1.1 – Trabalhos apresentados e participações em congressos 133
1.2 – Trabalho aceito 134

Índice de Figuras

Figura III.1. Representação esquemática da lula 9

Figura III.2. Representação esquemática da estrutura da miosina (Fonte: NHLBI, 2005). 12

Figura III.3. Representação esquemática da estrutura da actina (Fonte: Altmann, 1998). 14

Figura III.4. Representação esquemática da formação da actomiosina (Fonte: MREROH, 2005) 15

Figura IV.1. Representação esquemática da morfologia de diferentes membranas sintéticas (Habert e colaboradores, 2003). 22

Figura IV.2. Esquema da ultrafiltração operando com alimentação tangencial 24

Figura IV.3. Representação esquemática da estrutura de uma membrana assimétrica (Cheryan, 1998) 26

Figura IV.4. Curvas de retenção nominal típicas das membranas de ultrafiltração (Habert e colaboradores, 2003). 27

Figura IV.5. Seção transversal de uma membrana de ultrafiltração assimétrica de polisulfona (Cheryan, 1998). 28

Figura IV.6. Representação da redução do fluxo permeado com o tempo de operação, causada pelos fenômenos de polarização de concentração e fouling (Habert e colaboradores, 2003). 30

Figura IV.7. Representação esquemática das resistências à transferência de massa nos processos de separação com membranas. Rm – resistência da membrana; resistências adicionais: Ra – adsorção, Rb – bloqueio de poros, Rg – camada gel, Rpc – polarização de concentração (Mulder, 1991). 32

Figura IV.8. Representação esquemática da técnica de retrolavagem (Brügger, 2000) 36

Figura V.1. Representação esquemática de um extrusor (Murray, 2000). 45

Figura V.2. Representação esquemática do grão de arroz com seus principais componentes (Guy, 2001) 49

Figura VI.1. Diagrama para obtenção da lula em conserva e subseqüente recuperação de proteínas da salmoura residual por ultrafiltração. 57

Figura VI.2. Corte do manto de lula em anéis 58

Figura VI.3. Acima, anéis do manto de lula. Abaixo, descarte de cabeça, vísceras e nadadeiras 59

Figura VI.4. Pré-cocção dos anéis do manto de lula em salmoura 59

Figura VI.5. Recolhimento da salmoura residual em bombonas para congelamento e posterior ultilização. 60

Figura VI.6. Sistema de ultrafiltração 61

Figura VI.7. Estrutura química da polisulfona (a) e da polietersulfona (b) 61

Figura VI.8. Diagrama para obtenção dos extrusados de arroz e retido de salmoura, contendo as proteínas recuperadas. 68

Figura VII.1. Perfil do fluxo permeado da salmoura em quatro diferentes membranas de ultrafiltração. 76

Figura VII.2. Teor de proteínas da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas. 79

Figura VII.3. Valores de turbidez da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas. 80

Figura VII.4. Demanda Química de Oxigênio da salmoura na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P), para as diferentes membranas testadas. 84

Figura VII.5. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) das três correntes de processo, alimentação (A), retido (R) e permeado (P) com as diferentes membranas testadas: 10 kDa (a), 20 kDa (b), 50 kDa (c) e 100 kDa (d). 86

Figura VII.6. Perfil do fluxo permeado da salmoura residual em seu pH original (aproximadamente 7,0) e com pH modificado (aproximadamente 5,0). 88

Figura VII.7. Teor de proteínas presentes na salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P). 90

Figura VII.8. Turbidez da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P). 91

Figura VII.9. Demanda Química de Oxigênio da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0) nas três correntes de processo: alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P). 93

Figura VII.10. Eletroforese em gel da salmoura em seu pH original (7,0) e com o pH modificado (5,0), nas três correntes de processo, alimentação (A), retido (R) e permeado (P), da ultrafiltração com a membrana de 100 kDa. 94

Figura VII.11. Perfil do fluxo de permeado da salmoura residual com a pressão transmembrana para a membrana de 50 kDa 96

Figura VII.12. Perfil do fluxo de permeado da salmoura residual com a pressão transmembrana para a membrana de 20 kDa 97

Figura VII.13. Imagens comparativas dos extrusados de arroz + retido de salmoura nas três formulações testadas: (a) 25%, (b) 30% e (c) 35% de umidade. 103

Índice de Tabelas

Tabela IV.1. Principais processos de separação com membranas 21

Tabela IV.2. Comparação das propriedades de membranas orgânicas, utilizadas em MF, UF, NF e OI e inorgânicas, utilizadas em MF e UF 23

Tabela IV.3. Componentes de soluções de limpeza química de membranas 37

Tabela V.1. Composição química do arroz 49

Tabela VI.1. Padrão protéico de alta massa molar utilizado nas análises de eletroforese em gel de polacrilamida. 72

Tabela VI.2. Padrão protéico de baixa massa molar utilizado nas análises de eletroforese em gel de polacrilamida. 72

Tabela VII.1. Fatores de concentração obtidos nos processos de ultrafiltração da salmoura residual. 77

Tabela VII.2. Teores de sólidos totais (ST) e valores de pH da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas. 82

Tabela VII.3. Concentração de cloreto e nitrogênio total da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas. 83

Tabela VII.4. Teor de sólidos totais, concentração de cloreto e nitrogênio total da salmoura antes e após a ultrafiltração 92

Tabela VII.5. Caracterização da salmoura residual 95

Tabela VII.6. Índice de Absorção de Água dos pellets de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm. 100

Tabela VII.7. . Índice de Solubilidade em Água dos pellets de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm. 101

Tabela VII.8. Teor de nitrogênio e proteína dos pellets de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm. 102

Capítulo I

Introdução

O mercado consumidor de alimentos, hoje, apresenta uma grande segmentação, bem como um maior acesso à informação, o que faz com que sejam estabelecidas demandas específicas, representadas por produtos semi-prontos ou prontos para o consumo, que sejam nutritivos e/ou funcionais e que atendam aos requisitos de segurança alimentar.

Os consumidores querem produtos práticos, saudáveis, enriquecidos com alguma(s) substância(s) ou isentos de outra(s) e que mantenham ao máximo as suas características originais de aroma e sabor. Estes fatores têm levado ao surgimento de novos alimentos processados nas prateleiras dos supermercados e das chamadas lojas de "conveniência", cujas principais características são a praticidade e a qualidade.

A lula em conserva é um produto novo, que atende a diferentes expectativas do mercado consumidor. Ainda não produzida industrialmente no Brasil, mas com tecnologia para sua conservação em salmoura já desenvolvida (Ferreira, 1999), apresenta uma boa qualidade sensorial, principalmente no que se refere à textura, que é um atributo muito importante para a sua aceitabilidade.

No Brasil, a média de captura de lula entre 1990 e 1994 foi de 1.300 toneladas ao ano (FAO,1994) e no Rio de Janeiro, entre 1994 e 1996, essa média foi de 360 toneladas ao ano (IBAMA, 1997). A principal espécie capturada no Brasil é a *Dorytheutis brasiliensis*, encontrada desde o Sudeste do Brasil até o Nordeste da Argentina (Ferreira, 1999).

Os valores estabelecidos por organismos internacionais ligados à ONU recomendam o uso diário de 30 g de proteína de origem animal. Os mesmos tipos de proteínas estão presentes em peixes, aves e mamíferos, sendo que os teores respectivos de cada uma são diferentes e há diferença nas quantidades de certos aminoácidos em cada proteína. Entretanto, as proteínas miofibrilares

constituem a fonte quantitativa mais importante das proteínas animais (Bobbio e Bobbio, 1992).

A carne de lula apresenta um teor de proteína similar à da carne de peixe, numa faixa que varia de 13% a 22% (El-Dashlouty e colaboradores, 1984). Ferreira (1999), ao determinar o teor de proteína de lula em conserva de salmoura, obteve valores na faixa de 11% de proteína total. Um dos fatores que explica os menores teores de proteína obtidos por este autor é o fato da sua análise ter sido realizada apenas no manto. Outro fator é que enquanto El-Dashlouty e colaboradores (1984) avaliaram a lula *in natura*, Ferreira (1999) avaliou a lula processada, submetida a temperaturas elevadas tanto na pré-cocção quanto na esterilização. Isto sugere que há uma perda de proteínas da carne de lula para a salmoura, durante o tratamento térmico. Otwell e Hamann (1979) reportam que essa perda é da ordem de 4% a 6%.

As enzimas digestivas dos peixes e moluscos apresentam atividade proteolítica, a baixas temperaturas, mais alta do que as provenientes de mamíferos. Esta característica as tornam adequadas a aplicações específicas na indústria de alimentos. Uma grande parte dessas enzimas, contudo, é perdida durante o processamento. A extração das proteases do material que é descartado é uma alternativa viável para a obtenção de produtos de valor agregado a partir de resíduos de frutos do mar (Sikorski e Kolodziejska, 1996). Por outro lado, as proteínas da lula, perdidas durante o aquecimento, podem ser utilizadas como fonte de aminoácidos essenciais, no enriquecimento de alimentos, contribuindo para aumentar a disponibilidade de proteínas de origem animal, de alto valor nutricional, a custos reduzidos.

A concentração das proteínas presentes na água de salmoura minimizará a perda de um produto de alto valor agregado e permitirá a obtenção de um concentrado protéico, que pode ter diferentes aplicações. Além disso, possibilitará o descarte de um efluente com uma carga poluidora reduzida, o que facilitará seu tratamento.

A preocupação com a questão ambiental atualmente é fundamental para a sobrevivência de uma indústria. A legislação está cada vez mais rigorosa quanto aos padrões permitidos para os despejos industriais, e, além disso, a fiscalização tem sido mais efetiva, levando à punição as indústrias infratoras. Hoje, já existe a consciência da escassez dos recursos naturais. Assim, a questão extrapola o seu caráter ecológico, de desenvolvimento sustentável e preservação da vida para as gerações futuras, e torna-se uma questão econômica. O aproveitamento e/ou tratamento de resíduos gerados, ainda que, inicialmente, acarrete um aumento dos custos, em médio prazo, contribuirá para a redução dos mesmos.

Desta forma, os processos de separação com membranas representam uma alternativa para o tratamento do resíduo do processamento de lula, com conseqüente recuperação das proteínas presentes na salmoura.

A tecnologia de separação por membranas baseia-se no princípio de que componentes de misturas líquidas ou gasosas, de acordo com suas características moleculares, podem permear seletivamente através de uma determinada membrana, movidos por uma força motriz que varia segundo os diferentes processos (Mulder, 1991).

Dependendo do tipo de membrana utilizada, é possível reter desde microrganismos até pequenas moléculas, como açúcares e ácidos. Em geral, são processos que ocorrem à temperatura ambiente sem que haja mudança de fase ou utilização de calor, desta forma, permitem a manutenção das propriedades sensoriais e nutricionais dos produtos.

A tecnologia de membranas oferece uma série de vantagens tais como baixo consumo de energia, propriedades únicas de separação, fracionamento e concentração concorrentes, desmineralização e purificação de soluções, aumento da eficiência de processo e um desenho de planta simples (Tragärdh, 1996; Zhou e colaboradores, 2000).

A separação (concentração, purificação) de proteínas por processos com membranas é uma das aplicações dessa tecnologia que se encontra mais estabelecida comercialmente na indústria de alimentos, principalmente nos segmentos de laticínios e de gelatinas.

Estas proteínas, recuperadas por ultrafiltração, podem enriquecer determinados alimentos, como massas ou *snacks*, durante o processo de extrusão.

A extrusão é um processo onde as matérias-primas, sob diversas condições de mistura, aquecimento e cisalhamento, são transformadas em novos produtos, com diferentes formas e propriedades funcionais. As variáveis de processo, internas ou externas, podem ser balanceadas a fim de se obter as características desejadas no produto final.

Dentre as aplicações da tecnologia de extrusão tem-se a elaboração de produtos expandidos (*snacks*) ou não (*pellets*), a preparação de proteínas texturizadas, a produção de cereais matinais, o preparo de alimentos infantis e a produção de ração animal.

A extrusão, usando extrusor de duplo parafuso, tem a capacidade de misturar duas fontes de proteínas fisicamente diferentes em um novo material com qualidade protéica superior. A mistura de proteína animal com alguma fonte mais barata de proteína, como a vegetal, tem sido estudada por alguns pesquisadores (Camire e colaboradores, 1990).

Capítulo II

Objetivo

Este trabalho de pesquisa teve por objetivo o estudo da utilização de membranas de ultrafiltração na recuperação de proteínas presentes nas águas residuais do processamento de lula em conserva.

II.1 – Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção de proteínas presentes na salmoura residual.

- Avaliar o efeito do pH da salmoura sobre a retenção de proteínas por ultrafiltração.

- Avaliar o efeito da velocidade tangencial e da pressão aplicada a membrana sobre a retenção de proteínas presentes na salmoura residual.

- Avaliar o perfil protéico da salmoura residual do processamento de lula em conserva.

- Avaliar alternativas de aplicação do concentrado protéico obtido.

Capítulo III

Lula

III.1 – Características da Lula

A lula (Figura III.1) é um representante da classe Cephalopoda, pertencente ao filo Mollusca, que possui o corpo dividido em cabeça, tentáculos e massa visceral (Boyle, 2000). Seu manto, principal parte comestível, é formado por tecido muscular estriado, apresentando proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas e colagênicas.

A abundância de lula é fortemente influenciada pelas condições ambientais, como temperatura e salinidade da água. Segundo Bellido e colaboradores (2001), a abundância e distribuição de cefalópodes podem flutuar de ano a ano, limitando sua exploração.

A lula apresenta um sistema locomotor bastante evoluído, podendo rastejar, utilizando os tentáculos com suas ventosas, ou nadar, utilizando as nadadeiras, que também funcionam como leme. O sifão serve para controlar a direção do movimento.

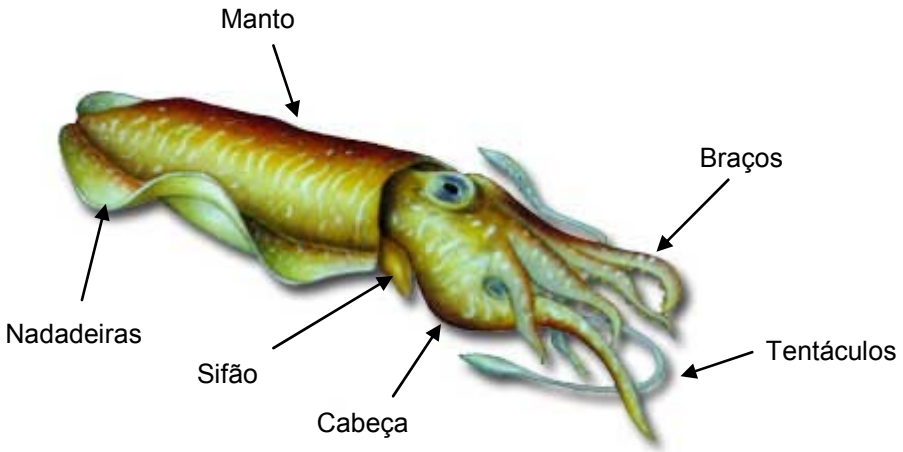


Figura III.1. Representação esquemática da lula

A porção comestível de um pescado está na faixa de 30% a 65% enquanto a quantidade de proteína varia entre 15,9% e 21,2%, dependendo da espécie. O manto de lula, que corresponde a 50%, apresenta teor de proteína que varia de 13% a 22% (El-Dashlouty e colaboradores, 1984; Suzuki, 1987).

Segundo Sikorski e Kolodzieljka (1986), no manto da lula a porcentagem de proteínas miofibrilares varia entre 65% e 80%, enquanto 11% a 15% são sarcoplasmáticas e de 3% a 16% são colagênicas. Essa grande variação ocorre não apenas entre diferentes espécies, mas também para uma mesma espécie, em função de fatores biológicos, sazonais e da própria técnica de manipulação.

III.2 – Características das principais proteínas

III.2.1 – Proteínas sarcoplasmáticas

As proteínas sarcoplasmáticas são formadas por muitos tipos de proteínas solúveis em água ou em soluções salinas diluídas, com força iônica menor que 0,14 M (Ogawa e Maia, 1999). Estas proteínas coagulam pela ação do calor e se aderem as miofibrilares. Este fenômeno impede a formação de gel. Em vista disto, os pescados são lavados para eliminar as proteínas sarcoplasmáticas.

Entretanto, do ponto de vista nutritivo, as proteínas sarcoplasmáticas não são inferiores as miofibrilares. Desta forma, estudos têm sido realizados a fim de aproveitar as proteínas que são eliminadas nas águas de lavagem dos pescados, como por exemplo, no processo de fabricação de surimi (massa de actomiosina preparada a partir de espécie de pescado pouco valorizado e de difícil comercialização).

III.2.2 – Proteínas miofibrilares

As proteínas miofibrilares incluem miosina, actina e proteínas reguladoras da função muscular tais como tropomiosina, troponina e actinina. Elas representam de 66% a 77% das proteínas totais no músculo de pescado e têm papel importante na coagulação e formação de géis, quando se processa o músculo de pescado (Suzuki, 1987). Estas proteínas são solúveis em soluções salinas mais concentradas, com força iônica maior que 0,5 M (Ogawa e Maia, 1999).

As miosinas são uma grande superfamília de proteínas com um domínio comum, que interage com actina, hidroliza ATP e produz movimento. De acordo com as características do domínio motor, os grupos de miosinas estão divididos em 15 classes distintas.

A classe II é uma grande família de miosinas, encontradas nos músculos e no citoplasma de células animais. Esta classe foi descoberta há mais de 60 anos e as proteínas são chamadas de miosinas convencionais, pois foi a única classe conhecida durante décadas. A classe I foi a segunda a ser descoberta e as classes subseqüentes foram numeradas em ordem de descoberta dos membros da classe (Sellers, 2000).

As miosinas constituem de 50 a 55% das proteínas miofibrilares, apresentam uma grande quantidade de aminoácidos carregados positiva ou negativamente e seu ponto isoelétrico é de 5,4 (Guimarães e colaboradores, 2005).

As moléculas de miosina são formadas por duas cadeias pesadas, com massa molar de aproximadamente 200 kDa e várias cadeias leves, com massas molares em torno de 20 kDa. As cadeias leves apresentam diferentes perfis eletroforéticos, quando as subunidades de miosina são dissociadas por

dodecil sulfato de sódio (SDS). Por isso, são utilizadas para diferenciar as diversas espécies de pescado (Suzuki, 1987).

As miosinas são constituídas de três domínios funcionais: o domínio motor, que interage com a actina e liga ATP; o pescoço, que liga cadeias leves ou calmodulina; e a cauda, que serve para ancorar e posicionar o domínio motor, de forma que ele possa interagir com a actina (Sellers, 2000). Sua representação esquemática está apresentada na Figura III.2.

A atividade ATPásica da miosina é muito influenciada pela presença de K^+, Mg^{2+} e Ca^{2+}. Em soluções de cloreto de potássio a miosina se inativa na presença de Mg^{2+} e se ativa com Ca^{2+}.

A miosina do músculo de pescado é mais instável que a miosina de coelho, boi ou galinha. Ela se agrega mais rapidamente, entretanto, a velocidade de agregação depende da espécie de pescado (Suzuki, 1987).

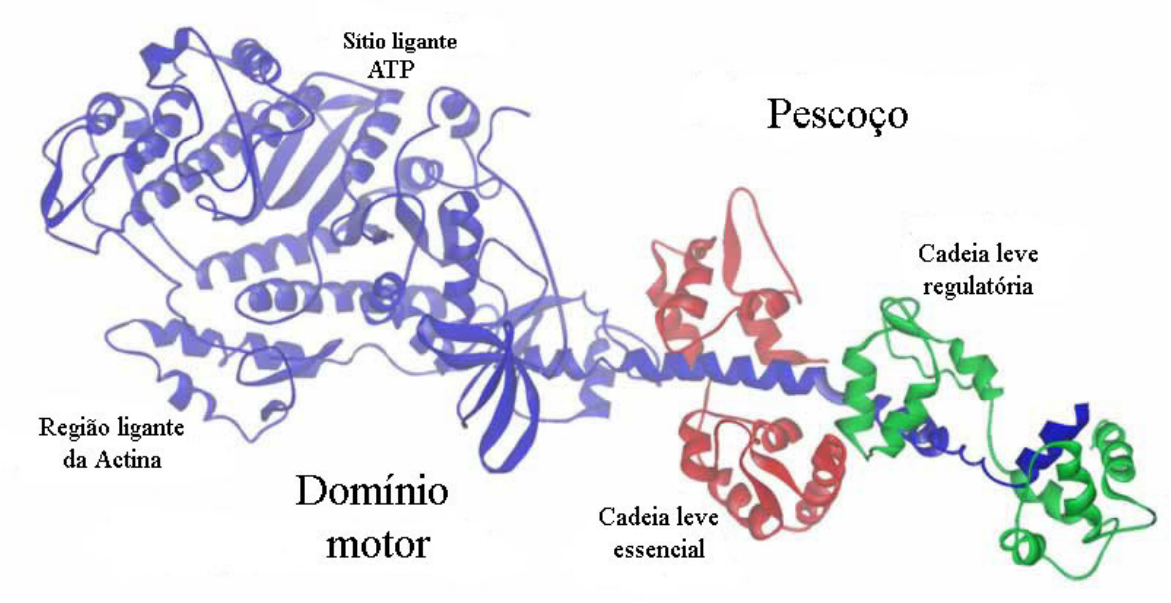


Figura III.2. Representação esquemática da estrutura da miosina (Fonte: NHLBI, 2005).

A actina constitui de 20% a 25% das proteínas miofibrilares e é composta por subunidades globulares (actina G) que se polimerizam formando unidades de uma proteína fibrilar (actina F), que se entrelaçam duas a duas em hélice, forma característica do filamento de actina (Figura III.3).

A actina é rica em prolina e seu ponto isoelétrico é de aproximadamente 4,7 (Guimarães e colaboradores, 2005). Suas moléculas apresentam massa molar em torno de 43 kDa, não apresentando grandes diferenças em função da espécie de pescado estudada. Quando extraída do músculo, junto com a miosina, forma a actomiosina (Suzuki, 1987).

A actomiosina é o complexo originado durante a contração muscular; as cabeças de miosina formam pontes com os filamentos de actina (Figura III.4). A actomiosina constitui a maior parte das proteínas miofibrilares presentes no músculo em *rigor mortis*; contudo, nos animais vivos ela é um composto transitório, uma vez que as pontes formadas se rompem durante a fase de relaxamento muscular (Guimarães e colaboradores, 2005). As características da actomiosina são semelhantes às da miosina, com ação enzimática que degrada o ATP em ADP e fósforo inorgânico (Suzuki, 1987).

A tropomiosina e a troponina são proteínas responsáveis pela contração muscular. A massa molar da tropomiosina é de 68 kDa, sendo formada por duas cadeias polipeptídicas enroladas. É uma proteína termoestável que pode ser facilmente extraída pela ação do calor.

A troponina é necessária para que a tropomiosina atue como fator relaxante do músculo e apresenta três subunidades, com funções biológicas distintas: a troponina T (TnT), subunidade ligante de tropomiosina com massa molar de 45 kDa, a troponina I (TnI), subunidade inibidora da interação actina-miosina com massa molar de 25 kDa e a troponina C (TnC), subunidade ligante de cálcio com massa molar de 18 kDa (Ojima e colaboradores, 2001).

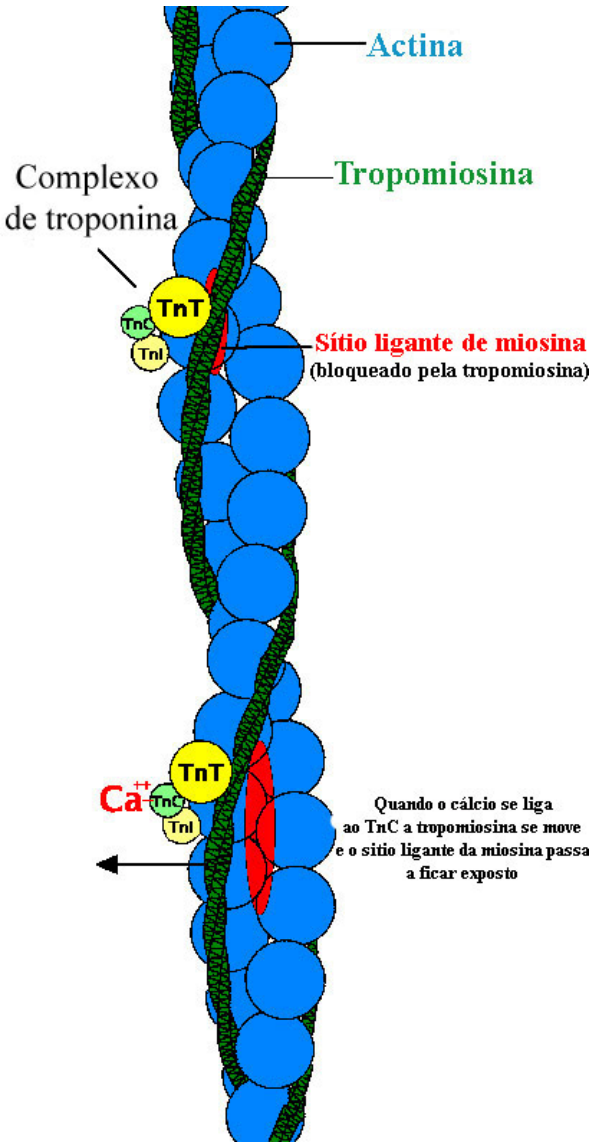


Figura III.3. Representação esquemática da estrutura da actina (Fonte: Altmann, 1998).

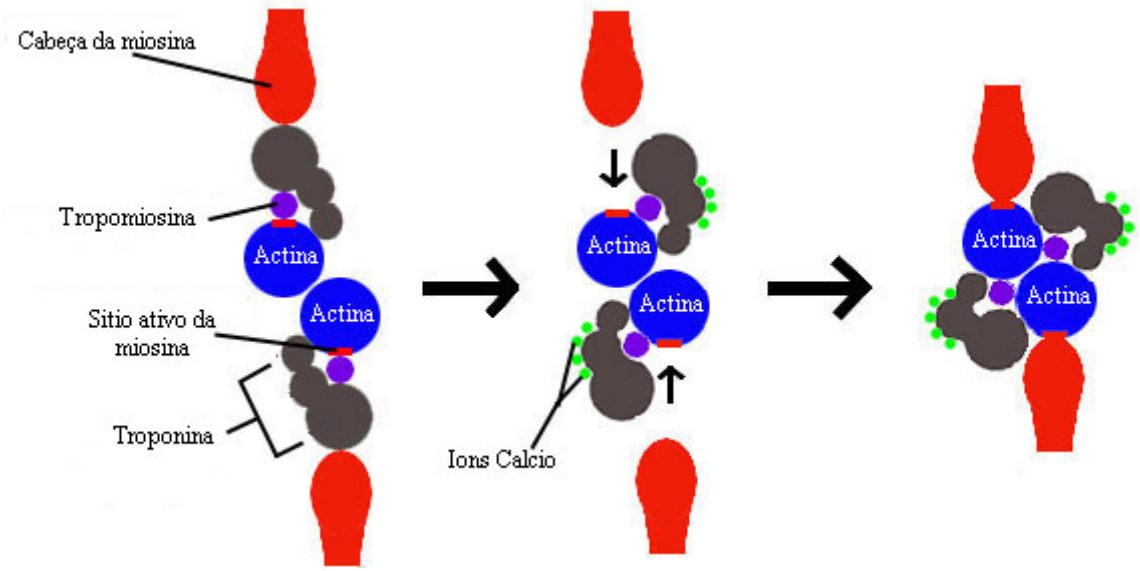


Figura III.4. Representação esquemática da formação da actomiosina (Fonte: MREROH, 2005)

III.2.3 – Proteínas Estromáticas

Os principais componentes das proteínas estromáticas são o colágeno e uma pequena fração de elastina. Estas proteínas são insolúveis em água e soluções salinas (Ogawa e Maia, 1999).

O colágeno forma o principal tipo de fibra extracelular, influenciando muito na maciez da carne. Existem fibras de colágeno em todos os tecidos e órgãos, incluindo os músculos, onde a distribuição das mesmas não é uniforme, apresentando alguma relação com a atividade física. A glicina representa cerca de um terço do conteúdo total de aminoácidos do colágeno e a prolina e hidroxiprolina as outras terças partes (Guimarães e colaboradores, 2005).

III.3 – Proteínas encontradas em lula

As principais estruturas do manto da lula são miosina e actina (Konno e colaboradores, 1979). Contudo, existem outras proteínas que podem ser encontradas no manto, ou em outras partes da lula.

O músculo dos animais invertebrados contém uma proteína característica, a paramiosina, que não está presente no músculo dos vertebrados. A quantidade de paramiosina dentre as proteínas miofibrilares varia de acordo com a espécie e o tipo de músculo. O músculo estriado de lula apresenta paramiosina, em torno de 14% (Sano e colaboradores, 1986).

Stanley e Hultin (1987) reportaram que o perfil eletroforético do manto de lula, mesmo sob congelamento, apresenta cadeia pesada de miosina (200 kDa), cadeia leve de miosina (20 a 30 kDa), paramiosina (110 kDa) e actina (40 a 45 kDa). Watanabe e colaboradores (1986) sequenciaram uma cadeia leve de miosina do manto de lula e observaram 159 resíduos de aminoácidos.

Vários tipos de proteinases são encontrados no manto de lula, como por exemplo, miosinases. A destruição textural da carne de lula, durante a estocagem, o cozimento e o processamento, ocorre, possivelmente, devido a essas proteinases (Ebina e colaboradores, 1995).

Sukarno e colaboradores (1996) purificaram lipase do hepatopâncreas de lula, *Ommastrephes bartramii*. A massa molar média da enzima foi 33 kDa e os valores ótimos de pH e temperatura foram em torno de 7,0 e 25^0C, respectivamente. A enzima apresentou atividade específica sobre cadeias saturadas e monoinsaturadas de triglicerídeos.

Duas miosinases encontradas no manto de lula, miosinases I e II, apresentam seu ótimo de atividade em pH 7,0 e temperatura de 40^0C. A primeira, com massa molar de 16 kDa, hidrolisa a cadeia pesada de miosina

em fragmentos de 90 kDa e 130 kDa, enquanto a segunda, com massa molar de 20 kDa, produz fragmentos de 65 kDa e 158 kDa (Okamoto e colaboradores, 1993).

Entretanto, a miosinase encontrada no fígado de lula, miosinase III, apresenta massa molar de 45 kDa e é capaz de hidrolisar a cadeia pesada de miosina em fragmentos de 100 kDa e 120 kDa (Tamori e colaboradores, 1999).

Nozawa e colaboradores (1997) purificaram e caracterizaram uma transglutaminase do músculo de lula (*Todarodes pacificus*). Segundo os autores, a atividade da transglutaminase aumenta com a concentração de cloreto de sódio e de cloreto de potássio.

Durholtz e colaboradores (1999) investigaram as proteínas presentes nos *statoliths* lula, pequenas estruturas calcificadas que servem para estimar a idade da lula. Os autores extraíram e separaram as proteínas em duas frações, uma solúvel e outra insolúvel em água. O perfil eletroforético da fração insolúvel mostrou oito bandas de proteínas, com massas molares na faixa de 25 a 200 kDa, enquanto no da fração solúvel apenas uma banda de proteína foi observada, com massa molar em torno de 100 kDa.

A lula apresenta proteoglicanas na sua cartilagem cranial. O tecido contém três populações, D1D1A, D1D1B e D1D2, que diferem no tamanho de suas proteínas deglicosiladas, 350, 290 e 300 kDa, respectivamente. Vynios e colaboradores (2000) reportaram que estas proteínas são responsáveis pela heterogeneidade das proteoglicanas, visto que o tratamento enzimático do núcleo protéico gerou diferentes peptídeos de cada população e que estas proteínas nucleares possuem estruturas primárias diferentes. Os autores também observaram que apenas as populações de alta massa molar, D1D1A e D1D2, foram capazes de interagir com o colágeno.

Ito e Habuchi (2000) purificaram e caracterizaram uma enzima presente na cartilagem de lula, a N-acetilgalactosamina 4-sulfato 6-O-sulfotransferase, capaz de transferir sulfato de 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato para a posição 6 do resíduo N-acetilglicosamina 4-sulfato.

Um novo membro da classe de proteínas motoras miosina-V, squid p196, encontrada no axoplasma e nos lóbulos ópticos de lula, foi identificado. A faixa de massa molar das proteínas desta classe ainda é desconhecida e esta proteína é o segundo membro da classe miosina-V a ser purificado. Contudo, sua seqüência de aminoácidos mostrou que esta proteína é mais parecida com as da classe miosina-V de vertebrados do que de *Droshoiphila* e levedura (Cohen, 2001).

Fujii e colaboradores (2002) extraíram uma proteína do órgão fotogênico de lulas oceânicas. A proteína apresentou massa molar de 60 kDa e sob luz UV emitiu fluorescência, sendo caracterizada como uma fotoproteína.

Crookes e colaboradores (2004) relataram a presença de proteínas incomuns nos tecidos reflexivos de lula (*Euprymma scalopes*). As proteínas têm uma composição incomum, com quatro resíduos relativamente raros, tirosina, metionina, arginina e triptofano, e diversos resíduos comuns, como alanina, isoleucina, leucina e lisina.

Miura-Yokota e colaboradores (2005) estudaram uma proteína da lula *Todarodes pacificus*. Os autores observaram que a proteína, que possui massa molar de 28 kDa, está presente no músculo do manto, nas barbatanas e nos tentáculos, mas não no fígado da lula, e possui significante grau de homologia a tropomiosina.

III.4 – Aplicações das proteínas encontradas em lula

O comportamento das proteínas miofibrilares é de interesse tecnológico para determinar a qualidade final de produtos cárneos, pois as características funcionais e texturais da carne dependem, principalmente, das suas proteínas miofibrilares (Paredi e colaboradores, 1996).

Sukarno e colaboradores (1996) investigaram o uso do hepatopâncreas de lula como fonte de lipase. O uso deste órgão, normalmente descartado durante o processamento de lula, pode diminuir a poluição ambiental e aumentar o valor econômico do resíduo.

A transglutaminase, encontrada no músculo de lula, é uma enzima que melhora as propriedades funcionais e reológicas das proteínas dos alimentos (Nozawa e colaboradores, 1997).

A preparação de produtos à base de gel significa um potencial aumento para o consumo de lula, porém, os géis feitos do músculo de lula tendem a ser de baixa força e capacidade de adsorção de água (Perez-Mateos e colaboradores, 2002). Entretanto, a paramiosina, proteína presente no músculo estriado de lula, altera consideravelmente a textura característica dos produtos à base de gel, feitos a partir da carne de invertebrados. Os géis cozidos ficam mais elásticos e têm maior aderência devido a adição de uma pequena quantidade de paramiosina (Sano e colaboradores, 1989).

A lula também pode ser utilizada como fonte suplementar de proteínas na alimentação de camarões. Segundo Córdova-Murueta e Garcia-Correño (2002), pequenas quantidades de proteína seca de lula no alimento, em torno de 3%, são suficientes para aumentar o desempenho do cultivo de camarões *P. vannamei*.

Capítulo IV

Ultrafiltração

Nos processos de separação com membranas a corrente de alimentação é fracionada em duas correntes: o retido ou concentrado, material que não atravessa a membrana; e o permeado, fração que foi capaz de atravessar a membrana. O transporte de matéria através da membrana ocorre em função da força motriz aplicada e da morfologia da membrana.

Os processos comerciais de separação com membranas utilizam como força motriz o gradiente de potencial químico ($\Delta\mu$) ou o gradiente de potencial elétrico (ΔE). Para sistemas isotérmicos, o gradiente de potencial químico pode ser expresso em termos do gradiente de pressão (ΔP) e de concentração (ΔC). Na Tabela IV.1 estão apresentados os principais processos de separação com membranas em função da força motriz aplicada à membrana.

Tabela IV.1. Principais processos de separação com membranas

Processo	***Força Motriz***	***Retido***	***Permeado***
Microfiltração (MF)	ΔP (1 – 5 atm)	partículas suspensas, bactérias, água	sólidos dissolvidos, água
Ultrafiltração (UF)	ΔP (1 – 7 atm)	macromoléculas, proteínas, água	pequenas moléculas, sais, ácidos, água
Nanofiltração (NF)	ΔP (5 – 25 atm)	pequenas moléculas, ácidos, água	íons monovalentes, sais, água
Osmose Inversa (OI)	ΔP (7 – 60 atm)	todos os sólidos, água	água
Pervaporação (PV)	Pressão de Vapor	moléculas não voláteis, água	pequenas moléculas voláteis, água
Diálise (D)	ΔC	macromoléculas, água	pequenas moléculas, água
Eletrodiálise (ED)	ΔE	solutos não iônicos, água	íons, água

Fonte: Cheryan (1998)

As membranas podem ser classificadas quanto à sua estrutura morfológica em densas ou porosas e, dependendo da disposição do material ao longo de sua seção transversal, podem ser classificadas como isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas). A representação esquemática da morfologia de membranas sintéticas está apresentada na Figura IV.1.

A maior parte das membranas sintéticas é preparada a partir de materiais poliméricos ou materiais inorgânicos, como metais e cerâmicas. As membranas inorgânicas apresentam maior resistência térmica e química, porém são bem mais caras do que as poliméricas. A Tabela IV.2 apresenta uma comparação das propriedades de membranas orgânicas e inorgânicas.

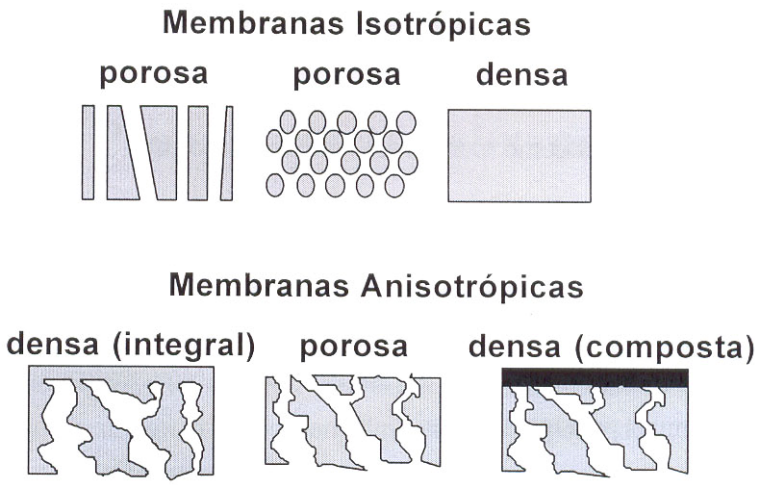


Figura IV.1. Representação esquemática da morfologia de diferentes membranas sintéticas (Habert e colaboradores, 2003).

As membranas são acondicionadas em unidades básicas, chamadas módulos, e sua configuração pode ser plana ou tubular. Os principais módulos disponíveis no mercado são: módulo quadro e placas e módulo espiral, que utilizam membranas planas; e tubular e fibras ocas, que utilizam membranas tubulares (Neves, 1999).

O módulo congrega todas as estruturas necessárias para viabilizar a operação da unidade de separação e, além das membranas, contém as estruturas de suporte da pressão, do vácuo ou da corrente elétrica aplicada ao sistema e os canais de alimentação e remoção do permeado e do concentrado.

O projeto dos módulos deve ser feito objetivando limitar o acúmulo de material retido pela membrana, maximizar a superfície da membrana por volume de módulo e evitar a contaminação do permeado com o material concentrado, além de oferecer simplicidade no manuseio, baixo volume morto e permitir a limpeza eficiente da membrana.

Tabela IV.2. Comparação das propriedades de membranas orgânicas, utilizadas em MF, UF, NF e OI e inorgânicas, utilizadas em MF e UF

Propriedades	***Membrana Orgânica***	***Membrana Inorgânica***
Resistência térmica	Acetato de celulose < 40^0C Polisulfona < 90^0C Aramida < 45^0C Poliacrilonitrila < 60^0C Polipropileno < 70^0C	Cerâmicas < 250^0C Carvão/grafite < 180^0C Aço < 400^0C
Faixa de pH	Maioria dos polímeros: 2-14 Acetato de celulose: 4,5-6,5	0-14
Resistência mecânica	Média a ruim, necessitam de suporte	Boa
Tolerância a materiais oxidantes	Depende do tempo de contato e da concentração do oxidante, a maioria dos polímeros não resiste a oxidantes	Boa
Compactação	Sim	Não
Vida útil	5 anos	10 anos

Fonte: Cardot (Citado por Schneider e Tsutiya, 2001).

IV.1 – Ultrafiltração

A Ultrafiltração (UF) é um dos processos de separação com membranas que utiliza o gradiente de pressão como força motriz. O transporte de matéria entre os dois lados da membrana ocorre pelos poros, através de um mecanismo convectivo e a seletividade é função da diferença entre o tamanho dos poros da membrana e dos componentes da mistura a ser fracionada (Figura IV.2).

A massa molar média dos solutos retidos pelas membranas de ultrafiltração está na faixa de 1 a 500 kDa, sendo possível reter proteínas e macromoléculas, enquanto sais, açucares e ácidos passam pela membrana. A pressão aplicada pode variar de 1 até 10 bar, dependendo do tipo de material da membrana, da configuração do sistema e das características do soluto que se deseja separar.

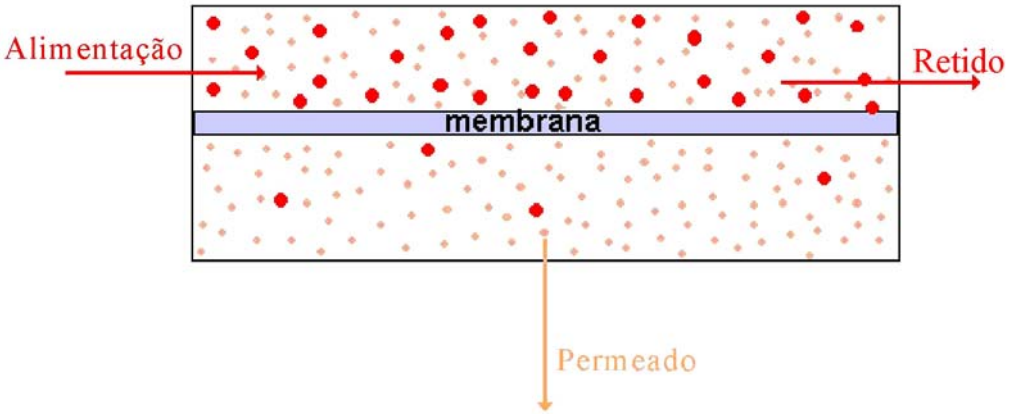


Figura IV.2. Esquema da ultrafiltração operando com alimentação tangencial

O fluxo volumétrico (J_V) através da membrana é diretamente proporcional à diferença de pressão aplicada (ΔP) e pode ser descrito pela Lei de Darcy (Equação IV.1):

$$J_V = k \times \Delta P \qquad \textit{Eq. IV.1}$$

onde *k* é o coeficiente de transferência de massa, que engloba os parâmetros estruturais e as propriedades do fluido. (Mulder, 1991).

Em se tratando de membranas porosas, o fluxo pode ser expresso em função da permeabilidade (L_P) da membrana (Equação IV.2). A permeabilidade da membrana pode ser entendida como a maior ou menor facilidade que a membrana oferece à passagem de solvente.

$$J_V = L_P \times \Delta P \qquad \textit{Eq. IV.2}$$

Inversamente, o meio oferece uma resistência (R) ao transporte de matéria, que pode ser expressa pela Equação IV.3.

$$J_V = \frac{1}{\eta R} \times \Delta P \qquad \textit{Eq. IV.3}$$

onde η = viscosidade da solução que permeia a membrana

A maioria das membranas de ultrafiltração é assimétrica. O desenvolvimento destas membranas representou um grande avanço para a utilização industrial dos processos com membranas, porque elas combinam alta seletividade com alta permeabilidade (Cheryan, 1998).

As membranas assimétricas apresentam uma distribuição no tamanho na sua superfície, podendo reter de maneira diferente solutos de massas

molares distintas. A Figura IV.3 apresenta uma representação esquemática de uma membrana assimétrica. A seletividade da membrana para um dado soluto é dada pelo Coeficiente de Rejeição (Equação IV.4):

$$R = 1 - \frac{C_P}{C_O} \qquad \textit{Eq. IV.4}$$

onde C_P = concentração do soluto no permeado

C_0 = concentração do soluto na alimentação.

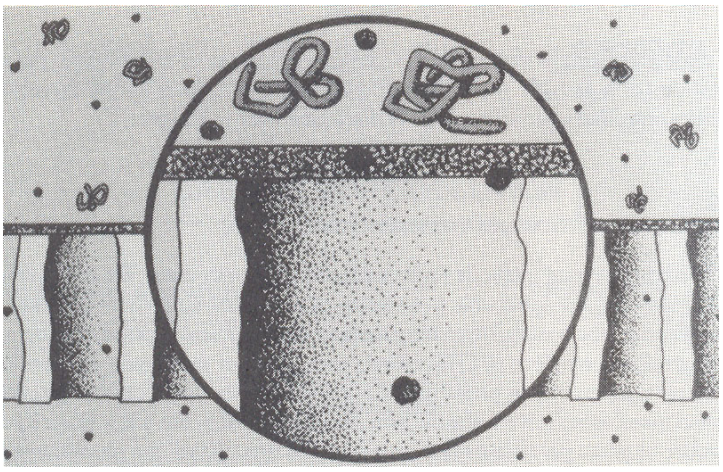


Figura IV.3. Representação esquemática da estrutura de uma membrana assimétrica (Cheryan, 1998)

Desta forma, as membranas de ultrafiltração são geralmente especificadas pela sua retenção nominal (*cut off*), que é definida como sendo o valor da massa molar do soluto para o qual a membrana apresenta rejeição de 95%. As curvas de retenção, típicas das membranas de ultrafiltração, estão representadas na Figura IV.4.

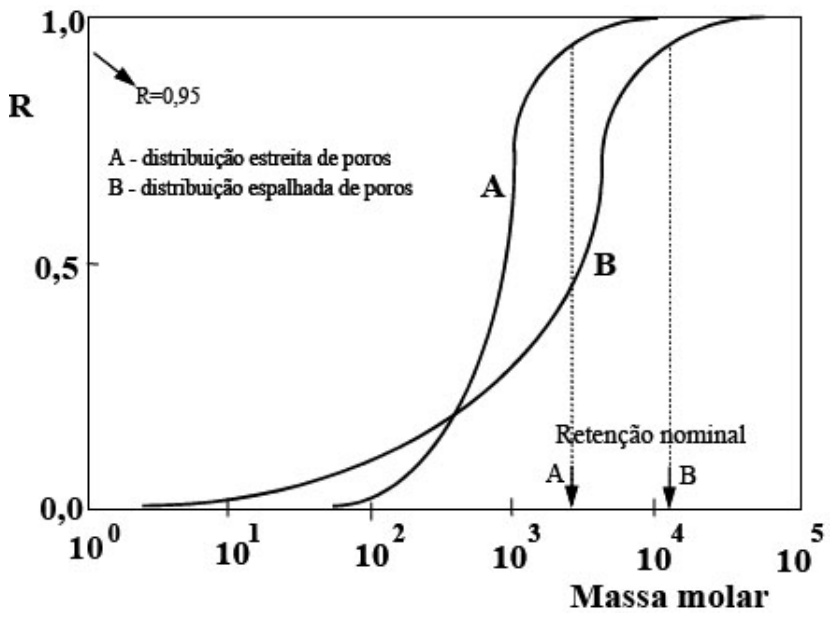


Figura IV.4. Curvas de retenção nominal típicas das membranas de ultrafiltração (Habert e colaboradores, 2003).

As membranas de ultrafiltração são geralmente preparadas pelo processo de inversão de fase, a partir de materiais poliméricos, tais como:

- ✓ poli(sulfona) (PS);
- ✓ poli(etersulfona) (PES);
- ✓ fluoreto de poli(vinilideno) (PVDF);
- ✓ poli(acrilonitrila) (PAN);
- ✓ acetato de celulose (AC);
- ✓ poli(imida (PI);
- ✓ poli(eter imida) (PEI)
- ✓ poli(amida).

ou por materiais inorgânicos, como alumina, através da técnica sol-gel (Mulder, 1991). A Figura IV.5 mostra um corte da seção transversal de uma membrana de ultrafiltração assimétrica de polisulfona.

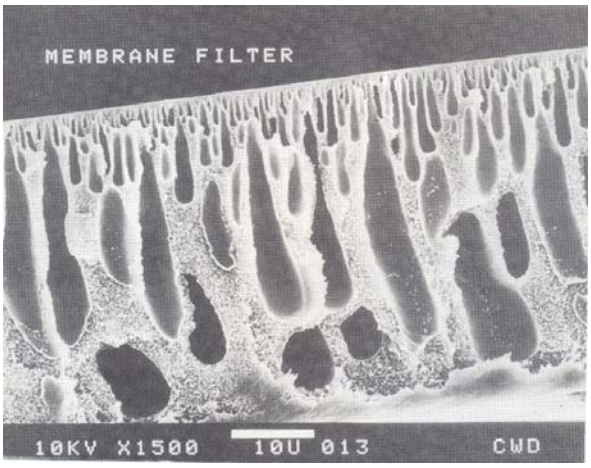


Figura IV.5. Seção transversal de uma membrana de ultrafiltração assimétrica de polisulfona (Cheryan, 1998).

Segundo Cheryan (1998), polisulfona e polietersulfona são materiais muito utilizados para aplicações em UF e MF devido às suas características:

- resistência térmica: geralmente suportam temperaturas de até 75^0C, sendo que alguns fabricantes reportam que suas membranas resistem a temperaturas de até 125^0C;
- podem ser continuamente expostas a valores de pH entre 1 e 13;
- apresentam boa resistência ao cloro, suportando soluções de limpeza com até 200 ppm em cloro;
- permitem grande variedade de configurações e módulos na fabricação de membranas;
- apresentam boa resistência química a hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos halogenados, álcoois e ácidos;
- permitem a obtenção de uma ampla faixa de tamanhos de poro (1000 Da a 0,2 μm).

Os fluxos permeados em ultrafiltração estão, em geral, na faixa de 150 a 250 L/h.m^2. Porém, em função dos problemas de polarização de concentração e *fouling*, fluxos bem menores podem ser obtidos durante a ultrafiltração.

IV.2 – Manutenção do fluxo de permeado

Um dos maiores problemas enfrentados nos processamentos com membranas é a queda do fluxo de permeado, ocasionada pela polarização de concentração e/ou pelo fenômeno de *fouling*, que se agrava quando a solução a ser tratada contém proteínas. Em vista disto, vários estudos têm sido realizados no sentido de minimizar este problema e permitir a manutenção do fluxo.

IV.2.1 – Polarização de concentração

A polarização de concentração é o fenômeno causado pelo aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana. Nas operações em fluxo cruzado (*cross flow*) a polarização de concentração se estabelece rapidamente e provoca uma resistência adicional à transferência de massa através da membrana, acarretando uma acentuada redução do fluxo de permeado.

Este fenômeno é fortemente influenciado pelas condições de escoamento da corrente de alimentação. À medida que a velocidade tangencial da alimentação aumenta, o nível de polarização diminui e o fluxo permeado aumenta. Além disto, a polarização de concentração é reversível; quando se termina o processamento e efetua-se a limpeza da membrana, a permeabilidade é restaurada (Habert e colaboradores, 2003).

IV.2.2 – *Fouling*

É um conjunto de fenômenos que ocorrem durante os processos com membranas, mesmo com operação em fluxo cruzado, acarretando uma redução do fluxo permeado continuamente com o tempo, sendo considerado

de natureza total ou parcialmente irreversível. Entre estes fenômenos estão: a adsorção de moléculas do soluto na superfície ou nas paredes dos poros da membrana; o entupimento de poros por espécies em suspensão; o depósito de material sobre a superfície da membrana com a formação de uma torta de filtração, ou geleificação da solução.

A Figura IV.6 mostra uma representação esquemática da redução do fluxo permeado com o tempo em função dos fenômenos de polarização de concentração e *fouling*.

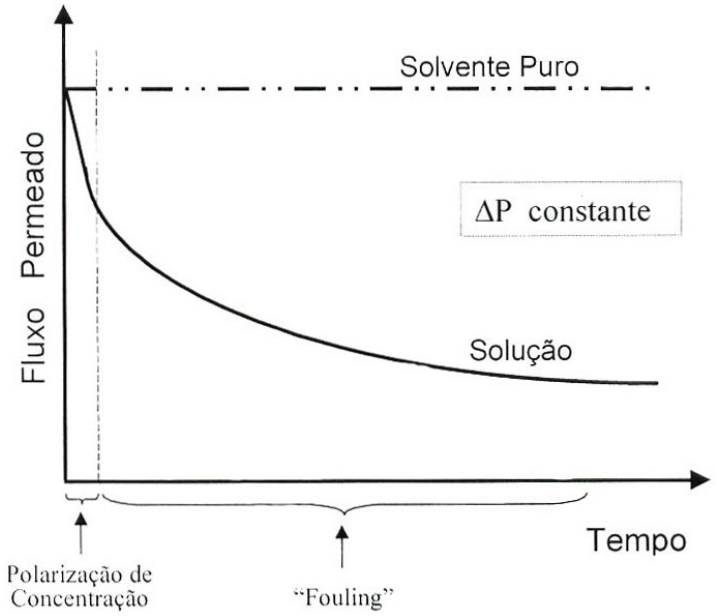


Figura IV.6. Representação da redução do fluxo permeado com o tempo de operação, causada pelos fenômenos de polarização de concentração e *fouling* (Habert e colaboradores, 2003).

Em virtude destes fenômenos, a resistência ao transporte de matéria através da membrana é aumentada, caracterizando um novo modelo de

transporte, o modelo das resistências, onde o fluxo de permeado passa a ser descrito pela Equação IV.5. As resistências adicionais à transferência de massa, causadas pelos fenômenos de polarização de concentração e *fouling* estão representadas na Figura IV.7

$$J_V = \frac{1}{\eta\, R_{Tot}} \times \Delta P \qquad \textit{Eq. IV.7}$$

$$R_{Tot} = R_m + R_a + R_b + R_g + R_{pc}$$

onde η = viscosidade da solução que permeia a membrana;

R_{Tot} = resistência total à transferência de massa através da membrana;

R_m = resistência ao transporte através da membrana;

R_a = resistência adicional ocasionada pelo fenômeno de adsorção;

R_b = resistência adicional relativa ao bloqueio de poros;

R_g = resistência adicional relativa à formação da camada gel;

R_{pc} = resistência adicional relativa ao fenômeno de polarização de concentração.

Em função da natureza da membrana, das espécies dissolvidas ou em suspensão e das condições de operação, estas resistências adicionais podem contribuir de maneira diferente para a resistência total. A resistência relativa ao problema de adsorção na superfície da membrana e nas paredes dos poros é função das interações físico-químicas que ocorrem entre os componentes da solução e a membrana, podendo ser agravada pela presença de proteínas na solução.

A formação da camada gel sobre a membrana ocorre quando a concentração de macromoléculas próxima a superfície da membrana alcança um valor crítico; a partir daí, qualquer aumento de pressão acarreta uma maior compactação e, conseqüentemente, o fluxo torna-se constante, o chamado fluxo limite (Matta, 1999).

Alem da redução do fluxo permeado, o *fouling* pode ter outros efeitos sobres os sistemas com membranas, tais como diminuição da rejeição de solutos; aumento da quantidade de sais precipitados; maior diferencial de pressão ao longo do canal de alimentação; contaminação do permeado; biodeterioração da membrana; biodeterioração de componentes do módulo, degradação química da membrana e redução do tempo de uso da membrana (Schneider e Tsutiya, 2001).

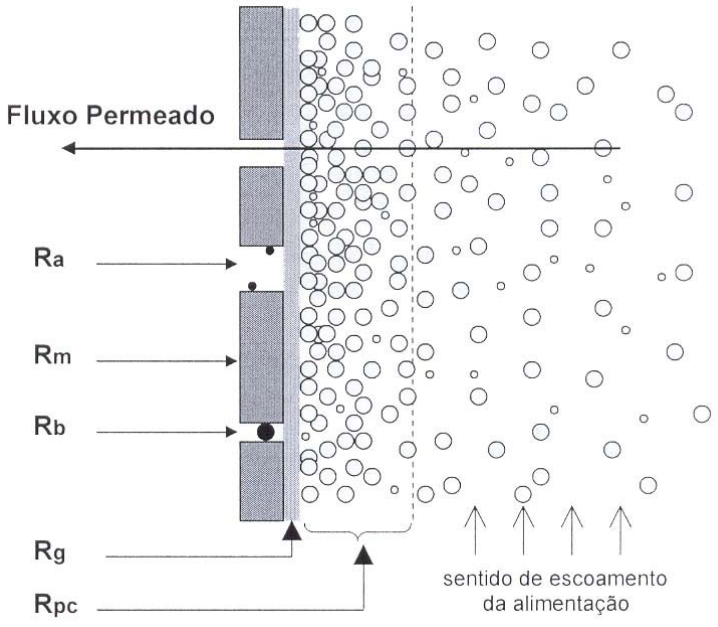


Figura IV.7. Representação esquemática das resistências à transferência de massa nos processos de separação com membranas. R_m – resistência da membrana; resistências adicionais: R_a – adsorção, R_b – bloqueio de poros, R_g – camada gel, R_{pc} – polarização de concentração (Mulder, 1991).

IV.2.3 – Técnicas empregadas no controle dos fenômenos que causam a redução do fluxo permeado

As técnicas empregadas para o controle do *fouling* envolvem: pré-tratamento da alimentação; ajuste das condições operacionais, tais como pressão, velocidade tangencial e temperatura; retrolavagem; regeneração da membrana, através de limpeza química; e modificações na membrana.

- Modificações nas características da membrana

A adsorção de proteínas depende da composição e da morfologia das membranas. As características do material da membrana, tais como hidrofobicidade e polaridade, podem ser determinadas através da medida do ângulo de contato formado entre a membrana e a solução (Huang e colaboradores, 1999).

A modificação da interface das membranas e o uso de novos materiais, como, por exemplo, membranas inorgânicas, são ferramentas importantes para resolver os problemas de *fouling* enfrentados quando são aplicados os processos com membranas (Cuperus, 1998).

O efeito da morfologia da membrana sobre o problema de bloqueio de poros, causado pela deposição de proteínas, durante a microfiltração, foi estudado por Ho e Zydney (1999). Após testarem membranas de diferentes materiais, os autores observaram que a taxa de declínio do fluxo de permeado foi muito menor para membranas com poros interconectados, uma vez que o fluido pode fluir em torno dos poros bloqueados, através da estrutura de poros interconectados.

Palácio e colaboradores (1999) estudaram a adsorção de proteína do soro bovino (BSA) sobre membranas de ultrafiltração, investigando como as propriedades das superfícies das membranas e das proteínas afetam a

adsorção. Eles utilizaram três membranas compostas, poliamida aromática suportada em polisulfona, com retenção nominal de 2000, 3500 e 15000 g/mol em três diferentes valores de pH. Os autores observaram que as membranas apresentaram carga negativa em soluções de cloreto de potássio e que, para altas concentrações de proteína, a adsorção praticamente independe do pH do meio.

Para Martín e colaboradores (2002) a adsorção de proteínas pode ser estudada como uma função das forças eletrostáticas entre o soluto e a membrana. Eles microfiltraram gama-globulina em uma membrana de alumina, com tamanho nominal de poro de 0,1 μm, e observaram um máximo de adsorção quando a interação eletrostástica foi igual a zero.

Carié e colaboradores (2000) investigaram a adsorção de proteínas do soro, sob condições estática e dinâmica, utilizando duas membranas inorgânicas diferentes, uma de zircônia, com diâmetro médio de poro de 50 nm, e uma de alumina, com diâmetro médio de poro de 200 nm. Os estudos de adsorção estática indicaram que o material da membrana e o tamanho de poros têm uma influência considerável sobre a quantidade de proteínas adsorvidas e que o mecanismo de *fouling* foi diferente entre as duas membranas.

A ultrafiltração, utilizando membranas convencionais, pode ser associada à eletroforese para aumentar o fluxo de permeado e reduzir os problemas de *fouling* (Zhou e colaboradores, 2000).

Jones e O'Melia (2001) estudaram o comportamento da adsorção de proteína e ácido húmico durante a ultrafiltração, utilizando membranas poliméricas com retenção nominal de 30, 50 e 100 kDa. Os autores observaram que a adsorção de ácido húmico aumenta com a diminuição de pH e que uma dada massa de ácido húmico adsorvido causa maior resistência do que uma massa equivalente de proteína adsorvida, pois o ácido húmico pode

adsorver dentro dos poros da membrana, aumentando a resistência hidráulica do fluido.

Hasegawa e colaboradores (2001) prepararam uma membrana polimérica composta, com a superfície resistente à adsorção de proteínas, para ser usada em hemodiálise. Os grupos polares fosfolipídicos tornam a membrana mais compatível com o sangue e mais hidrofílica, e a interação entre a superfície da membrana e as proteínas fica enfraquecida.

Noordman e colaboradores (2002) estudaram os efeitos da força iônica sobre a ultrafiltração de soluções de proteínas, utilizando uma membrana plana de polietersulfona, com retenção nominal de 30 kDa. Eles observaram que o fluxo de permeado depende das condições da solução e aumenta com a diminuição da força iônica.

- Retrolavagem

Uma das técnicas utilizadas para resolver o problema de *fouling*, durante a microfiltração, é o retropulso (*backpulsing*), que consiste na aplicação de pequenos pulsos de pressão do lado do permeado, causando pequenos períodos de fluxo através da membrana no sentido inverso ao da filtração. O fluxo inverso pode desbloquear os poros da membrana ou remover as partículas depositadas sobre a mesma, aumentando o fluxo de permeado e a passagem de solutos (Levesley e Hoare, 1999; Meacle e colaboradores, 1999).

A retrolavagem é um processo rápido, que dura de 30 segundos a um minuto, sendo que o permeado é descartado. Os procedimentos mais importantes são:

- o retrolavagem tangencial – bombeamento do permeado pelo canal de concentrado em direção contrária à filtração, usada principalmente em membranas tubulares e de fibras ocas;

- o retrolavagem frontal – bombeamento do permeado através da membrana em sentido contrário ao da filtração (Figura IV.8);
- o retrolavagem com ar comprimido – bombeamento de ar comprimido com alta pressão pelo canal do permeado; quando utilizada com membranas de fibras ocas é a mais eficiente.

A retrolavagem normalmente não é aplicada em módulos espirais, devido ao risco de bloqueio dos canais de alimentação, por pedaços de tortas (Schneider e Tsutiya, 2001).

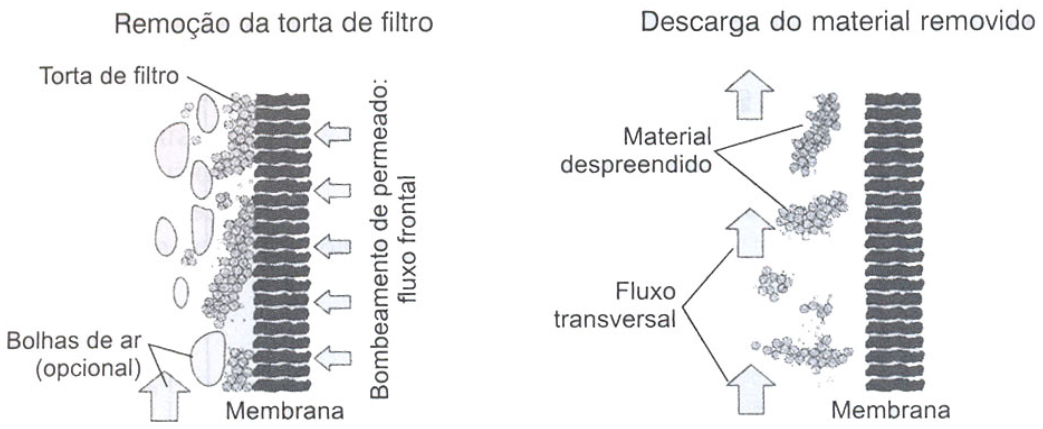


Figura IV.8. Representação esquemática da técnica de retrolavagem (Brügger, 2000)

- Regeneração da membrana

O tipo de agente químico, sua concentração, as condições e o tempo de processo, afetam a eficiência da limpeza. Além disto, o *fouling* pode ser quantificado pela resistência que aparece durante a filtração e a limpeza pode ser especificada pela remoção desta resistência (Madaeni e colaboradores,

2001). A Tabela IV.3 relaciona alguns agentes químicos às suas principais funções na limpeza de membranas.

O Tween 20, surfactante não aniônico, pode ser usado para resolver o problema de adsorção de lisozima em membranas de polietersulfona e zircônia, sendo a eficiência de limpeza avaliada pela medida do ângulo de contato (Kaplan e colaboradores, 2002).

Tabela IV. 3. Componentes de soluções de limpeza química de membranas

Componente	***Exemplo***	***Concentração***	***Função***
Detergente	SDS Triton Aminas quaternárias	0,01 a 2%	Quebra de ligações hidrofóbicas na matriz. Desnaturação de macromoléculas.
Dispersante	Tripolifosfato	0,1 a 5%	Solubilização de partículas.
Agente caotrópico	Uréia	6-8 molar	Quebra de pontes de H.
Quelante	EDTA Citrato	0,1 a 1%	Neutralização de íons divalentes como Ca^{2+} e Mg^{2+} co-responsáveis pela estabilização estrutural da matriz do biofilme
Enzima	Proteases, polissacaridases, lipases, estereases	10 a 100 mg/L	Quebra de macromoléculas biológicas
Biocida	Bissulfito de sódio	10 a 100 mg/L	Inativação de microrganismos
	Aminas quaternárias	0,1 a 1%	
	Formaldeído	0,1 a 1%	
	Glutaraldeído	0,1 a 1%	
	Isotiazolonas	0,1 a 1%	
	Monocoloroaminas	0,1 a 1%	

Fonte: Ridgway e Flemming (Citados por Schneider e Tsutiya, 2001).

IV.3 – Aplicações da tecnologia de membranas na separação de proteínas

A utilização da tecnologia de membranas na recuperação e/ou separação de proteínas tem sido estudada por diversos autores. A ultrafiltração é freqüentemente utilizada como etapa inicial na purificação de soluções de proteínas (Ho e Zydney, 1999; Noordman e colaboradores, 2002), pois permite a concentração das substâncias de alta massa molar assim como o fracionamento das substâncias de baixa massa molar. Segundo Fierens e colaboradores (2000), para que a retenção seja eficiente, a retenção nominal da membrana deve ser a metade ou um terço da massa molar da proteína a ser separada.

Entretanto, Darnon e colaboradores (2002), no seu estudo comparativo sobre a ultrafiltração de soluções simples e complexas, relatam que a escolha da membrana para filtração de uma solução biológica real não pode ser feita levando-se em consideração apenas os resultados obtidos a partir da filtração de soluções simples, pois a estrutura da camada dinâmica que se forma, da qual depende a seletividade, está diretamente ligada às características da membrana e da solução.

Van Reis e Zydney (2001) reportaram que a filtração tangencial de alto desempenho é uma nova tecnologia para a purificação ou concentração de proteínas, pois permite separar monômeros de dímeros, baseando-se somente nas diferenças de tamanho, e separar proteínas de mesmo tamanho, com base nas diferenças de carga. Segundo os autores, a otimização do pH e da força iônica tem importante impacto sobre o comportamento das proteínas nos sistemas com membranas.

A ultrafiltração é uma técnica com potencial para aplicações em grande escala, quando grandes quantidades de proteínas precisam ser separadas (Ghosh e Cui, 2000).

Segundo Cunha e colaboradores (2002), a aplicação da ultrafiltração na fabricação de queijo inclui desde a padronização do teor de proteínas até a obtenção do pré-queijo líquido. Eles obtiveram fatores de concentração de até 4:1 e teor de proteína de 8,6%, quando utilizaram um sistema de fibras ocas, com membranas poliméricas de retenção nominal de 10 kDa, e pressão transmembrana de 1,4 kgf/cm^2.

Teixeira e colaboradores (1998) realizaram processamento de soro ácido de queijo por ultrafiltração, visando à obtenção de um soro isento de proteínas. A concentração protéica do soro, determinada pelo teor de nitrogênio total, foi de 0,207% e o permeado obtido apresentou uma concentração de 0,093%, mostrando que, nas condições testadas, obteve-se uma redução de 55% no teor de proteínas.

A tecnologia de membranas também pode ser empregada na incorporação de proteínas do soro ao queijo. As proteínas podem ser removidas do soro por ultrafiltração, sendo adicionadas ao queijo diretamente na sua matriz ou por reciclo dentro do próprio soro de queijo (Hinrichs, 2001).

Roux e Belyea (1999) estudaram os efeitos da concentração, por ultrafiltração, sobre o valor nutricional de biosólidos do processamento de leite. Os autores observaram que a ultrafiltração, seguida de uma secagem convencional, resultou em maiores concentrações de nitrogênio (proteínas) e matéria orgânica (energia). A concentração por ultrafiltração aumentou o valor nutricional dos biosólidos e eliminou a necessidade de coagulantes e floculantes.

A recuperação de proteínas de um hidrolisado protéico de soja, utilizando membranas de ultrafiltração de diferentes retenção nominal, foi estudada por Cabral e colaboradores (1999). O hidrolisado continha cerca de 20% de proteínas com massa molar média de 30 kDa. Com todas as membranas testadas, de 100, 50, 20 e 10 kDa, foi possível reter as proteínas

presentes, sendo que o maior fluxo de permeado foi atingido com a membrana de 100 kDa, como esperado teoricamente.

A tecnologia de membranas também é empregada na recuperação de proteínas solúveis de meios de fermentação e de suspensões com alta concentração de células. Membranas cerâmicas tubulares, com tamanho de poro de 0,2 μm, podem ser utilizadas, associadas a aplicação de retropulsos no permeado, para a recuperação destas proteínas (Levesley e Hoare, 1999).

Meacle e colaboradores (1999) utilizaram um sistema de fibras ocas, com membranas de polisulfona e retenção nominal de 0,1 μm e 0,2 μm, para purificar um conjugado proteína-polissacarídeo. Os autores reportaram que escolheram a microfiltração por permitir condições estéreis de processamento.

A influência da modificação química de membranas inorgânicas sobre a seletividade, na ultrafiltração de soluções de proteínas, foi avaliada por Rabiller-Baudry e colaboradores (2001). As membranas foram modificadas para suportar grupos aniônicos (pirofosfato) ou catiônicos (etilenodiamina). Na ultrafiltração de uma mistura de lisozima/lactoferrina a melhor seletividade foi observada com a membrana enxertada com grupos catiônicos, que permitiu uma pureza de lisozima, no permeado, próxima de 100%.

Modrzejewska e colaboradores (2001) prepararam uma membrana de quitosana e investigaram a separação de compostos de alta massa molar. Eles reportaram que as membranas retêm proteínas com massa molar acima de 69 kDa, enquanto dextranas de 70 kDa e 200 kDa são retidas em 30% e 75%, respectivamente.

IV.4 – Recuperação de proteínas presentes em resíduos

Afonso e Bórquez (2002) reportaram a utilização dos processos com membranas, em particular a ultrafiltração e a nanofiltração, como alternativa no tratamento de efluentes do processamento de peixe. Segundo os autores, as águas residuais da indústria de peixe, geradas durante a produção da carne de peixe ou produzidas pela lavagem de surimi, apresentam elevada carga orgânica, incluindo proteínas, associada à alta turbidez e odor desagradável. Por estas razões, não podem ser descartadas sem um efetivo tratamento. Entretanto, a taxa de concentração de proteínas por processos clássicos, tais como centrifugação, secagem ou evaporação, é muito baixa para ser economicamente viável.

As proteínas presentes nas águas residuais de uma indústria de peixe foram recuperadas e concentradas por ultrafiltração, utilizando-se dois diferentes módulos de filtração, um com membrana cerâmica de 0,1 μm e outro com membranas tubulares de polisulfona, com retenção nominal de 20 kDa (Mameri e colaboradores, 1996).

Segundo Huidobro e colaboradores (1998), a perda de proteínas de peixe, por lixiviação, nas águas residuais da elaboração de surimi pode atingir até 30%. Eles recuperaram as proteínas solúveis da água de lavagem utilizando centrifugação e ultrafiltração, em uma membrana de 30 kDa. O fator de concentração obtido foi de cinco vezes e o teor de proteína no concentrado foi igual a 50 mg/mL.

Benjakul e colaboradores (1998) recuperaram e caracterizaram proteinase da água de lavagem de surimi de pescada através de aquecimento ôhmico, ultrafiltração e liofilização. O perfil protéico da fração retida na ultrafiltração foi similar ao da solução molecular.

Segundo a avaliação econômica realizada por Afonso e colaboradores (2004), a ultrafiltração de efluentes da indústria de peixes é uma técnica economicamente viável para a recuperação de proteínas e a redução da poluição.

Alem disto, a ultrafiltração pode ser empregada no tratamento de efluentes de outras indústrias que trabalham com processamento de carne. Lo e colaboradores (2005) utilizaram a ultrafiltração para recuperar proteínas presentes na águas residuais do processamento avícola. Quase todas as proteínas foram retidas pela membrana de polisulfona de 30 kDa e a DQO do efluente foi menor que 200 mg/L. Após otimização das condições de processo o fluxo foi melhorado, alcançando um valor de 200 $L/h.m^2$.

Desta forma, esses trabalhos de pesquisa corroboram para a hipótese de que a ultrafiltração é uma alternativa para a recuperação de proteínas, devido às suas propriedades de separação e fracionamento. Estas proteínas podem ser usadas na indústria de alimentos, em virtude de suas propriedades emulsificantes, ou no enriquecimento de diferentes produtos como *snacks* e massas.

Capítulo V

Extrusão

A extrusão é um processo de tratamento térmico que, por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico, modifica profundamente as matérias-primas, gerando produtos de diferentes formas e com novas características funcionais e nutricionais.

A temperatura de cozimento, durante a extrusão, pode ser bem alta, 180 a 190^{0}C, mas o tempo de residência é normalmente 20 a 40 segundos; por isso o processo de extrusão é chamado HTST – *high temperature short time*.

Os extrusores são capazes de desempenhar uma ou mais funções ao mesmo tempo, enquanto processam um determinado alimento, tais como mistura; gelatinização; alteração de textura; desnaturação e texturização de proteínas; inativação enzimática; pasteurização e esterilização de alimentos e microrganismos patogênicos; cozimento térmico; expansão; desidratação; entre outras (Riaz, 2001).

Além disto, a tecnologia de extrusão oferece uma série de vantagens em relação aos métodos tradicionais de processamento de alimentos:

- opções de processar uma variedade de produtos alimentícios mudando um ingrediente secundário ou uma condição de processo;
- obtenção de diferentes formas, texturas, cores e aparências apenas em função de pequenas mudanças nas condições de processo;
- eficiência energética;
- baixo custo;
- disponibilidade de automatização, com a maioria dos novos extrusores, podendo aumentar a produtividade;
- aumento da qualidade do produto, pois o cozimento é feito num curto espaço de tempo;
- poucos efluentes;
- fácil escalonamento.

A transformação das matérias–primas durante o processamento é um dos fatores mais importantes para distinguir a extrusão dos outros processos. Outro fator é a taxa de umidade, que é relativamente baixa, se comparada à de outros processos (Guy, 2001).

Os extrusores consistem basicamente de cinco partes: sistema de alimentação, parafuso com mecanismo de acionamento, cilindro, matriz e mecanismo de corte, podendo este ser acoplado ou não. Possuem um ou dois parafusos giratórios encaixados firmemente dentro do cilindro. A rotação do parafuso empurra a matéria-prima em direção a matriz, revirando-a e pressionando-a contra as paredes do cilindro, exercendo sobre ela um trabalho de cisalhamento, acarretando transformação da mistura em uma massa uniforme (Figura V.1).

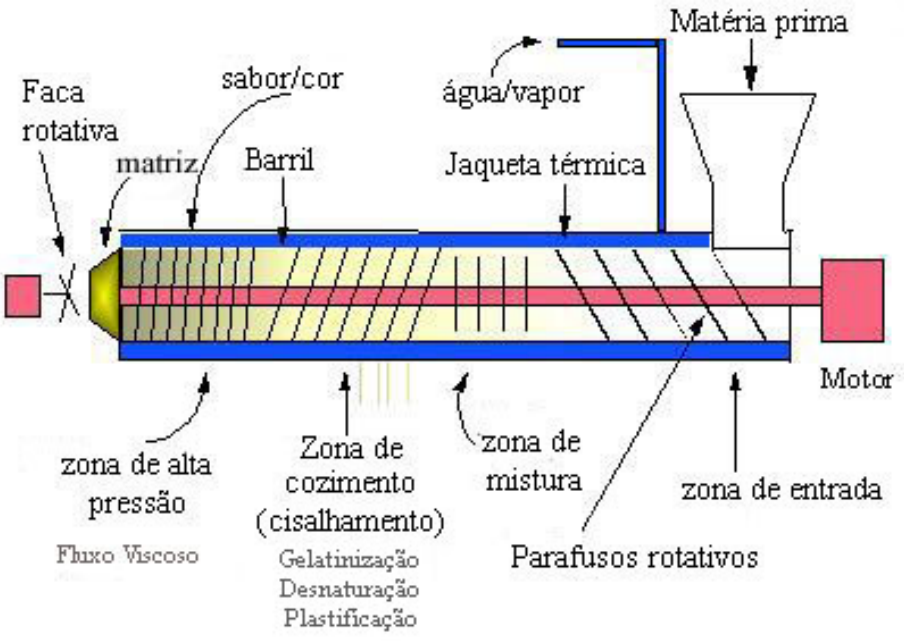


Figura V.1. Representação esquemática de um extrusor (Murray, 2000)

V.1 – Parâmetros importantes da extrusão termoplástica

V.1.1 – Parâmetros estruturais: matéria-prima

Os alimentos extrusados são feitos a partir de diversas matérias-primas, que contêm materiais que exercem diferentes funções na formação e estabilização dos produtos, além de promover cor, aroma, sabor e qualidade nutricional nos diferentes produtos.

Apesar da baixa umidade, a massa de matéria-prima é transformada em um fluido e passa por um número de operações para misturar e transformar os ingredientes originais em novas formas.

Todos os produtos alimentícios têm estruturas básicas que são formadas por certos elementos presentes nas matérias-primas, como biopolímeros de goma, proteínas, açúcares e gorduras.

Os materiais normalmente usados são farinhas de trigo e milho, mas outros materiais como farinha de arroz, batata, aveia, tapioca, também podem ser utilizados como matéria-prima (Guy, 2001).

O tamanho de partícula das matérias-primas pode afetar a textura e a uniformidade do produto final. A uniformidade das partículas está relacionada com a uniformidade no condicionamento da matéria-prima, pois as partículas de diferentes ingredientes possuem taxas de absorção de água diferentes. A uniformidade no tamanho de partículas dos ingredientes permite que as mesmas sejam adequadamente cozidas durante a extrusão, prevenindo dureza e cozimento parcial do produto final.

V.1.1.1 – Classificação dos ingredientes de acordo com sua função

Segundo Guy (2001), a mistura de materiais presentes em uma receita para extrusados é muito complexa; por isso ele desenvolveu um sistema de classificação dos ingredientes de acordo com suas propriedades funcionais.

- Materiais estruturais – a estrutura de um extrusado é criada pela formação de um fluido de biopolímeros, tais como gomas e proteínas.

- Materiais de recheio (fase dispersa) – são normalmente formados por qualquer proteína presente e materiais fibrosos, como celulose e farelo de trigo.

- Plastificantes e lubrificantes – ingredientes, como a água, hidratam e solvatam os polímeros, diminuindo a viscosidade da massa e o gasto de energia mecância; os níveis de cisalhamento durante a extrusão podem ser reduzidos pela presença de gorduras e óleos.

- Sólidos solúveis – alguns materiais de baixo peso molecular, como açúcares e sais, podem ser adicionados à receita para conferir sabor ou propriedades humectantes ao extrusado.

- Substâncias nucleadoras – substâncias que aumentam a formação de bolhas durante a expansão do extrusado, tais como carbonato de cálcio e silicato de magnésio (talco).

- Substâncias colorantes – alguns materiais podem ser adicionados à receita para produzir cor nos extrusados, como os aditivos sintéticos; ou as cores podem ser conseguidas na matéria-prima, como no milho, porém, as cores naturais, geralmente, desaparecem em altas temperaturas.

- Substâncias que conferem aroma e sabor – um produto pode desenvolver esses atributos através de reações térmicas sofridas por algum ingrediente, ou pela adição de aditivos naturais ou sintéticos, que pode ser feita durante a extrusão ou numa etapa secundária, após a extrusão.

V.1.1.2 – Características do arroz

O arroz, comparado aos outros cereais, apresenta maior digestibilidade, maior valor biológico e o mais elevado quociente de eficiência protéica, mesmo apresentando deficiência em lisina. Desta forma, é uma importante fonte de calorias e proteínas na alimentação de mais da metade da população mundial (Maia, 2000).

A qualidade comestível do arroz e de seus produtos é influenciada por suas propriedades funcionais, as quais dependem de sua composição química, sendo que a proporção amilose/amilopectina no amido é a que mais afeta estas propriedades. O arroz com alto teor de amilose é utilizado em macarrões; o arroz com teor intermediário de amilose, em sopas enlatadas e bolos e o arroz com baixo teor de amilose, em alimentos infantis e cereais matinais (Juliano e Hicks, 1996).

A composição química do arroz está apresentada na Tabela V.1. A Figura V.2 mostra a representação esquemática de um grão de arroz com seus principais componentes.

No caso das farinhas de arroz, obtidas por moagem ou atomização, as propriedades funcionais dependem das características do amido (Bean, 1986).

O amido nativo é insolúvel em água, mas os amidos extrusados são parcialmente solúveis. A extrusão pode destruir a estrutura cristalina do amido

que apresenta uma forma granular, mas durante o cozimento se transforma num material denso, sólido e compacto. Essa destruição pode ser completa ou parcial, dependendo do teor de umidade e cisalhamento e também da relação amilose/amilopectina do amido (Ascheri, 1997).

Tabela V.1. Composição química do arroz

	Arroz
Carboidratos	80,00%
Umidade	13,60%
Proteínas	8,00%
Lipídeos	0,69%
Cinzas	0,41%
Fibra bruta	0,36%
Outros componentes	0,25%

Fonte: Ensminger e colaboradores (1994)

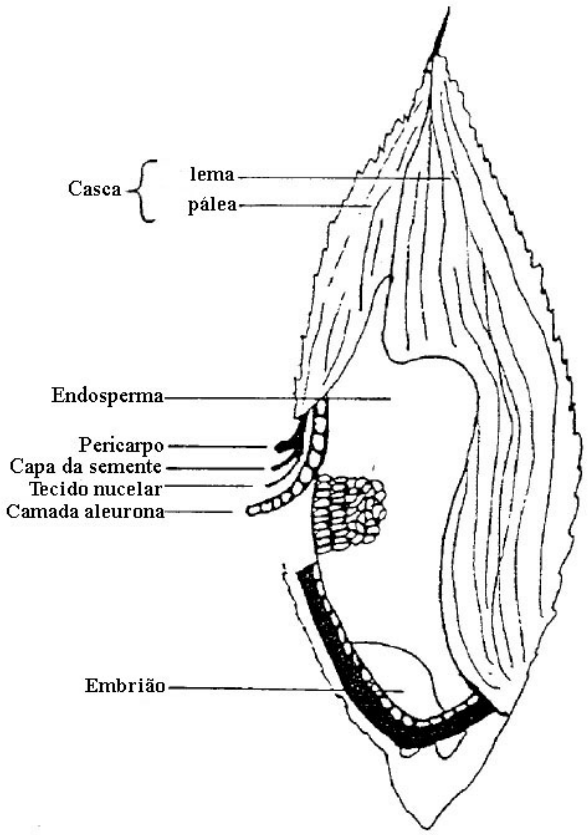


Figura V.2. Representação esquemática do grão de arroz com seus principais componentes (Guy, 2001)

V.1.2 – Parâmetros de processo

As transformações que ocorrem durante a extrusão dependem dos parâmetros estruturais, bem como das condições de processo (Ascheri, 1997):

- Umidade

A umidade inicial é um dos parâmetros mais importantes no processo de extrusão, pois existe um ótimo de umidade para se conseguir a expansão ideal do produto. O aumento do teor de umidade acarreta diminuição da viscosidade do produto, com conseqüente decréscimo da temperatura e da pressão do produto na saída pela matriz.

- Temperatura

O aumento da temperatura da camisa do extrusor é diretamente proporcional ao aumento da temperatura do produto, que provoca um decréscimo na viscosidade.

- Rotação da rosca

O aumento da rotação da rosca aumenta a taxa de cisalhamento e, se mantida a vazão de alimentação, diminui o volume de material dentro do extrusor, causando diminuição do tempo de residência.

- Diâmetro da matriz

A matriz é responsável pela forma do produto final e tem como função restringir o fluxo do material dentro da extrusora, promovendo aumento de pressão e cisalhamento antes da saída do produto.

V.2 – Parâmetros de qualidade do produto final

V.2.1 – Expansão

A expansão do produto é função das características da matéria-prima e das condições de processamento, resultando da expansão longitudinal, da expansão axial ou de ambas. Normalmente, a expansão é expressa pela relação entre a área da seção transversal do extrusado e a área da matriz, ou pela relação entre os diâmetros do extrusado e da matriz (Ascheri, 1997).

A velocidade de rotação e a temperatura influenciam a expansão. A expansão total do produto aumenta com o aumento da velocidade de rotação do parafuso (Ali e colaboradores, 1996).

A relação amilose/amilopectina do amido é outro fator que afeta a expansão. Um alto teor de amilopectina no material favorece a expansão, enquanto a amilose tem efeito contrário (Chinnaswamy, 1993). Além disto, o grau de conversão do amido e o teor de umidade também estão relacionados à expansão do produto final.

V.2.2 – Grau de cozimento

O grau de cozimento é um aspecto fundamental nas características do produto final, além de também ser indicador das condições de processo. Quanto maior o grau de cozimento do amido, menor será a viscosidade de pasta. A viscosidade de pasta depende do teor de umidade inicial, da temperatura e da rotação da rosca.

V.2.3 – Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA)

O IAA indica a quantidade de água absorvida pelos grânulos de amido de uma determinada amostra submetida a tratamento térmico.

O ISA indica o quão drástico foi o tratamento térmico e o conseqüente rompimento da estrutura amilácea.

O amido nativo quase não absorve água à temperatura ambiente, por outro lado, o amido extrusado absorve água rapidamente, formando uma pasta à temperatura ambiente. Esta pasta é formada pelas macromoléculas solubilizadas e por partículas entumecidas pela água.

A capacidade de absorção de água do material amiláceo é, normalmente, elevada com o processamento, pois somente os grânulos de amido danificados absorvem água e incham à temperatura ambiente resultando no aumento da viscosidade (Ascheri, 1997).

V.3 – Mudanças químicas e nutricionais que as proteínas sofrem durante a extrusão

Durante o processamento de alimentos, as proteínas sofrem algumas modificações químicas, que são mais pronunciadas em função das condições de temperatura, cisalhamento e baixa umidade dos processos de extrusão (Cheftel, 1986; Camire, 1990).

- Digestibilidade – o valor nutritivo de uma proteína é dependente da facilidade com que ela pode ser digerida como também do seu padrão de aminoácidos. Muitos fatores, incluindo a presença de inibidores de

proteases e fibras, podem reduzir a quantidade de proteína disponível para absorção intestinal. A extrusão melhora a digestibilidade de proteínas em decorrência da desnaturação ocasionada durante o processamento.

- Solubilidade – a desnaturação de proteínas é normalmente avaliada como mudança na solubilidade de proteínas em água ou em soluções aquosas. Geralmente, os grupos hidrofóbicos são descobertos durante a desnaturação, diminuindo a solubilidade. As condições de processo que favorecem a desnaturação, como alta temperatura e maior tempo de residência, reduzem a solubilidade das proteínas.

- Texturização – as condições necessárias à extrusão variam de acordo com o material a ser extrusado e com a aplicação do produto final. Por exemplo: o aumento da quantidade de água durante a extrusão, por exemplo, de soja, poderia resultar em um material mais elástico; o aumento do cisalhamento expõe o lado hidrofílico das proteínas, facilitando tanto a perda de água por vaporização, como a habilidade do extrusado de reabsorver água; géis de proteínas podem ser preparados com teor de água maior que 80% e temperatura acima de 150^0C; a presença de carboidratos na matriz protéica aumenta a elasticidade do produto final.

- Reação de Maillard – ocorre entre açúcares redutores e grupos amino livres ou aminoácidos, normalmente lisina; deste modo, a ocorrência da reação pode ser evidenciada pela perda de lisina do alimento. Outra indicação da extensão das reações de Maillard é a cor dos produtos finais. A reação de Maillard é favorecida pelas condições da extrusão, altas temperaturas, cisalhamento e baixo teor de umidade.

- Misturas de proteínas – poucas proteínas vegetais contêm a quantidade satisfatória de aminoácidos essenciais para o ser humano. Cereais são,

geralmente, deficientes em lisina; na soja, a metionina é um aminoácido limitante. O balanço de aminoácidos não pode ser alcançado simplesmente consumindo mais de uma proteína que contém um ou mais aminoácidos essenciais. Entretanto, duas ou mais proteínas podem ser misturadas para prover melhor qualidade protéica do que uma delas sozinha. A verdadeira complementação protéica envolve o uso de duas proteínas, cada qual contendo o aminoácido que é limitante na outra.

Capítulo VI

Material e Métodos

Este trabalho de pesquisa teve sua etapa experimental desenvolvida na Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro. Todos os experimentos foram realizados nas Plantas Piloto de Engenharia de Alimentos e de Tecnologia de Cereais da Embrapa. A maior parte das determinações físico-químicas foi realizada nos Laboratórios da Embrapa e algumas análises, relativas à caracterização do resíduo, foram conduzidas nos Laboratórios do Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química, UFRJ.

VI.1 – Material

Lula fresca, *in natura*, adquirida no mercado do produtor do Rio de Janeiro, foi a matéria-prima utilizada neste trabalho.

Sal de cozinha comercial foi utilizado para preparar a salmoura da pré-cocção da lula.

Arroz quirera, obtido no comércio do Rio de Janeiro, foi utilizado nos processos de extrusão.

VI.2 – Metodologia experimental

O esquema de obtenção da lula em conserva (de acordo com Ferreira, 1999) e a subseqüente recuperação de proteínas da salmoura residual, por ultrafiltração, está apresentado na Figura VI.1.

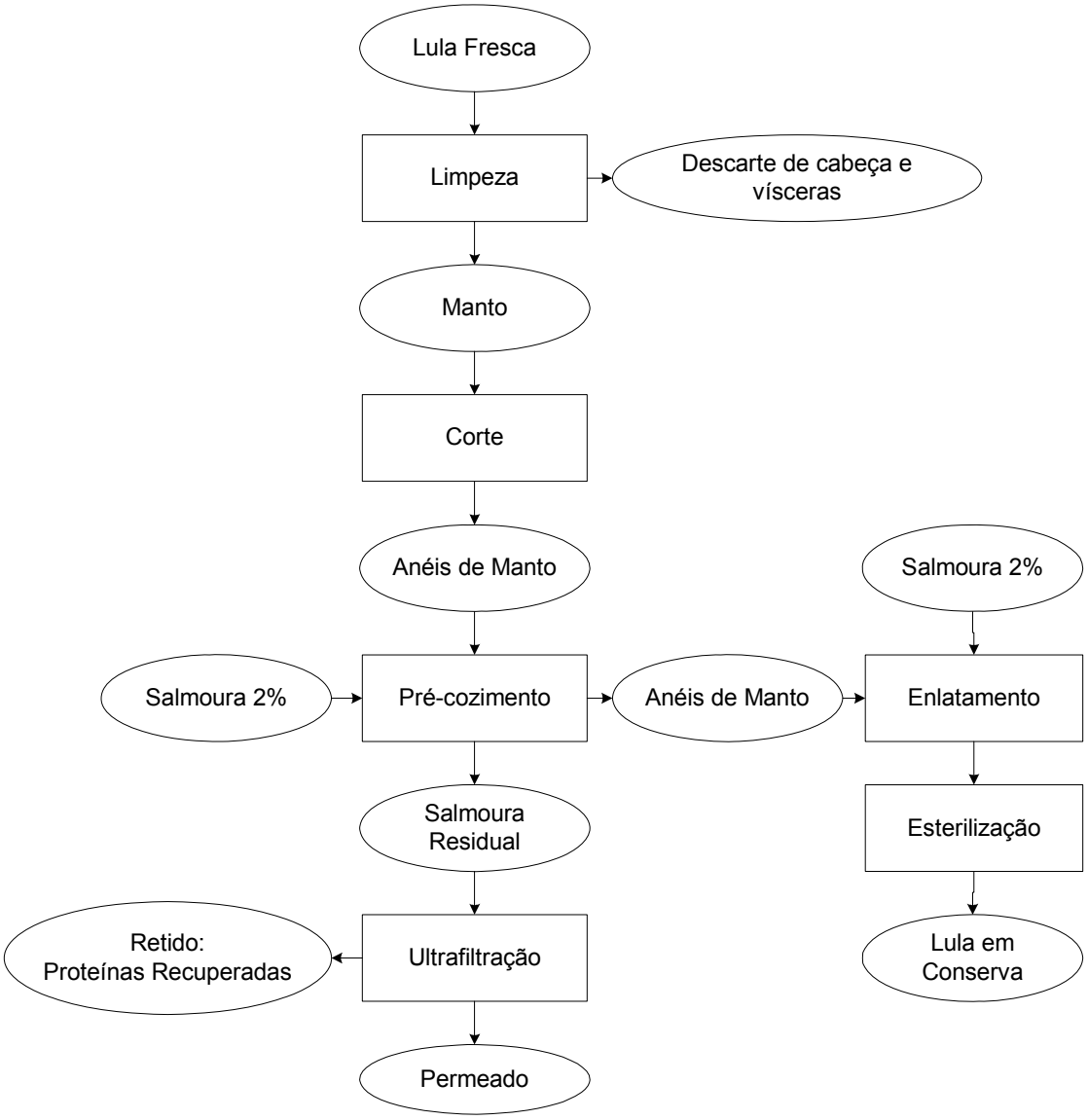


Figura VI.1. Diagrama para obtenção da lula em conserva e subseqüente recuperação de proteínas da salmoura residual por ultrafiltração.

VI.2.1 – Obtenção da salmoura

A primeira etapa do processamento consistiu da limpeza e sanitização da lula *in natura*, utilizando uma solução a 20 ppm de cloro; em seguida o manto da lula foi cortado em anéis, colocado em um tacho encamisado com salmoura (sal de cozinha 2%) e submetido à pré-cocção a 95^0C por 5 min (Figuras VI.2, VI.3 e VI.4).

Após esta etapa, a água de salmoura foi retirada e os anéis de lula foram acondicionados nas latas, para posterior esterilização. A salmoura residual foi congelada, sendo mantida a -18^0C até o momento da sua utilização nos experimentos de ultrafiltração (Figura VI.5).

Figura VI.2. Corte do manto de lula em anéis

Figura VI.3. Acima, anéis do manto de lula. Abaixo, descarte de cabeça, vísceras e nadadeiras

Figura VI.4. Pré-cocção dos anéis do manto de lula em salmoura

Figura VI.5. Recolhimento da salmoura residual em bombonas para congelamento e posterior ultilização.

VI.2.2 – Ultrafiltração da salmoura

Os experimentos foram conduzidos em um sistema de ultrafiltração de bancada, composto por uma célula de filtração, que utiliza membranas planas, e uma bomba de deslocamento positivo, com inversor de freqüência CFW08 Plus, da WEG (Figura VI.6). O sistema apresenta uma válvula de restrição do fluido de processo, que aumenta a pressão dentro da célula com a membrana.

Seis membranas planas, com área de filtração de 0,0146 m^2, foram utilizadas nos experimentos:

- uma membrana sulfonada da Desal, com retenção nominal de 10 kDa;
- duas membranas de polietersulfona da Hoechst High Chem, com retenção nominal de 20 kDa e 50 kDa;
- três membranas de polisulfona da Danish Separation Systems As, com retenção nominal de 20 kDa, 50 kDa e 100 kDa.

A Figura VI.7 apresenta a estrutura química da polisulfona e da polietersulfona.

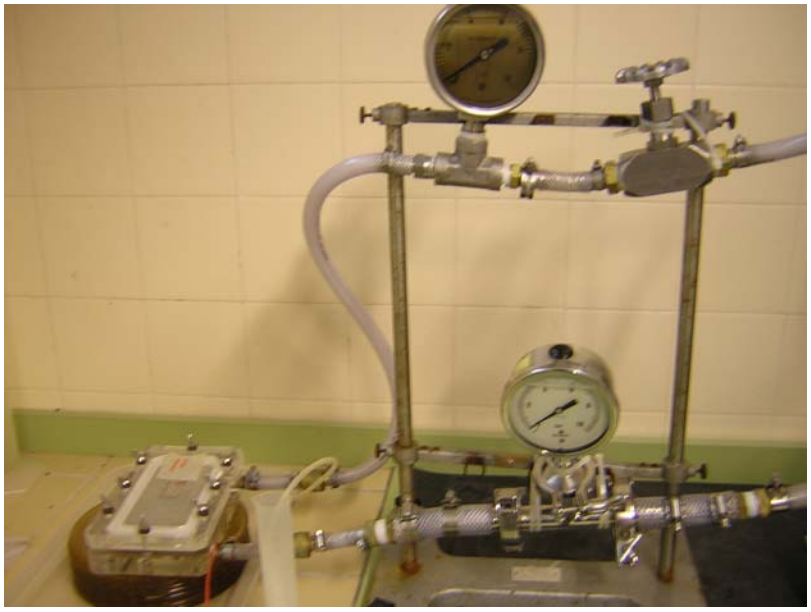
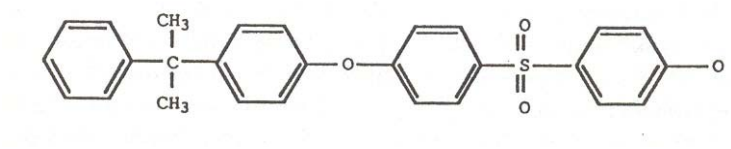
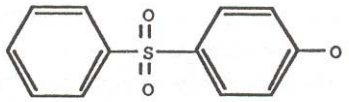


Figura VI.6. Sistema de ultrafiltração



(a)



(b)

Figura VI.7. Estrutura química da polisulfona (a) e da polietersulfona (b)

A amostragem para realização das análises físico-químicas de acompanhamento do processo foi realizada nas três correntes: alimentação (A), permeado final (P) e retido final (R). Todos os testes foram realizados em duplicata e a cada processamento foi feita a limpeza do sistema. A permeabilidade hidráulica (L_P) das membranas foi verificada em todos os processamentos.

VI.2.2.1. – Fluxo de permeado

O fluxo de permeado (J_P) é dado pela razão entre a vazão de permeado (Q_P) e a área de filtração (A_m), que foi constante para todas as membranas (Equação VI.1).

$$J_P = \frac{Q_P}{A_m} \qquad \textit{Eq. VI.1}$$

VI.2.2.2 – Permeabilidade hidráulica

A permeabilidade hidráulica (L_P) foi determinada pela Equação IV.2, recirculando-se água destilada pela membrana e medindo-se o fluxo de permeado (J_P) a diferentes valores de pressão transmembrana (ΔP); ela é o coeficiente angular da reta formada pela diferença de pressão e o fluxo de permeado.

$$L_P = \frac{J_P}{\Delta P} \qquad \textit{Eq. VI.2}$$

VI.2.2.3 – Limpeza da membrana

A limpeza da membrana foi realizada antes e depois dos processamentos de ultrafiltração, à pressão de 50 kPa, seguindo o procedimento abaixo:

- Recirculação com água destilada a 40^0C, por 20 min;
- Enxágüe com água destilada à temperatura ambiente;
- Limpeza alcalina – recirculação com solução de hidróxido de sódio 1% à temperatura ambiente, por 60 min;
- Enxágüe com água destilada à temperatura ambiente;
- Limpeza ácida – recirculação com solução de ácido nítrico 0,5% à temperatura ambiente, por 60 min;
- Enxágüe com água destilada à temperatura ambiente.

Quando necessário, foi efetuada uma limpeza cloro-alcalina, recirculando-se uma solução de hidróxido de sódio a 20 ppm de cloro (pH = 9,0).

VI.2.2.4 – Avaliação do efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção de proteínas

Os experimentos para avaliação do efeito da retenção nominal foram conduzidos em um sistema de ultrafiltração de bancada, com recirculação do retido e recolhimento do permeado. A pressão aplicada à membrana foi de 200 kPa e o tempo de processo foi de 6 h. As bateladas foram de 2 L, com velocidade tangencial (v_t) de alimentação em torno de 0,4 m/s e temperatura ambiente (28^0C a 30^0C).

Quatro membranas planas foram testadas: uma membrana sulfonada da Desal, com retenção nominal de 10 kDa; duas membranas de polietersulfona da Hoechst High Chem, com retenção nominal de 20 kDa e 50 kDa; e uma

membrana de polisulfona da Danish Separation Systems As, com retenção nominal de 100 kDa.

O fluxo de permeado (J_P) foi medido no início e a cada 1 h de processo, para que o desempenho das membranas de ultrafiltração fosse avaliado. Os experimentos foram realizados em duplicata.

O fator de concentração (F_C) foi calculado de acordo com a Equação VI.3.

$$F_C = \frac{V_A}{V_A - V_P} \qquad \textit{Eq. VI.3}$$

onde V_A = volume da alimentação (L);

V_P = volume de permeado (L)

VI.2.2.5 – Avaliação do efeito do pH da salmoura sobre a retenção de proteínas

Para esta avaliação, a salmoura utilizada como alimentação do sistema de ultrafiltração teve seu pH ajustado para 5,0, com ácido clorídrico concentrado P.A., visto que as principais proteínas presentes na salmoura residual do processamento de lula em conserva possuem pontos isoelétricos (pI) inferiores aos valores de pH observados para a salmoura, em torno de 7,0.

Os experimentos para avaliação da influência do pH na ultrafiltração da salmoura residual foram conduzidos nas condições descritas no item VI.2.2.4, utilizando-se a membrana plana de polisulfona da Danish Separation Systems As, com retenção nominal de 100 kDa.

Esta membrana foi escolhida para esta etapa do trabalho porque, embora possua a maior permeabilidade hidráulica, foi a que apresentou os piores valores de fluxo de permeado, quando testada na etapa anterior.

O fluxo de permeado (J_P) foi medido no início e a cada 1 h de processo, comparando-se o perfil do fluxo de permeado obtido a partir da ultrafiltração da salmoura em seu pH natural, com o perfil do fluxo de permeado obtido com a salmoura de pH modificado. O fator de concentração foi calculado pela Equação VI.3 e os experimentos foram realizados em duplicata.

VI.2.2.6 – Avaliação do efeito da velocidade tangencial e da pressão transmembrana sobre a retenção de proteínas

Nesta etapa, os experimentos foram conduzidos no mesmo sistema de filtração de bancada, à temperatura ambiente, porém com recirculação total das duas correntes de processo, retido e permeado, caracterizando um sistema fechado. A salmoura foi utilizada em seu pH natural.

Três diferentes velocidades tangenciais (v_t) de alimentação foram testadas: 0,4 m/s; 0,6 m/s e 1,2 m/s, variando-se, para cada vazão, a pressão transmembrana de 100 a 400 kPa. O fluxo de permeado (J_P) foi determinado a cada condição de processo e os experimentos foram realizados em duplicata.

Duas membranas planas de polisulfona da Danish Separation Systems As, com retenção nominal de 50 kDa e 20 kDa, foram utilizadas neste estudo.

VI.2.3 – Extrusão

Esta etapa do trabalho consistiu em testar uma aplicação para o retido da ultrafiltração, que continha as proteínas recuperadas da salmoura residual do processamento de lula. Desta forma, o retido da ultrafiltração da salmoura residual foi utilizado como ingrediente na produção de *pellets* de arroz por extrusão, visto que o retido é uma solução aquosa que, além de proteínas, contém uma determinada quantidade de sal.

O esquema para obtenção dos extrusados de arroz e retido da salmoura residual está apresentado na Figura VI.8.

VI.2.3.1 – Condicionamento da amostra

O condicionamento da matéria-prima foi realizado utilizando-se o retido da ultrafiltração, em lugar da água, para corrigir a umidade da amostra. A farinha de arroz apresentou umidade inicial de 13% e a massa de amostra utilizada nos experimentos foi de 800 g.

Três valores de umidade final foram testados: 25%, 30% e 35%. O cálculo para o condicionamento das amostras de “arroz + retido de salmoura” está representado na Equação VI.4.

$$A = \left(\frac{Uf - Ui}{100 - Uf} \right) \times peso\ da\ amostra \qquad \textit{Eq. VI.4}$$

onde A = volume de retido de salmoura a ser adicionado a amostra (mL)

U_f – umidade final da amostra (%)

U_i = umidade inicial da amostra (%)

VI.2.3.2 – Processo de extrusão

Os *pellets* de arroz foram extrusados variando-se a umidade da farinha de arroz, de acordo com as seguintes condições (adaptado de Carvalho e colaboradores, 2004):

- Modelo do extrusor – rosca simples
- Matriz – 1 mm
- Parafuso – 2:1
- Rotação do parafuso – 80 rpm
- Programação de temperatura:

T (^{0}C):	Zona 1	Zona 2	Zona 3
	60	100	70

Após a extrusão, os *pellets* foram secos em estufa à temperatura de aproximadamente 60^{0}C por 12 h. Uma parte dos *pellets* obtidos foi cortada em pedaços de aproximadamente 3 cm, para posterior expansão; outra parte foi processada em moinho de rolo para posterior realização das análises.

VI.2.3.3 – Expansão dos produtos

A expansão dos *pellets* secos foi realizada através de fritura em óleo vegetal, sob temperatura de aproximadamente 195^{0}C. As imagens dos *pellets* e dos expandidos foram obtidas com uma câmera digital da Sony, com resolução de 3,2 Mpixels.

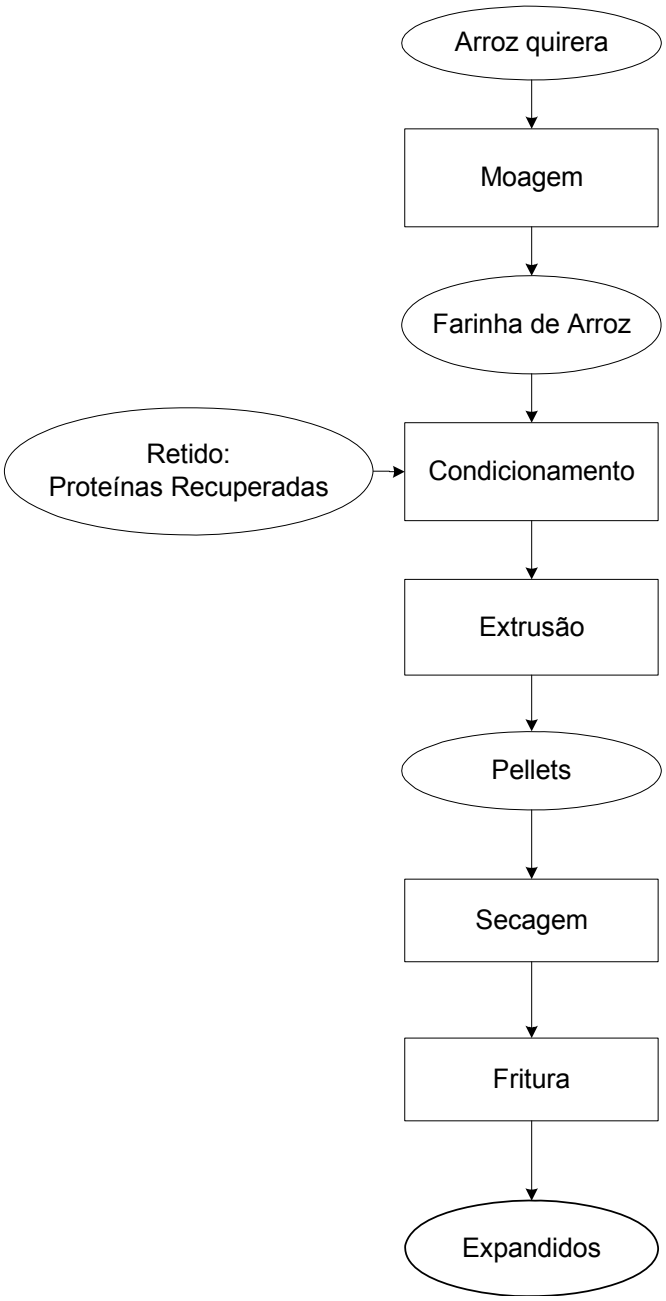


Figura VI.8. Diagrama para obtenção dos extrusados de arroz e retido de salmoura, contendo as proteínas recuperadas.

VI.3 – Métodos analíticos

VI.3.1 – Proteína total

O teor de proteína total foi determinado segundo o método de Lowry, que se baseia utilização de albumina bovina como padrão numa faixa de diluição de 10–100 mg/L e da formação de um complexo de cobre e radicais tirosina existente na molécula protéica deste mesmo padrão. A concentração de proteínas é calculada de acordo com a Equação VI.5 (Lowry e colaboradores, 1951).

$$C\ (mg/L) = Abs \times f \qquad \textit{Eq. VI.5}$$

onde Abs = absorbância a 660 nm

f = fator calculado pela curva padrão

VI.3.2 – pH

A determinação do pH foi feita através de leitura direta em potenciômetro Tec-3MP da TECNAL, de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

VI.3.3 – Turbidez

A turbidez das amostras foi realizada por leitura direta em turbidímetro Packet Turbidimeter™ Analysis System, segundo metodologia descrita na AOAC (1997). Quando necessário, foi efetuada diluição da amostra, para obtenção do valor de turbidez dentro da faixa de leitura do turbidímetro.

VI.3.4 – Sólidos totais

O teor de sólidos foi determinado por método gravimétrico, de acordo com metodologia descrita na AOAC (1997). Uma alíquota de amostra é seca em estufa, a 105^0C, até atingir peso constante (Equação VI.6).

$$ST\ (\%\ p/p) = \left(\frac{Peso\ da\ amostra\ \sec a}{Peso\ da\ amostra} \right) \times 100 \qquad \textit{Eq. VI.6}$$

VI.3.5 – Cloreto

O teor de cloreto foi determinado pelo método de Mohr . O íon cloreto é titulado por uma solução de nitrato de prata na presença de cromato de potássio, em meio neutro ou ligeiramente alcalino (Equação VI.7).

$$C\ (mg/L) = \frac{(Vt - Vb) \times Nt \times 35450}{Va} \qquad \textit{Eq. VI.7}$$

onde V_t = volume do titulante, $AgNO_3$

V_b = volume de branco

V_a = volume da amostra

N_t = normalidade do titulante

VI.3.6 – Nitrogênio

O teor de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldhal, que determina nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal. A amostra é digerida até total decomposição da matéria orgânica. O resíduo é alcalinizado e a amônia é quantificada colorimetricamente (AACC, 1995).

VI.3.7 – Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A DQO das amostras foi determinada pelo método HACH, que se baseia nos mesmos princípios do método padrão, descrito em APHA (1992), oxidação da matéria orgânica por um oxidante químico forte. A DQO é determinada diretamente, através da leitura da absorbância das amostras digeridas e comparação com uma curva padrão.

Como o íon cloreto é interferente na análise de DQO e a salmoura residual apresenta elevado teor de cloreto, a solução digestora foi preparada com uma quantidade de sulfato de mercúrio ($HgSO_4$) suficiente para complexar concentrações de cloreto acima de 2000 mg/L.

VI.3.8 – Perfil eletroforético de proteínas

O perfil protéico da salmoura residual foi determinado por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), utilizando como padrão protéico kits de alta e baixa massa molar (Tabelas VI.1 e VI.2), da Amershan Bioscience, de acordo com Laemmli (1970).

Foi utilizado um sistema de eletroforese da Biorad e a concentração de acrilamida no gel de corrida e no gel de aplicação foi 12% e 4%, respectivamente. As corridas foram de 4 h com uma tensão de 100V. As proteínas dos géis foram coradas com Comassie blue R250 a 1% em metanol/ácido acético/água (40:10:50), por aproximadamente uma noite e descoradas com uma solução de metanol/ácido acético/água (40:10:50), durante 3 h.

As proteínas são desnaturadas na presença do detergente SDS, com conseqüente normalização de suas cargas e formas; desta maneira, o único fator de distinção entre elas é a massa molar.

Tabela VI.1. Padrão protéico de alta massa molar utilizado nas análises de eletroforese em gel de polacrilamida.

Proteínas	Massa molar (Da)
Miosina	220000
α_2-Macroglobulina	170000
β-Galactosidase	116000
Transferrina	76000
Desidrogenase glutâmica	53000

Tabela VI.2. Padrão protéico de baixa massa molar utilizado nas análises de eletroforese em gel de polacrilamida.

Proteínas	Massa molar (Da)
Fosforilase b	97000
Albumina	66000
Ovalbumina	45000
Anidrase carbônica	30000
Inibidor de tripsina	20100
α-Lactoalbumina	14400

VI.3.9 – Viscosidade

A viscosidade aparente (η) da salmoura foi determinada a 20^0C em reômetro Contraves, modelo Rheomat 30, acoplado a um banho termostático

Rheotherm 115, um programador Rheoscan 100 e um registrador gráfico Rikadenki. As medidas foram feitas na taxa de deformação de 245,3 s^{-1} em sistema MS0.

VI.3.10 – Densidade

A densidade da salmoura foi determinada através de leitura direta em densímetro digital DMA 48 da PAAR, a 20^0C.

VI.3.11 – Índice de Absorção de Água (IAA) e Índice de Solubilidade em Água (ISA)

O IAA e o ISA dos extrusados foram determinados em quadruplicata, segundo metodologia descrita por Anderson e colaboradores (1969).

O princípio básico da técnica é medir a capacidade de absorção de água e a solubilidade do material após o processamento. O material é moído, resuspenso em água e centrifugado. O IAA é dado pela relação entre o peso de precipitado e o peso do material seco (Equação VI.8), enquanto o ISA é dado pela relação entre o peso do que ficou no sobrenadante e o peso do material seco (Equação VI.9).

$$IAA = \left(\frac{Peso\ do\ precipitado}{Peso\ original\ da\ amostra} \right) \qquad \textit{Eq. VI.8}$$

$$ISA = \left(\frac{Peso\ do\ desidratado}{Peso\ original\ da\ amostra} \right) \times 100 \qquad \textit{Eq. VI.9}$$

Capítulo VII

Resultados e Discussão

VII.1 – Avaliação do efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção de proteínas

É sabido que as proteínas são as principais causadoras dos fenômenos de polarização de concentração e/ou *fouling* nos processos de separação com membranas, devido às suas características físico-químicas, tais como grau de hidrofobicidade, presença de cargas e estruturas conformacionais, que permitem a interação com outros componentes da mistura e/ou com a própria membrana. Desta forma, nesta etapa do trabalho foi avaliado o efeito da retenção nominal das membranas sobre a retenção das proteínas presentes na salmoura residual do processamento de lula.

VII.1.1 – Desempenho do processo

Na Figura VII.1 encontram-se as curvas de fluxo de permeado em função do tempo de processo, para as membranas de ultrafiltração testadas. As permeabilidades hidráulicas das membranas com retenção nominal de 10, 20, 50 e 100 kDa foram de 0,33, 0,45, 1,61 e 3,36 $L/h.m^2.kPa$, respectivamente.

O perfil das curvas é uma conseqüência dos fenômenos de polarização de concentração e *fouling*. A membrana de 100 kDa, de maior permeabilidade hidráulica, foi a que apresentou a maior queda de fluxo, já na primeira hora de processo, provavelmente pelo fato das moléculas dos solutos serem menores do que o tamanho médio dos poros da membrana, provocando, assim, o entupimento dos mesmos.

Afonso e Bórquez (2002) também observaram uma queda imediata do fluxo de permeado, quando trataram efluentes de uma indústria de processamento de peixe com uma membrana tubular mineral, com retenção nominal de 15 kDa. Os autores atribuíram a queda de fluxo à ação combinada

da adsorção de proteínas sobre a membrana com a formação de camada dinâmica.

Segundo Nyström e colaboradores (1998), a queda do fluxo é menor quando as proteínas são filtradas isoladas, sendo também menor o bloqueio dos poros da membrana quando se trabalha com uma única proteína. Como a salmoura residual do processamento de lula contém uma mistura de proteínas, era esperada uma considerável queda no fluxo de permeado.

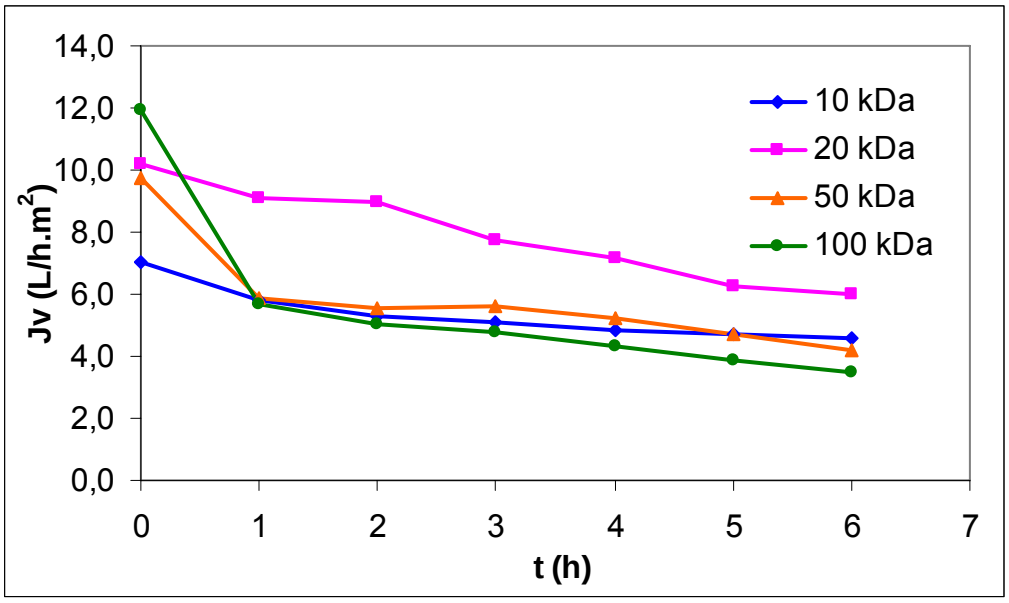


Figura VII.1. Perfil do fluxo permeado da salmoura em quatro diferentes membranas de ultrafiltração.

A membrana de 20 kDa, por outro lado, apresentou os maiores valores de fluxo, melhores, inclusive, do que aqueles observados com as membranas de 50 e 100 kDa. Isto provavelmente ocorreu devido ao fato de que as membranas com maior retenção nominal são mais suscetíveis ao entupimento do que aquelas com menor retenção nominal.

Este fenômeno também foi observado por Chamchong e Noomhorm (1991) e Fukumoto e colaboradores (1998). Quando processaram sucos de frutas em membranas de ultrafiltração e microfiltração, estes autores verificaram que algumas membranas de menor retenção nominal apresentaram maior fluxo que as de maior retenção nominal.

Os fatores de concentração obtidos nos processos de ultrafiltração foram calculados pela Equação VI.3 e estão listados na Tabela VII.1. A membrana de 20 kDa apresentou o maior fator de concentração, 1,7, mostrando-se a mais eficiente na concentração de proteínas, nas condições de processo estudadas. A membrana de 100 kDa, que possui maior permeabilidade hidráulica, foi a mais afetada pelos problemas de entupimento (Figura VII.1). Embora tenha apresentado o melhor fluxo de permeado no início do processo, em torno de 12 $L/h.m^2$, após uma hora de processamento já apresentava valores de fluxo inferiores aos da membrana de 10 kDa.

Tabela VII.1. Fatores de concentração obtidos nos processos de ultrafiltração da salmoura residual.

Membranas	Fator de concentração
10 kDa	1,5
20 kDa	1,7
50 kDa	1,5
100 kDa	1,4

Estes resultados mostram que a membrana com retenção nominal de 20 kDa apresentou o melhor desempenho na recuperação de proteínas, pois os melhores fluxos de permeado e o maior fator de concentração foram obtidos quando ela foi utilizada. Além disso, para esta membrana, a redução do fluxo

permeado com o tempo foi contínua, como pode ser observado pelo gráfico da Figura VII.1, o que sugere que ela sofreu mais com o problema de *fouling* do que com o fenômeno de polarização de concentração, que se caracteriza por uma queda brusca do fluxo permeado nos primeiros minutos de operação.

Estudos realizados com diversas membranas de ultrafiltração, de diferentes materiais e retenção nominal, para determinar a contribuição da adsorção de proteínas para o *fouling* durante a recuperação de proteínas das águas residuais da produção de surimi, mostraram que membranas de polisulfona e polisulfona sulfonatada apresentaram uma forte afinidade pelas proteínas presentes no resíduo, enquanto nenhuma adsorção foi observada para membranas de celulose regenerada, que é um material hidrofílico. Uma membrana de 100 kDa teve seu fluxo permeado reduzido pelo *fouling* em poucos minutos de operação, passando a se comportar como uma membrana de 10 kDa (Afonso e Bórquez, 2002)

Teixeira e colaboradores (1998), ao estudarem o processamento de soro ácido de queijo por ultrafiltração, verificaram a necessidade de aumentar a pressão aplicada à membrana, a fim de compensar a queda do fluxo de permeado causada pela polarização da concentração.

Diversos fatores, tais como atrações eletrostáticas, pH da solução, hidrofobicidade da membrana, entre outros, vêm sendo estudados a fim de se minimizar o problema de adsorção de proteínas e possibilitar a manutenção do fluxo de permeado (Ho e Zydney, 1999; Noordman e Colaboradores, 2002; Afonso e Bórquez, 2002).

Este problema de adsorção de proteínas também afeta o rendimento do processo; embora as proteínas sejam retidas pela membrana, não são completamente recuperadas, haja visto o não fechamento dos balanços de massa, que evidencia a adsorção de algumas proteínas pela membrana.

VII.1.2 – Proteína total

Os teores de proteínas totais presentes na salmoura, antes e após a ultrafiltração, estão apresentados na Figura VII.2. A fração retida obtida com a membrana de 20 kDa apresentou teor de proteína de 7,9 g/L, maior do que aqueles obtidos com as demais membranas testadas.

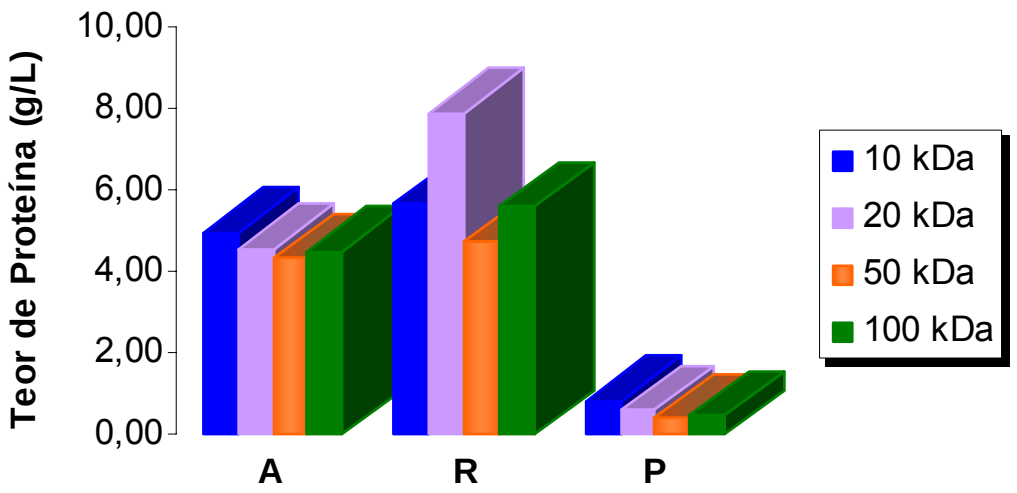


Figura VII.2. Teor de proteínas da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas.

A presença de proteínas nos permeados pode ser explicada pelo fato de que as membranas possuem uma distribuição no tamanho dos poros, fazendo com que não apresentem 100% de rejeição a um determinado soluto. Uma outra possibilidade é que peptídeos que permearam a membrana tenham sido detectados pelo método de Lowry.

Resultados semelhantes foram observados por Lo e colaboradores (2005), que utilizaram uma membrana de polisulfona de 30 kDa para tratar

água residual do processamento avícola e conseguiram reter quase todas as proteínas presentes no resíduo.

VII.1.3 – Turbidez

A turbidez é um dos parâmetros utilizados para se verificar o desempenho de um tratamento de efluentes. No gráfico da Figura VII.3 estão apresentados os resultados de turbidez para a salmoura residual do processamento de lula antes e após a ultrafiltração. Embora a salmoura tenha apresentado valores de turbidez diferentes a cada processamento, observa-se, pelo gráfico, que as quatro membranas testadas foram eficientes na redução da turbidez do resíduo.

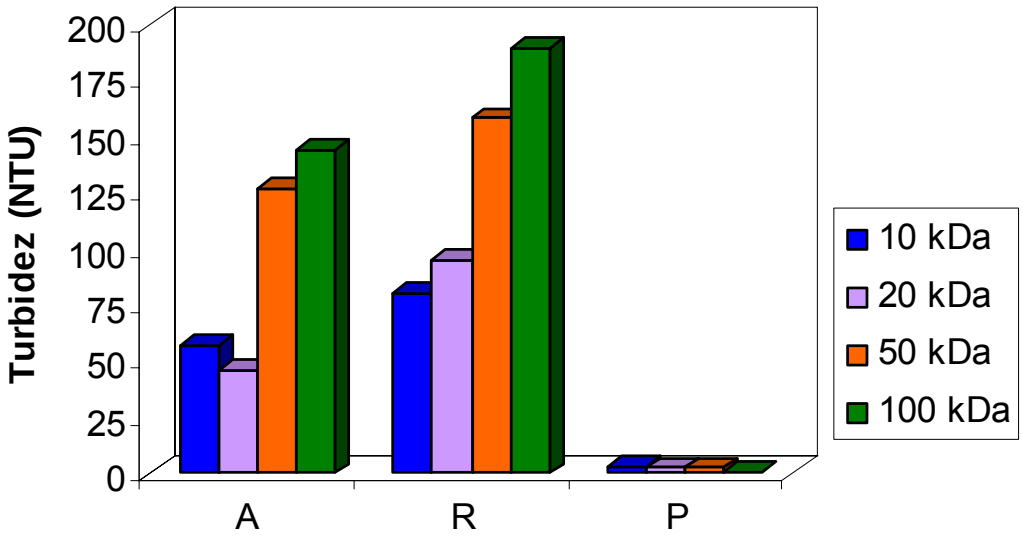


Figura VII.3. Valores de turbidez da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas.

Os permeados obtidos apresentaram redução de turbidez acima de 95,0%, sendo que a maior redução de turbidez, 99,7%, foi observada com a membrana de 100 kDa, quando a turbidez da salmoura, 143,9 NTU, caiu para 0,4 NTU no permeado. Estes resultados estão de acordo com o esperado, uma vez que as membranas de ultrafiltração testadas neste trabalho poderiam reter as proteínas presentes na salmoura.

Lin e colaboradores (1995) também observaram alta redução na turbidez quando recuperaram proteínas do resíduo de processamento de surimi, com uma membrana de 30 kDa. Segundo os autores, o permeado da ultrafiltração da água residual foi muito limpo, indicando a possibilidade de reciclagem desta água de processo.

VII.1.4 – Teor de sólidos totais e pH

Na Tabela VII.2 estão apresentados os resultados referentes às análises de pH e teor de sólidos totais. Os valores de pH da salmoura mantiveram-se praticamente inalterados com o processo de ultrafiltração, mantendo-se na faixa da neutralidade.

A retenção nominal da membrana não afeta o pH da salmoura; entretanto, o pH da salmoura influencia no fluxo de permeado, visto que a salmoura residual do processamento de lula apresenta proteínas, as quais podem mudar de conformação em função do pH do meio em que se encontram.

Com relação ao teor de sólidos totais, estes diminuíram cerca de 24,7%; 26,7%; 32,5% e 28,3% nos permeados das membranas de 10, 20, 50 e 100 kDa, respectivamente.

Tabela VII.2. Teores de sólidos totais (ST) e valores de pH da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas.

Membranas	pH			S. T. (% p/p)		
	A	R	P	A	R	P
10 kDa	7,09	7,06	7,14	2,15	2,16	1,62
20 kDa	7,05	6,82	6,98	2,25	2,37	1,65
50 kDa	7,26	7,22	7,25	1,63	1,74	1,28
100 kDa	7,24	7,27	7,30	1,84	1,76	1,32

A pequena redução do teor de sólidos totais, observada no retido do processamento com a membrana de 100 kDa, pode ser explicada pelo fato de que esta membrana foi a que mais sofreu com os problemas de *fouling*, como mostra a figura VII.1.

Os sais minerais também contribuem para o *fouling* das membranas, pois podem precipitar sobre as mesmas por causa de baixa solubilidade ou por interações de carga com a membrana. Quanto maior o pH menor é a solubilidade dos sais e maiores as chances de *fouling*. O cloreto de sódio, sal utilizado no preparo da salmoura, pode mudar o ambiente iônico do meio, afetando as interações soluto-soluto e soluto-membrana (Cheryan, 1998).

VII.1.5 – Concentração de cloreto e de nitrogênio total

Na Tabela VII.3 estão apresentados os resultados referentes às análises de cloreto e de nitrogênio total da salmoura, antes e após a ultrafiltração.

A concentração de cloreto não foi afetada pela retenção nominal das membranas, pois as membranas de ultrafiltração não apresentam rejeição a sais e íons. As pequenas variações observadas neste parâmetro estão dentro dos limites de erro para esta análise.

A redução na concentração de nitrogênio total, observada após a ultrafiltração, deve-se ao fato de que parte do nitrogênio total, presente na salmoura, é relativa às proteínas, que foram retidas pelas membranas. Vale lembrar que em alimentos o nitrogênio total é relativo ao nitrogênio Kjeldahl, que não mede nitrito e nitrato.

Tabela VII.3. Concentração de cloreto e nitrogênio total da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas.

Membranas	Cloreto (mg/L)			Nitrogênio total (g/100g)		
	A	R	P	A	R	P
10 kDa	8170	7721	7811	0,16	0,15	0,07
20 kDa	8300	8122	8122	0,17	0,21	0,11
50 kDa	8121	6783	6604	0,11	0,15	0,02
100 kDa	8121	7318	7050	0,14	0,14	0,04

VII.1.6 – Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A salmoura apresentou valores de DQO de 8342, 8217, 6993 e 7875 mg/L, enquanto os permeados obtidos com as membranas de 10, 20 50 e 100 kDa, apresentaram DQO de 2254, 2676, 1150 e 1451 mg/L, respectivamente, como mostrado no gráfico da Figura VII.4.

Após o tratamento com membranas, observou-se uma redução na DQO do resíduo de 73% e 67%, com as membranas de 10 kDa e 20 kDa, respectivamente. Esta redução chegou a 84% e 82%, quando as membranas de 50 kDa e 100 kDa foram utilizadas. Estes resultados indicam que as membranas de ultrafiltração foram eficientes na redução da DQO do resíduo.

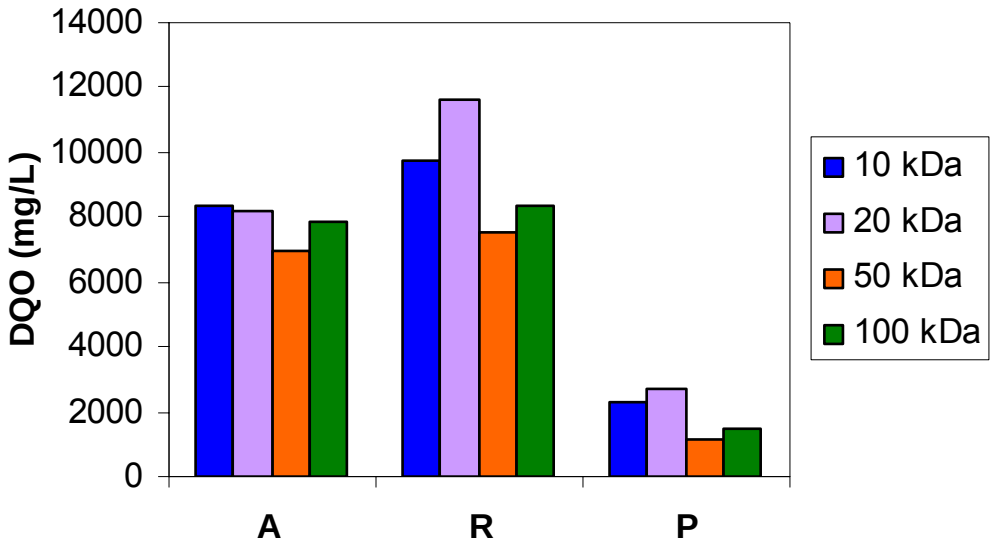


Figura VII.4. Demanda Química de Oxigênio da salmoura na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P), para as diferentes membranas testadas.

Trebouet e colaboradores (2001) obtiveram resultados semelhantes ao estudarem o tratamento de um chorume (lixiviado de aterro), combinando processos físico-químicos à nanofiltração. Os autores conseguiram redução da DQO na faixa de 70% a 80%, utilizando membranas de 450 Da.

Estes valores de redução da DQO, obtidos com as membranas de ultrafiltração, estão de acordo com a exigência de controle da NT CPRH N 2.001 (2003), que estabelece um percentual de redução da DQO de 60% para os efluentes da Indústria de Processamento de Peixes. Entretanto, a DZ-205.R-

5 (1991) estabelece que o limite de DQO para o efluente da Indústria de Pescado é menor que 500 mg/L, o que sugere que o resíduo ainda precisará ser tratado, embora possua uma menor carga poluidora.

VII.1.7 – Perfil eletroforético de proteínas

As análises de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) mostraram oito bandeamentos protéicos na salmoura e ausência de material protéico no permeado, para as quatro membranas testadas (Figura VII.5). Estes bandeamentos protéicos foram observados tanto na salmoura inicial (alimentação) quanto no retido obtido após os processamentos de ultrafiltração nas diferentes membranas.

Os bandeamentos ocorreram nas seguintes faixas de massa molar: 123, 89, 83, 77, 57, 42, 19 e 17 kDa, quando as membranas de 10 kDa e 20 kDa foram utilizadas. As membranas de 50 e 100 kDa apresentaram perfil de migração de cadeias semelhante, com faixas de massa molar de 121, 93, 86, 79, 59, 44, 20 e 18 kDa.

As frações de 42 kDa e 44 kDa, possivelmente, equivalem à actina, proteína miofibrilar presente no manto da lula. Entretanto, o bandeamento típico de miosina, cadeia pesada com massa molar de 200 kDa, pode não ter sido observado por problemas de desnaturação e conseqüente perda de solubilidade da proteína.

Huidobro e colaboradores (1998) recuperaram as proteínas solúveis da água de lavagem de surimi utilizando centrifugação e ultrafiltração em membrana de 30 kDa. Os perfis de migração de cadeias polipeptídicas em eletroforese mostraram que a água continha, principalmente, proteínas sarcoplasmáticas com massas molares menores que 67 kDa e uma pequena quantidade de proteínas miofibrilares de baixa massa molar.

A ausência de material protéico nos permeados, associada à diminuição dos teores de sólidos totais e nitrogênio total e a queda da turbidez e da DQO, evidencia que as membranas de ultrafiltração foram eficientes na redução da carga poluidora da salmoura residual do processamento de lula em conserva.

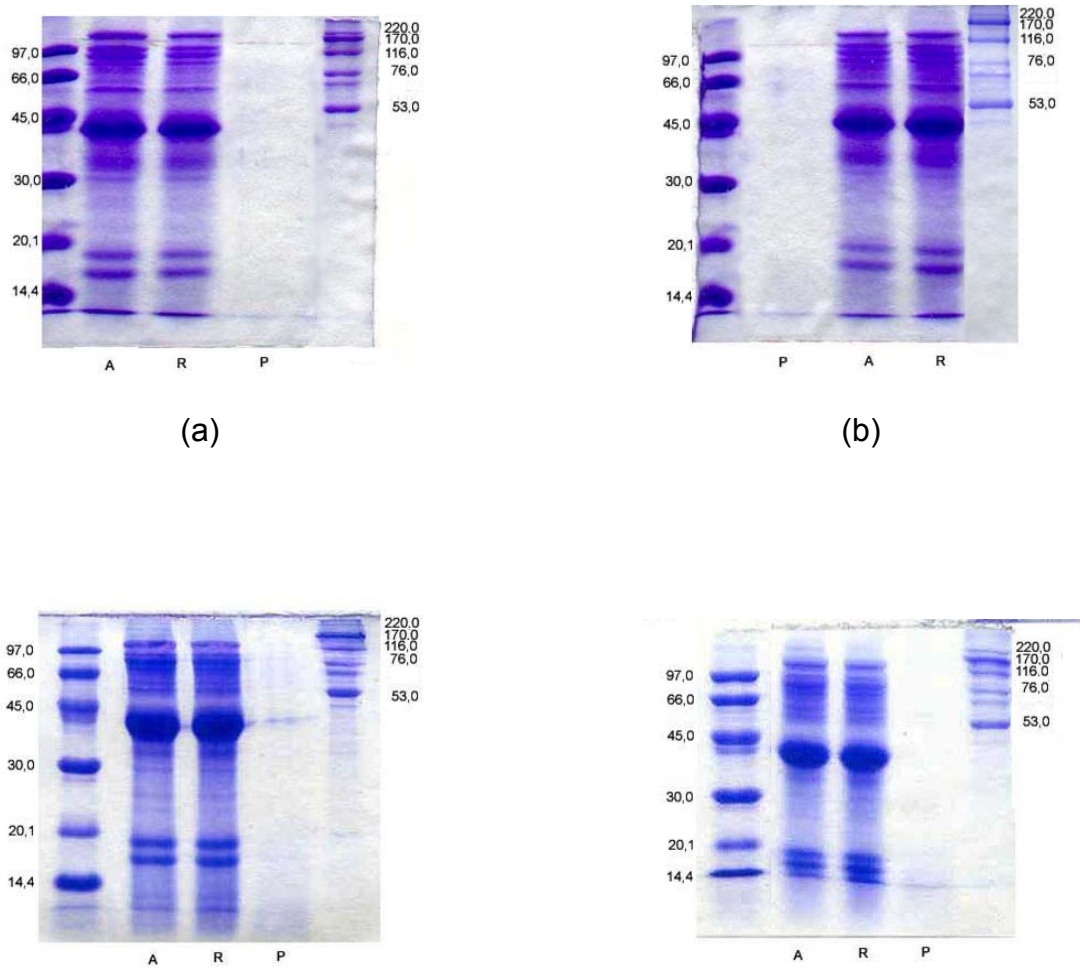


Figura VII.5. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) das três correntes de processo, alimentação (A), retido (R) e permeado (P) com as diferentes membranas testadas: 10 kDa (a), 20 kDa (b), 50 kDa (c) e 100 kDa (d).

VII.2 – Avaliação do efeito do pH da salmoura sobre a retenção de proteínas

A membrana plana de polisulfona, com retenção nominal de 100 kDa, embora tivesse apresentado a melhor permeabilidade hidráulica (3,36 $L/h.m^2.kPa$), foi a mais afetada pelos problemas de redução do fluxo permeado. Desta forma, foi a escolhida para esta etapa do trabalho, visto que, em geral, mudanças no pH afetam a solubilidade e a conformação dos componentes da alimentação.

VII.2.1 – Desempenho do processo

Na Figura VII.6 encontram-se as curvas de fluxo de permeado em função do tempo de processo, obtidas com a membrana de 100 kDa, no pH original da salmoura residual, em torno de 7,0, e com o pH da salmoura ajustado para 5,0.

Verifica-se que o perfil do fluxo de permeado é o mesmo, independentemente do pH testado, com uma grande redução na primeira hora de processo. Contudo, os valores de fluxo obtidos durante a ultrafiltração, quando a salmoura residual teve seu pH modificado para 5,0, foram ainda menores do que aqueles obtidos no pH original da salmoura.

O fator de concentração alcançado quando a salmoura teve seu pH ajustado para 5,0 foi de 1,3, praticamente o mesmo valor obtido com a salmoura em seu pH original, 1,4.

O ajuste do pH da salmoura para 5,0, valor inferior ao original, não melhorou as condições de retenção de proteínas por ultrafiltração. As possíveis mudanças conformacionais sofridas pelas proteínas, neste valor de pH,

acabaram por aumentar os problemas de bloqueio de poros da membrana, com conseqüente redução do fluxo de permeado.

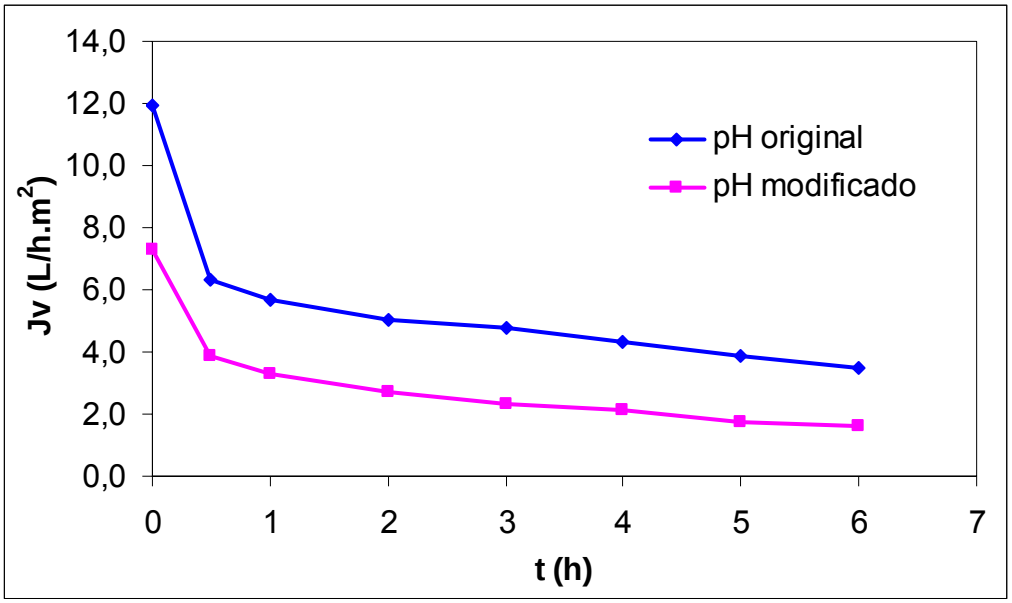


Figura VII.6. Perfil do fluxo permeado da salmoura residual em seu pH original (aproximadamente 7,0) e com pH modificado (aproximadamente 5,0).

A diminuição do fluxo de permeado em valores mais baixos de pH também foi observada por Trebouet e colaboradores (2001) quando trabalharam com membranas poliméricas tubulares, carregadas negativa e positivamente. Os autores reportam que o aumento do *fouling* em baixos valores de pH pode ser explicado pelos efeitos eletrostáticos, que reduzem a repulsão entre a superfície da membrana negativamente carregada e as macromoléculas das substâncias.

Noordman e colaboradores (2002), em seu estudo sobre a concentração e dessalinização de soluções de proteínas por ultrafiltração, observaram que os fluxos de permeado são maiores quando o pH da solução é o mais distante possível do pI da proteína.

Entretanto, Darnon e colaboradores (2002) relataram que, para valores de pH próximos ao pI da proteína, as diferenças entre misturas complexas e soluções com a proteína isolada são notáveis.

Outro fator que pode ter colaborado para os menores valores de fluxo permeado, observados quando a salmoura teve seu pH modificado para 5,0, é a presença de sal no resíduo. Lo e colaboradores (2005) relatam que a maior adsorção de BSA sobre membranas de policloreto de vinila ocorre no pI da proteína, em presença de sais.

Por outro lado, os sais presentes na solução têm sua solubilidade diminuída em valores mais elevados de pH, precipitando sobre a membrana, o que também acarretaria diminuição do fluxo permeado.

Estes resultados sugerem que novas faixas de pH devem ser testadas para ultrafiltração da salmoura residual, de preferência em valores afastados do pIs das principais proteínas presentes na salmoura, em torno de 5,0, para que maiores fluxos sejam alcançados, com melhor retenção de proteínas.

VII.2.2 – Proteína total

Os resultados das análises de proteínas presentes na salmoura, antes e após a ultrafiltração, estão apresentados na Figura VII.7. A salmoura que teve o pH modificado apresentou teor de proteínas no retido de 4,5 g/L, menor do que o verificado na alimentação, 5,1 g/L.

O teor de proteínas no permeado obtido a partir da salmoura com pH modificado foi de 2,1 g/L, maior do que no permeado obtido quando a salmoura estava em seu pH original.

A diminuição do pH da salmoura, ao contrário do desejado, facilitou a permeação de algumas moléculas através da membrana, diminuindo a retenção de proteínas pela mesma.

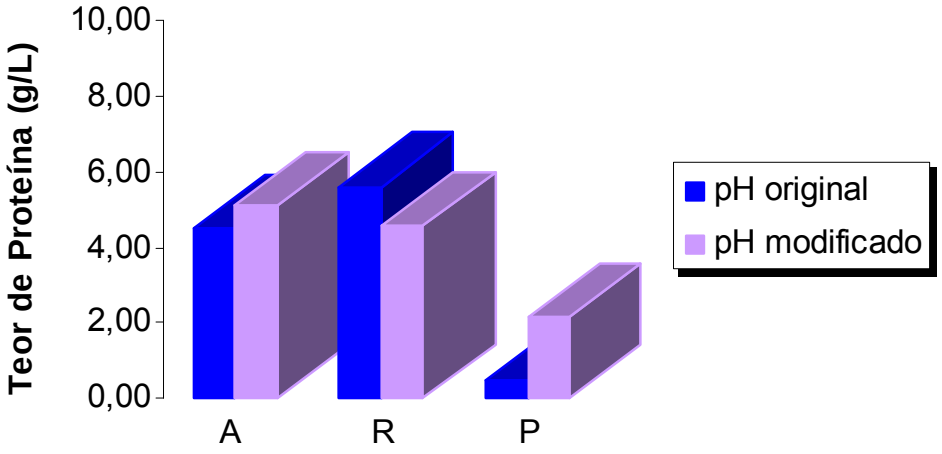


Figura VII.7. Teor de proteínas presentes na salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P).

Segundo Nyström e colaboradores (1998), os melhores valores de pH para se fracionar soluções de proteínas por ultrafiltração são aqueles iguais ao pI de uma das proteínas, pois a mesma permearia a membrana, enquanto as outras proteínas presentes na solução ficariam retidas.

VII.2.3 – Turbidez

Os resultados apresentados na Figura VII.8 mostraram que a turbidez dos permeados obtidos diminuiu praticamente 100% em relação à salmoura inicial, para os dois valores de pH testados.

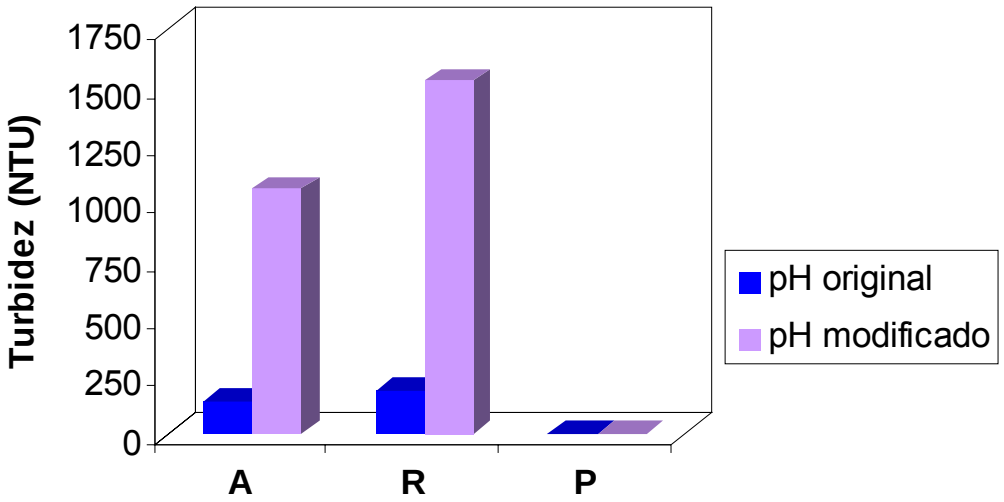


Figura VII.8. Turbidez da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P).

O alto valor de turbidez observado para o retido obtido a partir da salmoura de pH modificado (Figura VII.8) pode ser explicado pelo fato de que em determinados valores de pH as proteínas podem coagular, aumentando a turbidez do meio em que se encontram. De fato, a salmoura residual, que teve seu pH ajustado para 5,0, já apresentava turvação na hora em que foi alimentada ao sistema de ultrafiltração.

VII.2.4 – Teor de sólidos totais, concentração de cloreto e nitrogênio total

Na Tabela VII.4 estão apresentados os resultados das análises de sólidos totais, concentração de cloreto e nitrogênio total da salmoura residual, antes e após a ultrafiltração, nos dois valores de pH testados.

O teor de sólidos totais e a concentração de cloreto não foram influenciados pela modificação do pH da salmoura; já a concentração de nitrogênio foi maior no permeado obtido com a salmoura em pH modificado. Este fato também evidencia que a modificação do pH para 5,0 prejudicou a retenção de proteínas, visto que a concentração de nitrogênio total é basicamente relativa à quantidade de proteína que foi capaz de permear a membrana.

Tabela VII.4. Teor de sólidos totais, concentração de cloreto e nitrogênio total da salmoura antes e após a ultrafiltração

Salmoura	***pH original (7,0)***			***pH modificado (5,0)***		
	A	**R**	**P**	**A**	**R**	**P**
Sólidos totais (% p/p)	1,84	1,76	1,32	2,49	2,25	1,96
Cloreto (mg/L)	8121	7318	7050	9817	8925	8568
Nitrogênio total (mg/100g)	0,14	0,14	0,04	0,17	0,15	0,10

A - alimentação, R - retido, P - permeado

VII.2.5 – Demanda Química de Oxigênio

Os resultados relativos à demanda química de oxigênio (DQO) da salmoura, antes e após a ultrafiltração, estão mostrados na Figura VII.9.

O permeado obtido com a salmoura em seu pH natural apresentou redução da DQO em torno de 82%, enquanto na salmoura com pH modificado a redução observada foi de apenas 54%. De fato, a modificação do pH da salmoura gerou um permeado com uma maior carga poluidora.

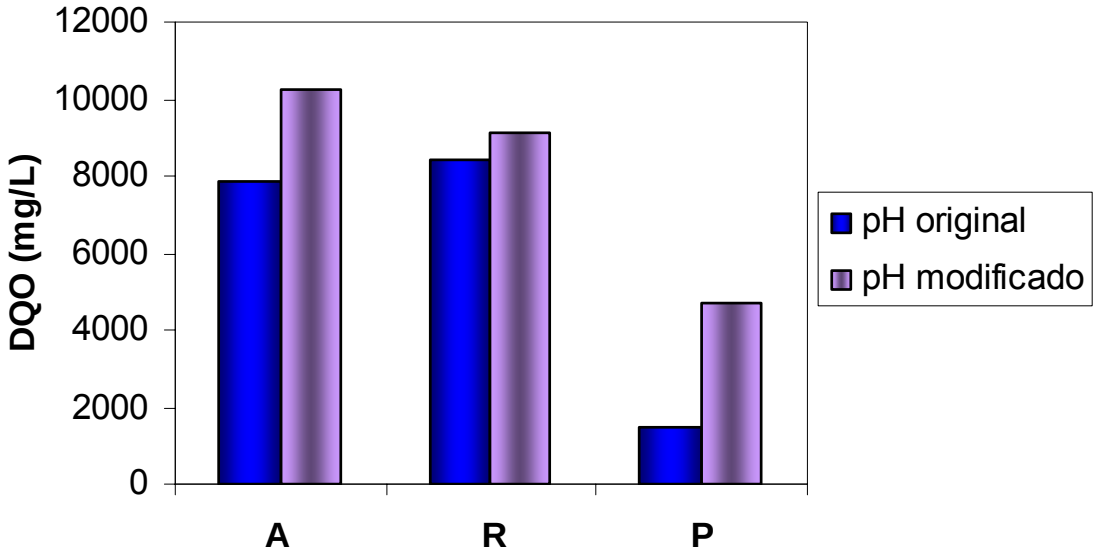


Figura VII.9. Demanda Química de Oxigênio da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0) nas três correntes de processo: alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P).

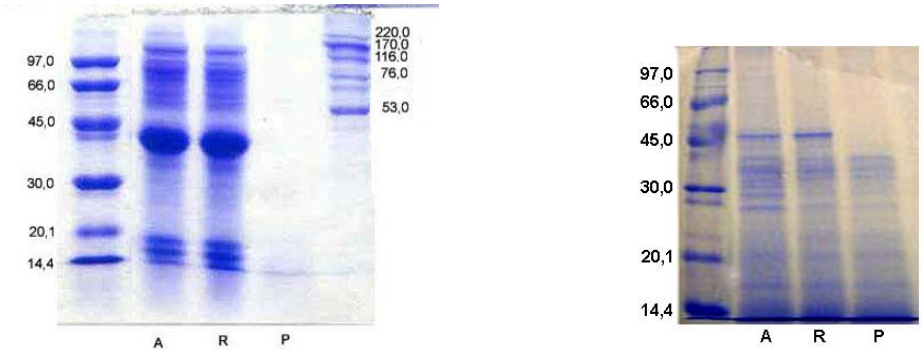
Os resultados obtidos mostraram que o pH da salmoura influencia a retenção de proteínas pela membrana de ultrafiltração. Contudo, o valor de pH testado, 5,0, não foi o ideal para melhorar a recuperação das proteínas; ao contrário, permitiu a permeação de algumas proteínas que se perdem junto com o resíduo, e, conseqüentemente, aumentam a carga poluidora do mesmo.

VII.2.6 – Perfil eletroforético de proteínas

As análises de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) da ultrafiltração da salmoura no seu pH original (7,0) e com o pH ajustado para 5,0 estão apresentadas na Figura VII.10.

Quando a salmoura foi ultrafiltrada em seu pH natural, em torno de 7,0, o perfil eletroforético de proteínas mostrou bandeamentos protéicos tanto na

alimentação quanto no retido e ausência de material protéico no permeado. Porém, o perfil eletroforético de proteínas da salmoura que teve seu pH ajustado para 5,0 apresentou bandeamentos protéicos nas três correntes de processo, alimentação (A), retido (R) e permeado (P), como pode ser observado na Figura VII.10.



pH original **pH modificado**

Figura VII.10. Eletroforese em gel da salmoura em seu pH original (7,0) e com o pH modificado (5,0), nas três correntes de processo, alimentação (A), retido (R) e permeado (P), da ultrafiltração com a membrana de 100 kDa.

As mudanças de pH influenciam a conformação e a solubilidade das proteínas. A modificação do pH para 5,0 acarretou na permeação de moléculas de proteína através da membrana, resultando nos bandeamentos protéicos observados para a corrente de permeado.

A presença de material protéico nos permeados, aliada aos teores de proteína total, DQO e nitrogênio verificados, evidencia que a modificação do pH da salmoura para 5,0 prejudicou a recuperação de proteínas pela membrana de ultrafiltração.

VII.3 – Avaliação do efeito da velocidade tangencial e da pressão transmembrana sobre o fluxo de permeado.

VII.3.1 – Caracterização da salmoura

A salmoura residual do processamento de lula em conserva foi caracterizada quanto à viscosidade aparente (η), densidade e pH. Os resultados destes parâmetros estão apresentados na Tabela VII.5.

A viscosidade aparente aumentou quando a taxa de deformação foi aumentada, caracterizando comportamento de fluido dilatante. À taxa de deformação de 245,3 s^{-1}, a viscosidade aparente foi de 0,83 mPa.s.

De acordo com o esperado, a salmoura residual apresentou densidade de 1,01 g/cm^3 e pH praticamente neutro.

Tabela VII.5. Caracterização da salmoura residual

Parâmetros	Salmoura residual
Viscosidade aparente (mPa.s)	0,83
Densidade (g/cm^3)	1,1
pH	6,67

VII.3.2 – Desempenho do processo

As permeabilidades hidráulicas das membranas com retenção nominal de 50 kDa e 20 kDa foram 0,38 $L/h.m^2.kPa$ e 0,05 $L/h.m^2.kPa$, respectivamente.

A Figura VII.11 mostra as curvas de fluxo de permeado da salmoura residual em função da pressão transmembrana, para as três velocidades tangenciais, 0,4 m/s, 0,6 m/s e 1,2 m/s, quando a membrana de 50 kDa foi usada. As curvas de fluxo de permeado obtidas com a membrana de 20 kDa estão apresentadas na Figura VII.12.

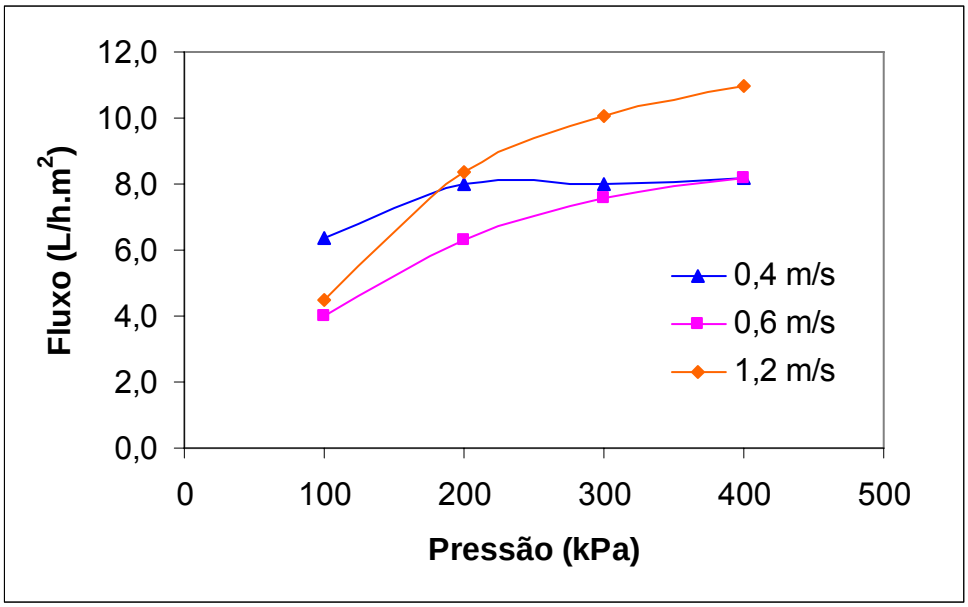


Figura VII.11. Perfil do fluxo de permeado da salmoura residual com a pressão transmembrana para a membrana de 50 kDa

O efeito positivo da pressão sobre o fluxo de permeado foi observado para as três vazões de alimentação em ambas as membranas. A elevação da velocidade tangencial de 0,6 m/s para 1,2 m/s causou um aumento de 50% no fluxo de permeado, na maior pressão testada, 400 kPa, com a membrana de 50 kDa (Figura VII.11).

Entretanto, com a velocidade tangencial de 0,4 m/s, o máximo fluxo de permeado foi alcançado a 200 kPa. Este comportamento mostra que, em

valores menores de velocidade tangencial, a membrana de ultrafiltração é mais afetada pelo fenômeno de *fouling*, e quando o fluxo limite é atingido, o aumento da pressão não tem efeito positivo sobre o fluxo de permeado.

Este é um comportamento típico de membranas de ultrafiltração que operam com alimentação tangencial. O aumento da pressão provoca aumento do fluxo de permeado; que, por sua vez, gera uma maior concentração de espécies retidas próximo à superfície da membrana, acarretando diminuição do fluxo de permeado. Desta forma, a partir de um determinado valor de pressão, um aumento adicional da mesma corresponde a um aumento equivalente na resistência ao transporte do solvente, devido à polarização de concentração. Conseqüentemente, o fluxo permanece inalterado com o aumento da pressão (Habert e colaboradores, 2003).

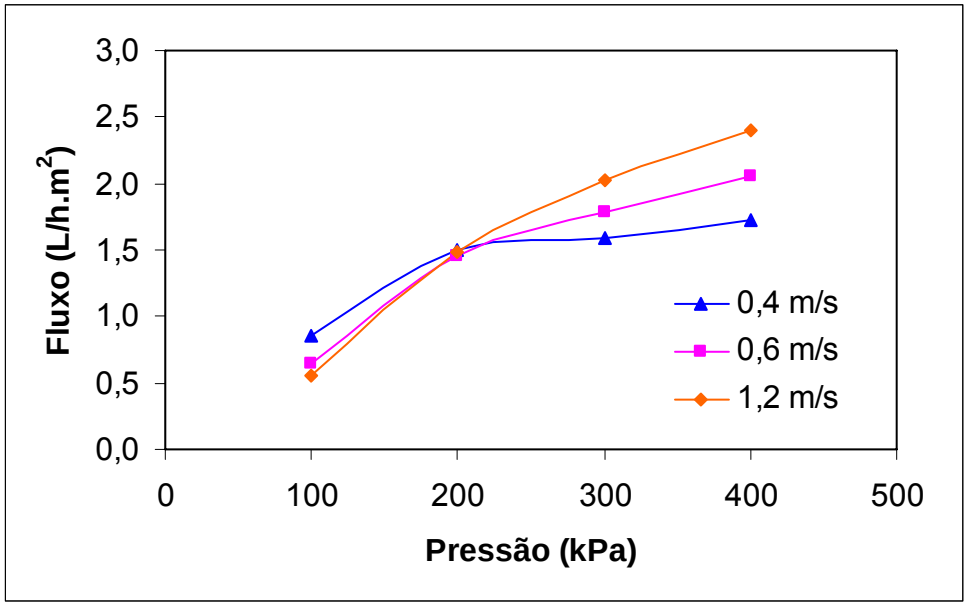


Figura VII.12. Perfil do fluxo de permeado da salmoura residual com a pressão transmembrana para a membrana de 20 kDa

Estes resultados também foram observados por Lin e colaboradores (1995) e Huang e Morrisey (1998). De acordo com os autores, o fluxo de permeado não pode mais ser aumentado depois que ocorre a polarização de gel sobre a membrana, e ele pode, eventualmente, diminuir com o aumento da pressão, devido à compactação da camada de gel.

Como mostrado na Figura VII.12, um comportamento similar foi observado para a membrana de 20 kDa, na velocidade tangencial de 0,4 m/s. A partir da pressão de 200 kPa, o fluxo fica quase independente da pressão transmembrana. Depois deste ponto, um pequeno aumento de fluxo foi observado com o aumento da pressão.

Resultados semelhantes foram obtidos no estudo realizado por Mameri e colaboradores (1996), sobre recuperação e concentração de proteínas utilizando membranas de ultrafiltração cerâmica e polimérica. Os autores reportaram que os coeficientes de retenção de proteínas foram independentes da velocidade tangencial e da pressão transmembrana utilizadas.

Teixeira e colaboradores (1998), quando avaliaram a influência da pressão transmembrana sobre o fluxo de permeado, durante a ultrafiltração do soro de queijo, verificaram um aumento do fluxo com o aumento da pressão, que foi necessário a fim de compensar a queda do fluxo causada pela polarização da concentração.

Quando avaliaram os efeitos da velocidade tangencial e do fluxo de permeado sobre a seletividade, durante a ultrafiltração de proteínas, Ghosh e Cui (2000) observaram que, para uma dada velocidade tangencial, a seletividade depende do fluxo de permeado. Em valores de fluxo muito altos ou muito baixos a seletividade é independente da velocidade tangencial. Na faixa intermediária de fluxo de permeado, na qual muitos processos de ultrafiltração são conduzidos, a seletividade aumenta com o aumento da velocidade tangencial.

Afonso e Bórquez (2002) estudaram as condições de operação ótimas para a concentração de um efluente de uma indústria de peixe, por ultrafiltração. Seus experimentos foram conduzidos em uma unidade piloto, com membrana de ultrafiltração mono-tubular de 15 kDa, à temperatura ambiente, pH natural e circulação total das correntes de processo. Após variarem a pressão transmembrana e a velocidade tangencial, observaram que os maiores fluxos de permeado e a maior rejeição de proteínas foram obtidos a 400 kPa de pressão e velocidade tangencial de 4 m/s.

Embora maiores fluxos de permeado sejam desejáveis, as características da corrente de alimentação devem ser consideradas quando da definição das condições de operação. De acordo com Lin e colaboradores (1995) e Huang e Morrisey (1998), altas vazões de alimentação podem causar desnaturação ou ruptura das proteínas, devido ao excessivo estresse a que as moléculas são submetidas.

VII.4 – Avaliação de uma aplicação para as proteínas recuperadas por ultrafiltração.

Nesta etapa do trabalho, o retido de salmoura, que contém as proteínas recuperadas, foi empregado na formulação de um extrusado de arroz. Os *pellets* obtidos podem ser expandidos, através da fritura, e utilizados para consumo humano.

VII.4.1 – Índice de Absorção de Água

O Índice de Absorção de Água (IAA) indica a quantidade de água absorvida pelos grânulos de amido de uma determinada amostra submetida a um tratamento térmico (Carvalho e colaboradores, 2002).

Na Tabela VII.6 está apresentado o IAA dos *pellets* produzidos pela extrusão de arroz + retido de salmoura a 80 rpm, nos três teores de umidade testados, 25%, 30% e 35%.

Tabela VII.6. Índice de Absorção de Água dos *pellets* de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm.

Umidade (%)	IAA
25	4,87
30	5,01
35	5,79

Verifica-se que os IAAs tendem a aumentar com o aumento do teor de umidade nas formulações. Acredita-se que tal comportamento se deva à menor degradação sofrida pelo amido em amostras com maior teor de umidade, e conseqüentemente, maior absorção de água.

El-Dash e colaboradores (1983) demonstraram que há uma relação indireta entre a umidade de processamento e o grau de degradação.

VII.4.2 – Índice de Solubilidade em Água

O índice de Solubilidade em Água (ISA) está relacionado à quantidade de sólidos solúveis em uma amostra seca, permitindo verificar o grau de severidade do tratamento térmico (Owusu-Ansah e colaboradores, 1984). Segundo El-Dash e colaboradores (1983), o ISA aumenta com a severidade do tratamento.

Os resultados de ISA para os *pellets* produzidos pela extrusão de arroz + retido de salmoura a 80 rpm, nos três teores de umidade testados, 25%, 30% e 35%, estão apresentados na Tabela VII.7

Tabela VII.7. Índice de Solubilidade em Água dos *pellets* de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm.

Umidade (%)	ISA
25	4,08
30	2,68
35	2,79

Analisando a Tabela VII.7, verifica-se que a formulação contendo 25% de umidade apresenta maior ISA, sugerindo que o amido sofreu maior degradação. O ISA das formulações com 30% e 35% de umidade foram similares. Tais resultados podem ter sido influenciados pelo teor de cloreto de sódio presente nas formulações, pois o sal compete com o amido pela água, mudando suas características de gelatinização.

VII.4.3 – Teor de nitrogênio total e proteína total

O teor de proteínas é proporcional ao teor de nitrogênio presente nos extrusados, podendo ser calculado a partir do fator de conversão de 6,25. Os resultados relativos às análises de nitrogênio total (Kjeldahl) e proteína total estão apresentados na Tabela VII.8.

De acordo com a Tabela VII.8, o teor de nitrogênio praticamente não variou em função da umidade das formulações. A menor quantidade de

proteínas observada para os extrusados, em torno de 6,8% em relação ao citado pela literatura (8,0%) pode ser explicada pelo fato de que o arroz utilizado como matéria-prima para a produção da farinha de arroz foi o arroz quirera, tipo de arroz que sofreu maior grau de extração.

Tabela VII.8. Teor de nitrogênio e proteína dos *pellets* de arroz + retido de salmoura produzidos a 80 rpm.

Umidade(%)	Nitrogênio total (g/100g)	Proteína (g/100g) = N x *6,25*
25	1,09	6,81
30	1,08	6,75
35	1,10	6,87

VII.4.4 – Imagens dos extrusados

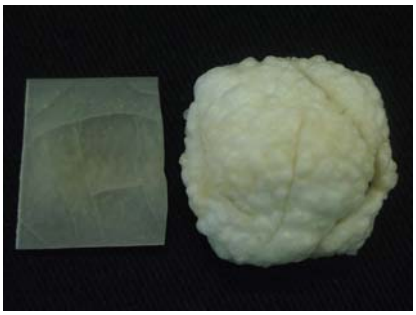
As imagens dos extrusados de arroz + retido de salmoura, nas três formulações testadas, 25%, 30% e 35% de umidade, antes e após a expansão estão apresentadas na Figura VII.13.

Analisando-se as imagens, observa-se que tanto os *pellets* quanto os expandidos, obtidos a partir da formulação com 25% de umidade, apresentaram rachaduras e, conseqüentemente, uma aparência não desejável para o produto final.

Já os *pellets* obtidos a partir das formulações com 30% e 35% de umidade não apresentaram rachaduras, gerando expandidos de melhor aparência final, após a fritura. Contudo, o extrusado obtido a 35% apresentou uma expansão maior do que o obtido a 30% de umidade.

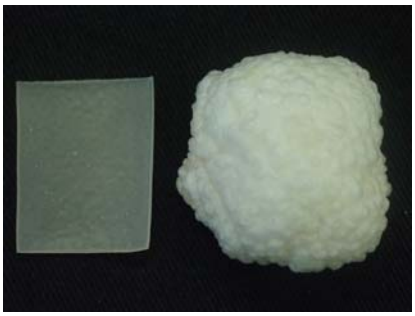
Esta melhor expansão pode estar relacionada à maior quantidade de proteína observada nos *pellets* obtidos a partir da formulação com 35% de umidade (Tabela VII.8), pois, segundo Ascheri (1997), o enriquecimento protéico é em muitos casos benéfico, devido à estabilização da estrutura e melhoria na textura e gosto do produto final.

Em vista dos resultados obtidos, a extrusão é uma boa alternativa de aplicação para proteínas recuperadas por ultrafiltração.



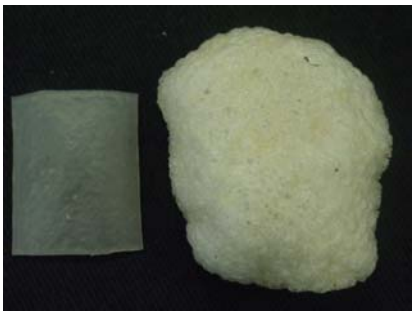
pellets expandido

(a)



pellets expandido

(b)



pellets expandido

(c)

Figura VII.13. Imagens comparativas dos extrusados de arroz + retido de salmoura nas três formulações testadas: (a) 25%, (b) 30% e (c) 35% de umidade.

Capítulo VIII

Conclusões

A partir dos resultados obtidos, pôde-se concluir que as membranas de ultrafiltração foram eficientes na recuperação das proteínas presentes nas águas residuais do processamento de lula em conserva.

A membrana com retenção nominal de 20 kDa apresentou o melhor desempenho na recuperação de proteínas, pois os melhores fluxos de permeado e o maior fator de concentração foram obtidos quando ela foi utilizada.

O pH e a concentração de cloreto da salmoura não foram significativamente influenciados pela retenção nominal das membranas.

A ausência de material protéico nos permeados, associada à diminuição do teor de sólidos totais e à redução da turbidez e da DQO, evidenciou que as membranas de ultrafiltração foram capazes de reduzir a carga poluidora da salmoura residual, o que facilita seu tratamento.

O pH da salmoura influenciou a retenção de proteínas durante a ultrafiltração. Contudo, a diminuição do pH da salmoura ocasionou menores valores de fluxo de permeado e, ao contrário do desejado, facilitou a permeação de algumas proteínas através da membrana, diminuindo sua retenção.

A presença de material protéico nos permeados, aliada aos teores de nitrogênio e DQO, mostrou que a diminuição do pH da salmoura prejudicou a recuperação de proteínas e, conseqüentemente, aumentou a carga poluidora do resíduo.

Conforme esperado, o efeito positivo da pressão sobre o fluxo de permeado foi observado para as três vazões de alimentação testadas nas duas membranas estudadas, 20 kDa e 50 kDa.

O aumento da velocidade tangencial de 0,6 m/s para 1,2 m/s causou um aumento de 59% no fluxo de permeado, na mais alta pressão testada, 400 kPa, quando a membrana de 50 kDa foi utilizada. Este comportamento não ocorreu à pressão transmembrana mais baixa.

O fluxo limite foi alcançado com a velocidade tangencial de 0,4 m/s, a 200 kPa, quando se utilizou a membrana com retenção nominal de 50 kDa.

Foi possível obter extrusados com o retido de salmoura. Os extrusados obtidos a partir da formulação com 35% de umidade foram os que apresentaram melhor Índice de Absorção de Água, bem como a melhor aparência do produto final expandido.

Desta forma, a extrusão mostrou-se uma boa alternativa para a aplicação das proteínas recuperadas por ultrafiltração.

Capítulo IX

Sugestões

Considerando-se a abrangência do tema do qual faz parte este trabalho de tese, ainda há muito para ser investigado dentro de um assunto de tamanho interesse, que é a recuperação e aplicação de proteínas. Desta forma, sugere-se que novos estudos sejam desenvolvidos, tais como:

- a avaliação do efeito do material da membrana sobre a retenção de proteínas presentes na salmoura residual do processamento de lula;

- a utilização de um sistema piloto de filtração, com o objetivo de otimizar a concentração das proteínas;

- a avaliação de outros valores de pH que favoreçam a recuperação de proteínas, ou mesmo seu fracionamento, objetivando a separação de alguma proteína específica;

- a utilização dos processos com membranas para a recuperação de proteínas presentes nas águas residuais dos processamentos de outros produtos, como, por exemplo, atum e camarão em conserva;

- a caracterização das proteínas recuperadas por técnicas de cromatografia líquida e/ou eletroforese capilar;

- a caracterização da espécie de lula que vem sendo capturada na região sudeste e, por conseguinte, foi empregada nos experimentos;

- a avaliação de outras formulações e outros parâmetros de processo para obtenção dos extrusados;

- a realização de uma análise sensorial dos extrusados obtidos a partir de farinha de arroz e retido de salmoura;

- a utilização do processo de extrusão para obtenção de outros produtos tais como *snacks* ou massas;

- a avaliação de outras aplicações para as proteínas recuperadas por ultrafiltração.

Capítulo X

Referências Bibliográficas

AFONSO, M. D.; BÓRQUEZ, R. Review of treatment of seafood processing wastewaters and recovery of proteins therein by membrane separation processes – prospects of the ultrafiltration of wastewaters from the fish meal industry. **Desalination**, v.142, p.29-45, 2002.

AFONSO, M. D., FERRER, J., BÓRQUEZ, R. An economic assessment of proteins recovery from fish meal effluents by ultrafiltration. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, p.506-512, 2004.

ALI, Y.; HANNA, M. A.; CHINNASWAMY, R. Expansion characteristics of extruded corn grits. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology**, v.29, p.702-707, 1996.

ALTMANN S. M. **The Actin - Myosin System**, 1998. Disponível em: http://www.emblheidelberg.de/CellBiophys/LocalProbes/motorproteins/actinfilament.jpg. Acesso em: julho de 2005.

AMERICAN ASSOCIATION OF CERAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9ed. St. Paul, 1995.

ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN. E. L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v.14, p.4-12, 1969.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 18ed. New York, 1992.

ASCHERI, J. L. R. **Extrusão termoplástica de amidos e produtos amiláceos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1997. 43p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. v.I, 16ed. Gaithersburg, 1997.

BEAN, M. M. Rice flour, its functional variations. **Cereal Foods World**, St. Paul, v.37, n.7, p.477-480, 1986.

BELLIDO. J.M.; PIERCE, G. J.; WANG, J. Modelling intra-annual variation in abundance of squid *Loligo forbesi* in Scottish waters using generalized additive models. **Fisheries Research**, v.52, p.23-39, 2001.

BENJAKUL, S.; SEYMOUR, T. A.; MORRISSEY, M. T.; AN, H. Characterization of proteinase recovered from pacific whiting surimi wash water. **Journal of Biochemistry**, v.22, p.1-16, 1998.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do Processamento de Alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 1992. 151p.

BOYLE, P. Fast and flexible: the cephalopod repertoire. **Biologist (London)**, v.47, n.4, p.171-175, 2000.

BRÜGGER, A. Reuse of filter backwash water using ultrafiltration technology. **Filtration & Separation**. V.37, p.22-26, 2000. Citado por SCHENEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso.** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Ambiental, 2001. 234p.

CABRAL, L.M.C. **Estudo morfológico de membranas sinterizadas a partir da mistura de poliestersulfona/polivinilpirrolidona**. 1994. 192 p. Tese de Doutorado. COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

_____ Recuperação de proteínas de um hidrolisado de soja através de processos com membranas. **In**: Anais do Congresso Brasileiro de Soja. Londrina, p.434, 1999.

CAMIRE, M. E.; CAMIRE, A.; KRUMHAR, K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.29, p.35-57, 1990.

CARDOT, C. Les Traitements de L'eau. **Ellipse Édition Marketing**, 1999. Citado por SCHENEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso.** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Ambiental, 2001. 234p.

CARIÉ. M. D.; MILANOVIÉ, S. D.; KRSTIÉ, D. M.; TEKIÉ, M. N. Fouling of inorganic membrane by adsorption of whey proteins. **Journal of Membrane Science**, v.165, p.83-88, 2000.

CARVALHO, R. V.; ASCHERI, J. L. R.; CAL-VIDAL, J. Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de pellets (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana**. Ciênc. Agrotec.**, v.26, n.5, p.1006-1018, 2002.

CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; NASCIMENTO, R. E.; CARVALHO, J. L. V. **Elaboração de *pellets* de arroz formulados com açúcar por extrusão**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2004. 2p. (Comunicado Técnico, 68).

CHAMCHONG, M.; NOOMHORM, A. Effect of pH and enzymatic treatment on microfiltration and ultrafiltration of tangerine juice. **Journal of Food Process Engineering**, v.14, p.21-34, 1991.

CHEFTEL, J. C. Nutritional effects of extrusion-cooking. **Food Chemistry**, v.20, p.263-283, 1986.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. Lancaster: Technomic Publishing Company Inc, 1998. 527p.

CHINNASWAMY, R. Basis of cereal starch expansion. **Carbohydrate Polymers**, v.21, p.157-167, 1993.

COHEN, D. L. Squid p196, a new member of the myosin-V class of motor proteins, is associated with motile axoplasmic organelles. **Brain Research**, v.890, p.233-245, 2001.

CÓRDOVA-MURUETA, J. H.; GARCIA-CORREÑO, F. L. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. **Aquaculture**, v.210, p.371-384, 2002.

CROOKES, W. J.; DING, L.; HUANG, Q. L.; KIMBELL, J. R.; HORWITZ, J.; McFALL-NGAI, M. J. Reflectins: the unusual proteins of squid reflective tissues. **Science**, v.303, p.235-238, 2004.

CUNHA, C. R.; SPADOTI, L. M.; ZACHARCHENCO, P. B.; VIOTTO, W. H. efeito do fator de concentração do retentado sobre o rendimento de queijo minas frescal de baixo teor de gordura fabricado por ultrafiltração. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.22, n.1, p.76-81, 2002.

CUPERUS, F. P. Membrane processes in agro-food: state-of-the-art and new opportunities. **Separation and Purification Technology**, v.14, p.233-239, 1998.

DARNON, E.; LAFITTE, L.; BELLEVILLE, M. P.; RIOS, G. M. A global approach of ultrafiltration of complex biological solutions. **Separation and Purification Technology**, v.26, p.283-293, 2002.

DZ-205.R-5. **Diretriz de Controle de Carga Orgânica em Efluentes Líquidos de Origem Industrial**. FEEMA, 1991.

DURHOLTZ, M. D.; KRETSINGER, R. H.; LIPINSKI, M. R. Unique proteins from the statoliths of *Lolliguncula brevis* (Cephalopoda: Loliginidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.123, p.381-388, 1999.

EBINA H.; NAGASHIMA, Y.; ISHIZAKI, S.; TAGUCHI, T. Myosin heavy chain-degrading proteinase from squid muscle. **Food Research International**, v.28, n.1, p.31-36, 1995.

EL-DASH, A. A.; GONZALES, R.; CIOL, M. Response surface in the control of thermoplastic extrusion of starch. **Journal of Food Engineering**, v.2, p.129-1152, 1983.

EL-DASHLOUTY, A. A.; EL-GEDAILY, A.; EL-BAHRAY, A. M.; ZAHRAN, N. A. Fatty acid composition and lipid changes of squid as influenced by storage and processing. **Egypt Journal of Food Science**, v.12, n.1-2, p.51-59, 1984.

ENSMINGER, A. H.; ENSMINGER, M. E.; KONLANDE, J. L.; ROBSON, J. R. K. **Foods & Nutrition Encyclopedia**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1994, v.1, 209p.

FAO. **Fisheries Sciences**. n.46, 1996. Statistics Series. v.78, n.128, 1994.

FERREIRA, L.F.D. **Degradação térmica da textura e cor no processamento de lula (*Dorytheutis brasiliensis*)**. 1999. 77p. Tese de Mestrado. Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

FIERENS, C.; THIENPONT, L. M.; STÖCKL, D.; DE LEENHEER, A. P. Overcoming practical for the application of ultrafiltration in sample preparation for liquid chromatography/mass spectrometry of small proteins. **Analytical Biochemistry**, v.285, p.168-169, 2000.

FUJII, T.; AHN, J-Y.; KUSE, M.; MORI, H.; MATSUDA, T.; ISOBE, M. A novel photoprotein from oceanic squid (*Symplectoteuthis oualaniensis*) with sequence similarity to mammalian carbon-nitrogen hydrolase domains. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.239, p.874-879, 2002.

FUKUMOTO, L. R.; DELAQUIS, P.; GIRAR, D. B. Microfiltration and ultrafiltration ceramic membranes for apple juice clarification. **Journal of Food Science**, v.63, n.5, 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.

GUIMARÃES, J. L.; ADELL, E. A.; FELÍCIO, P. E. **Estrutura e composição do músculo e tecidos associados.** Disponível em: http://www.fea.unicamp.br/deptos/dta/carnes/files/estrt.pdf. Acesso em: julho de 2005.

GUY, R. Raw materials for extrusion cooking. In: _____ **Extrusion cooking:** technologies and applications. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. Cap. 1, p.5-28.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NÓBREGA, R. **Processos de Separação com Membranas**. Rio de Janeiro: Escola Piloto em Engenharia Química, Programa de Engenharia Química, COPPE/UFRJ, 2003, 132p.

HASEGAWA, T.; IWASAKI, Y.; ISHIHARA, K. Preparation and performance of protein-adsorption-resistant asymmetric porous membrane composed of polysulfone/phospholipid polymer blend. **Biomaterials**, v.22, p.243-251, 2001.

HINRICHS, J. Incorporation of whey proteins in cheese. **International Dairy Journal**, v.11, p.495-503, 2001.

HO, C-C; ZYDNEY, A. L. Effect of membrane morphology on the initial rate of protein fouling during microfiltration. **Journal of Membrane Science**, v.155, p.261-275, 1999.

HUANG, L.; MORRISEY, M. T. Fouling of membranes during microfiltration of surimi wash water: roles of pore blocking and surface cake formation. **Journal of Membrane Science**, v.144, p.113-123, 1998.

HUANG, S. L., OU, C. F., LAI, J. Y. Surface composition and protein adsoption of polyurethane membrane. **Journal of Membrane Science**, v.161, p.21-29, 1999.

HUIDOBRO, A.; MONTERO, P.; BORDERÍAS, A. J. Emulsifying properties of an ultrafiltered protein from minced fish wash water. **Food Chemistry**, v.61, n.33, p.339-343, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo, 1985.

ITO, Y.; HABUCHI, O. Purification and characterization of *N*-acetylgalactosamine 4-sulfate 6-*O*-sulfotransferase from the squid cartilage. **The Journal of Biological Chemistry**, v.275, n.44, p.34728-34736, 2000.

JONES, K. L.; O'MELIA, C. R. Ultrafiltration of protein and humic substances: effect of solution chemistry on fouling and flux decline. **Journal of Membrane Science**, v. 193, p.163-173, 2001.

JULIANO, B. O.; HICKS, P. A. Rice functional properties and rice food products. **Food Reviews International**, v.12, n.1, p.71-103, 1996.

KAPLAN, M. C.; JÉGOU, A., CHAUFER, B.; RABILLER-BAUDRY, M.; MICHALSKY, M. C. Adsorption of lysozime on membrane material and cleaning

with non-ionic surfactant characterized through contact angle measurements. **Desalination**, v.146, p.149-154, 2002.

KONNO, K.; ARAI, K.; WATANABE, S. Myosin-linked calcium regulation in squid mantle muscle. Light-chain components of squid myosin. **Journal of Biochemistry**, v.86, n.6, p.1639-1650, 1979.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophagy t4, **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.

LEVESLEY, J. A.; HOARE, M. The effect of high frequency backflushing on the microfiltration of yeast homogenate suspensions for the recovery of soluble proteins. **Journal of Membrane Science**, v.158, p.29-39, 1999.

LIN, T. M.; PARK, I. W.; MORRISEY, M. T. Recovery protein and reconditioned water from surimi processing waste. **Journal of food Science**, v.60, n.1, p.4-9, 1995.

LO, Y. M.; CAO, D.; AGIN-SOYSAL, S.; WANG, J.; HAHM, T. Recovery of protein from poultry processing wastewater using membrane ultrafiltration. **Bioresource Technology**, v.96, p.687-698, 2005.

LOWRY, O. H.; ROSEMBROUH, N. J.; FARR, A. L, Randall, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.

MADAENI, S. S.; MOHAMAMDI, T.; MOGHADAM, M. K. Chemical cleaning of reverse osmosis membranes. **Desalination**, v.134, p.77-82, 2001.

MAIA, L. H. **Características químicas e propriedades funcionais do mingau desidratado de arroz e soja e, propriedades reológicas e sensoriais deste**

mingau reconstituído. 2000. 110p. Tese de Mestrado. Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MAMERI, N.; ABDESSEMED, D.; BELHOCINE, D.; LOUNICI, H.; GAVACH, C.; SANDEAUX, I. SANDEAUX, R. Treatment of fisherywashing water by ultrafiltration. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.67, n.2, p.169-175, 1996.

MARTÍN, A.; MARTÍNEZ, F.; CALVO, J. I.; PRÁDANOS, P.; PALACIO, L.; HERNÁNDEZ, A. Protein adsorption onto inorganic microfiltration membrane: solute-solid interactions and surface coverage. **Journal of Membrane Science**, v.207, p.199-207, 2002.

MATTA, V. M. **Estudo da utilização dos processos de separação por membranas para obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado.** 1999. 181p. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

MEACLE, F.; AUNINS, A.; THORNTON, R.; LEE, A. Optimization of the membrane purification of a polysaccharide-protein conjugate vaccine using backpulsing. **Journal of membrane Science**, v.161, p.171-184, 1999.

MIURA-YOKOTA, Y.; MATSUBARA, Y.; EBIHARA, T.; KOYAMA, Y.; OGAWA-GOTO, K.; ISOBE, N.; HATTORI, S.; IRIE, S. Cloning and nucleotide sequence of a novel 28-kDa protein from the mantle muscle of the squid *Todarodes pacificus* with homology to tropomyosin. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, 2005. (Article in press)

MODRZEJEWSKA, Z.; KORUS, I.; OWEZARZ, P. The effect of seasoning a membrane-forming solution on the separation properties of chitosan membranes. **Journal of Membrane Science**, v.181, p.229-239, 2001.

MR. EROH'S STUDENT AND PARENT PAGE. **Actin myosin cross section**, 2005. Disponível em: http://mreroh.com/student/apdocs/MUSCLE/actin%20myosin%20cross%20section.jpg. Acesso em: julho de 2005.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. 363p.

MURRAY'S USERS AND STUDENTS PAGE. **Extruder1a**, 2000. Disponível em: http://murray.newcastle.edu.au/users/students/2000/c9423771/extruder1a.jpg. Acesso em: julho de 2005.

NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE. **Myosin structure**, 2005. Disponível em: http://dir.nhlbi.nih.gov/labs/lmc/cmm/images/myosinstructure.jpg. Acesso em: julho de 2005.

NEVES, L. C. **Microfiltração e ultrafiltração de suco de acerola.** 1999. 116p. Tese de Mestrado. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

NOORDMAN, T. R.; KETELAAR, T. H.; DONKERS, F.; WESSELINGH, J. A. Concentration and desalination of protein by ultrafiltration. **Chemical Engineering Science**, v.57, p.693-703, 2002.

NORMA TÉCNICA. **Controle de Carga Orgânica em Efluentes Líquidos Industriais**. CPRH N 2.001, 2003.

NOZAWA, H.; MAMEGOSHI, S.; SEKI, N. Partial purification and characterizaton of six transglutaminases from ordinary muscles of varous fishes

and marine invertebrates. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.118B, n.2, p. 313-317, 1997.

NYSTRÖM, M.; AIMAR, P.; LUQUE, S.; KULOVAARA, M.; METSÄMURONEM, S. Fractionation of model proteins using their physiochemical properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.138, p.185-205, 1998.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca:** ciência e tecnologia do pescado. v.1. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

OJIMA, T.; OHTA, T.; NISHITA, K. Amino acid sequence of squid troponin C. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.129, p.787-796, 2001.

OKAMOTO, Y.; OTSUKA-FUCHINO, H.; HORIUCHI, S.; TAMIYA, T. Purification and characterization of two metalloproteinases from squid mantle muscle, myosinase I and myosinase II. **Biochem. Biophys. Acta**, v.1161, n.1, p.97-104, 1993.

OTWELL, W. S.; HAMANN, D. D. Textural characterization of squid (Loligo pealei Lesuer): scanning electron microscopy of cook mantle. **Journal of Food Science**, v.44, p.1629-1635, 1979.

OWUSU-ANSAH, J.; VAN VOORT, F. R.; STANLEY. D.W. Textural and microestructural changes in corn starch as a functional of extrusion variables. **Canadian Institute of Food and Technology Journal**. Ottawa, v.17, n.2, p.65-70, 1984.

PALACIO, L.; CALVO, J. I.; PRÁDANOS, P.; HERNÁNDEZ, A.; VÄISÄNEN, P.; NYSTRÖM, M. Contact angles and external protein adsorption onto UF membranes. **Journal of Membrane Science**, v.152, p.189-201, 1999.

PAREDI, M. E.; TOMAS, M. C.; CRUPKIN, M.; AÑÓN, M. C. Thermal denaturation of muscle proteins from male and female squid (*Illex argentinus*) at different sexual stages. A differential scaning calorimetric study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.3812-3816, 1996.

PEREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Addition of microbial transglutaminase and protease inhibitors to improve gel properties of frozen squid mantle. **European Food Research and Technology**, v.214, n.5, p.377-381, 2002.

RIAZ, M. N. Selecting the right extruder. In: GUY, R. **Extrusion cooking:** technologies and applications. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. p.29-50.

RIDGWAY, H. F.; FLEMMING, H. C. **Membrane biofouling**. In: **Water Treatment Membrane Process.** New York: McGraw Hill, 1996. Citado por SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso.** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Ambiental, 2001. 234p.

RABILLER-BAUDRY, M.; CHAUFER, B.; LUCAS, D.; MICHEL, F. Ultrafiltration of mixed proteins of lysozyme and lactoferrin: role of modified inorganic membranes and ionic strength on the selectivity. **Journal of Membrane Science**, v.184, p.137-148, 2001.

ROUX, L. D.; BELYEA, R. L. Effects of ultrafiltration membrane concentration and drying temperature on nutritional value of biosolids from a milk processing plant. **Biresource Technology**, v.70, p.17-21, 1999.

SANO, T.; NOGUCHI, S. F.; TSUCHIYA, T.; MATSUMOTO, J. J. Contribuition of paramyosin to marine meat gel characteristics. **Journal of Food Science**, v.51, n.4, p.946-950, 1986.

_____. Paramyosin-myosin-actin interactions in gel formation invertebrate muscle. **Journal of Food Science**, v.54, n.4, p.796-799, 1989.

SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso.** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Ambiental, 2001. 234p.

SELLERS, J. R. Myosin: a diverse superfamily. **Biochimica at Biopysica Acta**, v.1496, p.3-22, 2000.

SIKORSKI, Z.E.; KOLODZIEJSKA, I. The composition and properties of squid meat. **Food Chemistry**, v.20, p.213-224, 1986.

_____. The digestive proteases of marine fish and invertebrates. **Bull. Sea Fish. Inst.**; v.1, n.137, p.51-56, 1996.

SUKARNO; TAKAHASHI, K.; HATANO, M.; SAKURAI, Y. Lipase from néon flying squid hepatopancreas: purification and properties. **Food Chemistry**, v.57, n.4, p.515-521, 1996.

SUZUKI, T. Tecnologia de las proteínas de pescado y krill. **Editorial ACRIBIA S.A**., 230p., 1987.

TAMORI, J.; KANZAUWA, N.; TAJIMA, T.; TAMIYA, T.; TSUCHIYA, T. Purification and characterization of a novel isoform of myosinase from apear squid liver. **Journal of Biochemistry**, v.126, n.5, p.969-974, 1999.

TEIXEIRA, M. I.; CABRAL, L. M. C.; NEVES, L. C.; MENEZES, L. F. S.; PONTES, H. C. S. Processamento de soro ácido de queijo por ultrafiltração. **In**: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVI. Rio de Janeiro: Anais... 1998. p.1959-1962.

TRAGÄRDH, G. Basic principles and membrane systems. FAO Expert Consultation on Applicattion of Membrane Filtration Technology to Food Processing in Developing Countries, Rome, Italy, 1996.

TREBOUET, D.; SCHLUMPF, J. P.; JAOUEN, P.; QUEMENEUR, F. Stabilized landfill leachate treatment by combined physicochemical nanofiltration processes. **Water Research**, v.35, n.12, p.2935-2942, 2001.

VAN REIS, R.; BRAKE, J. M.; CHARKOUDIAN, 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 separations in biotechnology. **Current Option in Biotechnology**, v.12, p.208-211, 2001.

VYNIOS, D. H.; MÖRGELIN, M.; PAPAGEORGAKOPOULOU, N.; *et al.* **Biochimie**, v.82, p.773-782, 2000.

WATANABE, B.; MAITA, T.; KONNO, K.; MATSUDA, G. Amino-acid sequence of LC-1 light chain of squid mantle muscle myosin. **Biological Chemistry Hoppe Seyler**. v.367, n.10, p.1025-1032, 1986.

ZHOU, D.; TOO, C. O.; WALLCE, G. G.; HODGES, A. M.; MAU, A. W. H. Protein transport and separation using polypyrrole coated, platinised polyvinylidene fluoride membranes. **Reactive & Functional Polymers**, v.45, p.217-226, 2000.

Anexos

Anexo 1 – Análises de Proteína

1.1 – Teor de proteínas (g/L) da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	4,23	5,69	4,96	0,73	5,08	6,23	5,66	0,58	0,79	0,85	0,82	0,03
20 kDa	4,69	4,46	4,58	0,11	7,19	8,64	7,92	0,72	0,60	0,59	0,60	0,01
50 kDa	4,58	4,08	4,33	0,25	5,04	4,39	4,72	0,32	0,33	0,49	0,41	0,08
100 kDa	4,35	4,62	4,49	0,14	5,65	5,57	5,61	0,04	0,41	0,49	0,45	0,04

1.2 – Teor de proteína total (g/L) presente na salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	4,35	4,62	4,49	0,14	5,65	5,57	5,61	0,04	0,41	0,49	0,45	0,04
pH = 5,0	5,56	4,61	5,09	0,48	5,28	3,80	4,54	0,74	2,22	2,03	2,13	0,09

Anexo 2 – Análises de Turbidez

2.1 – Valores de turbidez (NTU) da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	57,5	56,9	57,2	0,3	79,5	81,7	80,6	1,1	5,1	1,2	3,2	2,0
20 kDa	45,6	46,8	46,2	0,6	78,2	112,3	95,3	17,1	2,1	2,9	2,5	0,4
50 kDa	133,0	121,3	127,2	5,8	178,0	138,3	158,2	19,8	0,9	3,6	2,3	1,4
100 kDa	164,0	123,7	143,9	20,2	198,3	180,7	189,5	8,8	0,3	0,4	0,4	0,1

2.2 – Valores de turbidez (NTU) da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	164,0	123,7	143,9	20,2	198,3	180,7	189,5	8,8	0,3	0,4	0,4	0,1
pH = 5,0	730,8	1397,0	1063,9	333,1	1006,0	2059,0	1532,5	526,5	1,6	0,6	1,1	0,5

Anexo 3 – Análises de Sólidos Totais

3.1 – Teores de sólidos totais (% p/p) da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	2,08	2,21	2,14	0,07	2,03	2,28	2,15	0,13	1,50	1,74	1,62	0,12
20 kDa	2,29	2,19	2,24	0,05	2,31	2,42	2,37	0,05	1,66	1,65	1,65	0,01
50 kDa	1,91	1,88	1,90	0,02	1,72	1,75	1,74	0,01	1,28	1,29	1,28	0,00
100 kDa	1,76	1,92	1,84	0,08	1,65	1,86	1,76	0,10	1,26	1,38	1,32	0,06

3.2 – Teor de sólidos totais (% p/p) da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	1,76	1,92	1,84	0,08	1,72	1,75	1,74	0,01	1,28	1,29	1,28	0,00
pH = 5,0	2,49	2,50	2,49	0,00	2,29	2,20	2,25	0,04	1,94	1,97	1,96	0,01

Anexo 4 – Análises de pH

4.1 – Valores de pH da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas.

	A				R				P			
Membrana			M				M				M	
10 kDa	7,11	7,07	7,09	0,02	6,99	7,13	7,06	0,07	7,12	7,15	7,14	0,01
20 kDa	7,11	6,99	6,95	0,08	6,95	6,68	6,82	0,14	7,08	6,88	6,98	0,10
50 kDa	7,37	7,14	7,26	0,12	7,24	7,20	7,22	0,02	7,43	7,04	7,24	0,20
100 kDa	7,26	7,22	7,24	0,02	7,30	7,23	7,27	0,03	7,25	7,35	7,30	0,05

Anexo 5 – Análises de Cloreto

5.1 – Concentração de cloreto (mg/L) da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	8080	8260	8170	90	7361	8080	7721	360	7541	8080	7811	270
20 kDa	8389	8211	8300	89	8211	8032	8122	90	8211	8032	8122	90
50 kDa	8032	8211	8122	90	6426	7140	6783	357	6247	6961	6604	357
100 kDa	7854	8389	8122	268	7140	7497	7319	179	6783	7318	7051	268

5.2 – Concentração de cloreto (mg/L) da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	7854	8389	8122	268	7140	7497	7319	179	6783	7318	7051	268
pH = 5,0	9639	9995	9817	178	9103	8746	8925	179	8568	8568	8568	0

Anexo 6 – Análises de Nitrogênio

6.1 – Concentração de nitrogênio total (g/100g) da salmoura, na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P) para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	0,18	0,14	0,16	0,02	0,14	0,16	0,15	0,01	0,05	0,09	0,07	0,02
20 kDa	0,17	0,16	0,17	0,01	0,20	0,21	0,21	0,01	0,10	0,12	0,11	0,01
50 kDa	0,13	0,10	0,12	0,02	0,16	0,14	0,15	0,01	0,05	0,00	0,03	0,03
100 kDa	0,11	0,17	0,14	0,03	0,14	0,13	0,14	0,01	0,03	0,04	0,04	0,00

6.2 – Concentração de nitrogênio total (g/100g) da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	0,11	0,17	0,14	0,03	0,14	0,13	0,14	0,01	0,03	0,04	0,04	0,00
pH = 5,0	0,17	0,16	0,17	0,01	0,16	0,14	0,15	0,01	0,09	0,10	0,10	0,00

Anexo 7 – Análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

7.1 – Demanda Química de Oxigênio (mg/L) da salmoura na alimentação (A), no retido (R) e no permeado (P), para as diferentes membranas testadas

	A				R				P			
Membrana			M	DP			M	DP			M	DP
10 kDa	8133	8550	8342	209	8875	10692	9784	909	1875	2633	2254	379
20 kDa	8046	8388	8217	171	11142	11782	11462	320	2689	2664	2677	13
50 kDa	5848	8138	6993	1145	6170	8937	7554	1384	835	1465	1150	315
100 kDa	NR	7875	7875	0	7994	8782	8388	394	1394	1508	1451	57

7.2 – Demanda Química de Oxigênio (mg/L) da salmoura em seu pH original (7,0) e com pH modificado (5,0), nas três correntes de processo: alimentação (A), retido (R) e permeado (P)

Membrana	A				R				P			
100 kDa			M	DP			M	DP			M	DP
pH = 7,0	NR	7875	7875	0	7994	8782	8388	394	1394	1508	1451	57
pH = 5,0	10256	10279	10268	12	8891	9309	9100	209	4616	4839	4728	112

Anexo 8 – Produção Científica

1.1 – Trabalhos apresentados e participações em congressos

- "Concentração de Proteínas por Ultrafiltração", trabalho apresentado no 4º CITEM, Congresso Ibero-americano em Ciência e Tecnologia de Membranas, realizado em julho de 2003, Florianópolis-SC.

- "Recuperação de Proteínas das Águas Residuais do Processamento de Lula em Conserva", trabalho apresentado no V SLACA, Simpósio Latino Americano em Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado em novembro de 2003, Campinas-SP.

- Apresentação de Seminário no Ciclo de Seminários da Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da UFRJ, realizado em dezembro de 2003, Cidade Universitária-RJ.

- "Utilização de Membranas na Recuperação de Proteínas", trabalho apresentado no XIX CBCTA, Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado em setembro de 2004, Recife-PE.

- "Effects of flow rate and transmembrane pressure on permeate flux during ultrafiltration of residual brine from squid processing", trabalho apresentado no EMPROMER 2005 (2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering e 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering), realizado em agosto de 2005, Rio de Janeiro, Brasil.

- "Efeito do pH na Ultrafiltração da Salmoura Residual do Processamento de Lula", trabalho apresentado no VI SLACA, Simpósio Latino Americano em Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado em novembro de 2005, Campinas-SP.

- Participação no Workshop “Aplicações Industriais de Processos com Membranas”, realizado em 18 de julho de 2003, Florianópolis-SC.

1.2 – Trabalho aceito

- “Protein recovery of residual brine from squid processing”, artigo aceito para publicação na Revista Alimentaria.