

EXPRESSÕES ACADÊMICAS

engenharia de alimentos & engenharia química

2
0
2
1



URI



EDITORA
METRICS



Luciana Dornelles Venquiaruto
(Organizadora)

EXPRESSÕES ACADÊMICAS 2021
ENGENHARIA DE ALIMENTOS E ENGENHARIA
QUÍMICA/URI

Editora Metrics
Santo Ângelo – Brasil
2021



Copyright © Editora Metrics

Capa: Leandro Lopes Tizoco

Imagens da capa: Freepik

Revisão: Os autores

CATALOGAÇÃO NA FONTE

E96 Expressões acadêmicas 2021 [recurso eletrônico] : Engenharia de Alimentos e Engenharia Química/URI / organizadora: Luciana Dornelles Venquiarutto. - Santo Ângelo : Metrics, 2021.
310 p.

ISBN 978-65-89700-42-5

DOI 10.46550/978-65-89700-42-5

1. Engenharia química. 2. Alimentos. I. Venquiarutto, Luciana Dornelles (org.).

CDU: 66.0

Responsável pela catalogação: Fernanda Ribeiro Paz - CRB 10/ 1720

2021

Proibida a reprodução parcial ou total desta obra sem autorização da Editora Metrics

Todos os direitos desta edição reservados pela Editora Metrics

Rua Antunes Ribas, 2045, Centro, Santo Ângelo, CEP 98801-630

E-mail: editora.metrics@gmail.com

<https://editorametrics.com.br>

Conselho Editorial

Dr ^a . Berenice Beatriz Rossner Wbatuba	URI, Santo Ângelo, RS, Brasil
Dr. Charley Teixeira Chaves	PUC Minas, Belo Horizonte, MG, Brasil
Dr. Douglas Verbicario Soares	UFRR, Boa Vista, RR, Brasil
Dr. Eder John Scheid	UZH, Zurique, Suíça
Dr. Fernando de Oliveira Leão	IFBA, Santo Antônio de Jesus, BA, Brasil
Dr. Glaucio Bezerra Brandão	UFRN, Natal, RN, Brasil
Dr. Gonzalo Salerno	UNCA, Catamarca, Argentina
Dr ^a . Helena Maria Ferreira	UFPA, Belém, PA, Brasil
Dr. Henrique A. Rodrigues de Paula Lana	UNA, Belo Horizonte, MG, Brasil
Dr. Jenerton Arlan Schütz	UNIJUÍ, Ijuí, RS, Brasil
Dr. Jorge Luis Ordelin Font	CISS, Cidade do México, México
Dr. Luiz Augusto Passos	UFMT, Cuiabá, MT, Brasil
Dr. Manuel Becerra Ramirez	UNAM, Cidade do México, México
Dr. Marcio Doro	USJT, São Paulo, SP, Brasil
Dr. Marcio Flávio Ruaro	IFPR, Palmas, PR, Brasil
Dr. Marco Antônio Franco do Amaral	IFTM, Ituiutaba, MG, Brasil
Dr ^a . Marta Carolina Gimenez Pereira	UFBA, Salvador, BA, Brasil
Dr ^a . Mércia Cardoso de Souza	ESEMEC, Fortaleza, CE, Brasil
Dr. Milton César Gerhardt	URI, Santo Ângelo, RS, Brasil
Dr. Muriel Figueredo Franco	UZH, Zurique, Suíça
Dr. Ramon de Freitas Santos	IFTO, Araguaína, TO, Brasil
Dr. Rafael J. Pérez Miranda	UAM, Cidade do México, México
Dr. Regilson Maciel Borges	UFPA, Belém, PA, Brasil
Dr. Ricardo Luis dos Santos	IFRS, Vacaria, RS, Brasil
Dr. Rivetla Edipo Araujo Cruz	UFPA, Belém, PA, Brasil
Dr ^a . Rosângela Angelin	URI, Santo Ângelo, RS, Brasil
Dr ^a . Salete Oro Boff	IMED, Passo Fundo, RS, Brasil
Dr ^a . Vanessa Rocha Ferreira	CESUPA, Belém, PA, Brasil
Dr. Vantoir Roberto Brancher	IFFAR, Santa Maria, RS, Brasil
Dr ^a . Waldimeiry Corrêa da Silva	ULOYOLA, Sevilha, Espanha

Este livro foi avaliado e aprovado por pareceristas *ad hoc*.



SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	13
<i>Luciana Dornelles Venquiaruto</i>	
DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOOLICO DO ALCOOL GEL	15
<i>Jhonatan Motter Valmorbida</i> <i>Alexander Junges</i>	
PRODUÇÃO DE ÁCIDO HIALURÔNICO POR <i>STREPTOCOCCUS ZOOEPIDEMICUS</i> ATCC 39920 EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA.....	29
<i>Leonardo Meirelles da Silva</i> <i>Diane Rigo</i> <i>Rogério Marcos Dallago</i> <i>Jamile Zeni</i>	
ANÁLISE DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUAS DA MICRORREGIÃO DE ERECHIM	57
<i>Lia Paula Pletsch</i> <i>Bianca Trindade Oldoni</i> <i>Clarice Steffens</i> <i>Juliana Steffens</i>	
CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DA POLPA E CASCA DO ARAÇÁ-VERMELHO (<i>PSIDIUM CATTLEIANUM</i> SABINE) <i>IN NATURA</i> E LIOFILIZADO.....	73
<i>Marília Jordana Dequi Vendruscolo</i> <i>Rosicler Collet</i> <i>Geciane Toniazzo Backes</i> <i>Jamile Zeni</i>	

ESTUDO DE VIABILIDADE DA UTILIZAÇÃO DO LÍQUIDO
IÔNICO HIDROGENOSSULFATO DE TRIETILAMÔNIO
NA REMOÇÃO DE CROMO DO RESÍDUO DE COURO
WET BLUE..... 95

Natália Ambrósio
Júlia L. Bernardi
Marcelo G. Speziali
Rogério M. Dallago
Marcelo L. Mignoni

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DE FITASE EM
RAÇÕES PARA FRANGOS 127

Richard Luan Zanin Perosa
Rosicler Colet
Geciane Toniazzo Backes
Rogério Marcos Dallago

CASCA DE ARROZ COMO MATÉRIA PRIMA PARA
OBTENÇÃO DE CELULOSE 153

Silvana Ines Bepler
Rogério Marcos Dallago

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM FILÉS DE TILÁPIA 185

Viviane Roberta Martini
Marcieli Peruzzolo
Geciane Toniazzo Backes

USO DE MEMBRANAS E PROCESSOS OXIDATIVOS
AVANÇADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DE
LATICÍNIOS: UMA REVISÃO..... 201

Adriane Marisa Burchardt Schultz
Juliana Steffens

POTENCIALIDADES DE APLICAÇÃO DO SUBPRODUTO DA
INDÚSTRIA CERVEJEIRA NA PANIFICAÇÃO..... 241

Carine Dorigon
Eunice Valduga

NANOSSENSORES E BIOSENSORES PARA DETECÇÃO DE
METAIS PESADOS EM ÁGUA: UMA REVISÃO..... 261

Jovani Secretti

Clarice Steffens

TRATAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS DE
GALVANOPLASTIA: UMA REVISÃO..... 289

Vinícius Fochezatto Marchiori

Clarice Steffens

Juliana Steffens



APRESENTAÇÃO

O livro, intitulado “Expressões Acadêmicas”, é o resultado das pesquisas que envolveram os trabalhos monográficos desenvolvidos pelos acadêmicos dos Cursos de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim, no decorrer do ano de 2021.

2021, ano marcado pelo verbo esperar. A Pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 ainda é uma realidade, no entanto, grandes foram os avanços com as pesquisas a nível mundial e a vacinação tornou-se tangível em nosso país, apesar de vivermos imersos na desarticulação de ações federativa no combate a pandemia. Com uma parcela significativa da população imunizada, no primeiro semestre de 2021, juntamente com o compromisso individual e coletivo (de alguns), está sendo possível sentir esperanças pelo porvir.

A vida não parou no decorrer da quarentena imposta pela pandemia. Os estudos continuaram de forma remota, as pesquisas experimentais tiveram seu seguimento de forma segura e individualizada, as orientações ocorreram por intermédio de recursos tecnológicos. Houve superação por parte de cada acadêmico envolvido com seu trabalho monográfico e esta obra comemora esta conquista.

O presente livro está estruturado em doze capítulos. Desses, oito envolvem pesquisas experimentais e quatro pesquisas bibliográficas. A leitura dos capítulos não necessita ser realizada de modo contínuo. Cada capítulo é independente e estes versão sobre os mais diferentes campos de pesquisa envolvendo a engenharia química e alimentos, a saber: análises de bebidas, alimentos e produtos de higiene, tratamento de águas, efluentes e resíduos sólidos, caracterização enzimática, líquidos iônicos e subprodutos da indústria.

Desejo a todos uma ótima leitura!

Prof^a. Dr^a. Luciana Dornelles Venquiaruto



DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOOLICO DO ALCOOL GEL

Jhonatan Motter Valmorbida¹, Alexander Junges²

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Química (URI) –
Jhonatanvalmorbida@gmail.com

²Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) -
junges@uricer.edu.br

Resumo: Em pleno século XXI, aprendemos a conviver com um cenário de pandemia mundial. Enquanto a ciência busca a cura para um vírus desconhecido, é preciso usar armas eficazes para combater a disseminação. E foi assim que o álcool gel se tornou essencial, pois é um importante instrumento de higienização de ambientes, objetos, superfícies, e principalmente das mãos, na luta contra a disseminação do vírus Covid-19. O álcool em gel em sua composição deve conter no mínimo 70% de álcool para se tornar eficaz contra o combate de vírus e bactérias, entre eles o SARS-coV-2. Dessa forma, o objetivo desta pesquisa foi determinar o teor de álcool com o densímetro digital e comparar os seus respectivos valores com a quantidade de produto oferecido nas amostras de álcool gel nas cidades de Erechim e Três Arroios, no Rio Grande do Sul. Os resultados demonstraram que 5 das 14 amostras estavam com o teor de álcool menor do que aquele que era exigido pela legislação da ANVISA, porém foi possível observar que destas 5 amostras 3 continham Aloe Vera e polímeros em sua composição assim possivelmente influenciando nas análises por densimetria digital.

Palavras-chave: Teor alcoólico. Álcool gel. Legislação. Covid-19.

Abstract: Today, alcohol gel has become indispensable due to the global pandemic, as it helps to prevent Covid-19 and to sanitize objects and utensils. The alcohol gel in its composition must contain at least 70% alcohol to be effective against viruses and bacteria, including SARS-coV-2. Thus, the objective of this research was to determine the alcohol content with a digital densimeter and compare its respective values with

the amount of product offered in the alcohol gel samples in the cities of Erechim and Três Arroios, Rio Grande do Sul. The results showed that 5 samples had an alcohol content lower than that required by ANVISA legislation, but it was possible to observe that of these 5 samples, 3 contained Aloe Vera and polymers in their composition, thus possibly influencing the analyses by digital densimetry.

Keywords: Alcohol content. Alcohol gel. Legislation. Covid-19.

Introdução

Em um cenário de pandemia gerada pelo vírus SARS-CoV-2 a utilização do álcool em gel se tornou algo indispensável, pois auxilia na prevenção e no combate da proliferação do Covid-19. O álcool em gel é composto por carbopol (polímero que age como espessante), álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), trietanolamina ($\text{CH}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$) e água. (GOMES *et al.*, 2017).

A venda do produto em supermercados saltou 623% na comparação entre a primeira semana de março de 2019 e a última semana de fevereiro de 2020, segundo dados enviados com exclusividade pela Nielsen, empresa especializada no setor varejista (LIMA, 2020). Sua procura durante esse período foi devido a grande eficiência do álcool em gel na prevenção de contaminação de germes, sua habilidade de higienização e praticidade.

O álcool etílico (etanol) é um eficiente desinfetante de superfícies/objetos e antisséptico de pele. Para que este produto seja eficaz, o grau alcoólico recomendado é 70%. Nessa condição ocorre a desnaturação de proteínas e de estruturas lipídicas da membrana celular, causando a destruição do microrganismo (lise celular). O etanol age rapidamente sobre bactérias vegetativas (inclusive microbactérias), vírus e fungos, sendo a higienização equivalente e até superior a lavagem de mãos com sabão comum ou alguns tipos de antissépticos degermantes (BRASIL – MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da RDC 42 de 2010, tornou obrigatória a disponibilização de preparação alcoólica para fricção antisséptica das mãos, pelos serviços de saúde do país nessa concentração de 70%, podendo inclusive ser uma preparação em gel (ANVISA, 2010).

Em função do combate ao covid-19, esta pesquisa tem como objetivo analisar amostras de álcool gel obtidas em Erechim e Três Arroios, avaliar a qualidade e verificar se o conteúdo da embalagem atende aos requisitos legais. Para tanto, foi realizada análise laboratorial para verificar o teor de álcool do produto adquirido, e posteriormente comparada com o teor contido na RDC 42 2010 (teor de álcool de 70%) para verificar a qualidade da amostra e garantir a eficiência do produto.

Metodologia

Para a execução desta pesquisa, foram coletadas 14 amostras de álcool em gel nas cidades de Erechim e Três Arroios, Rio Grande do Sul, Brasil. Os parâmetros físico-químicos analisados foram: densimetria digital e pH.

Densimetria digital

As amostras foram analisadas mediante o método de densimetria digital com um densímetro da marca Anton Paar modelo DMA 4500.

A partir dos dados obtidos no densímetro digital os resultados foram comparados com a tabela da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS) para assim ter o valor de álcool em volume nas amostras (ZENEBON *et al.*, 2008).

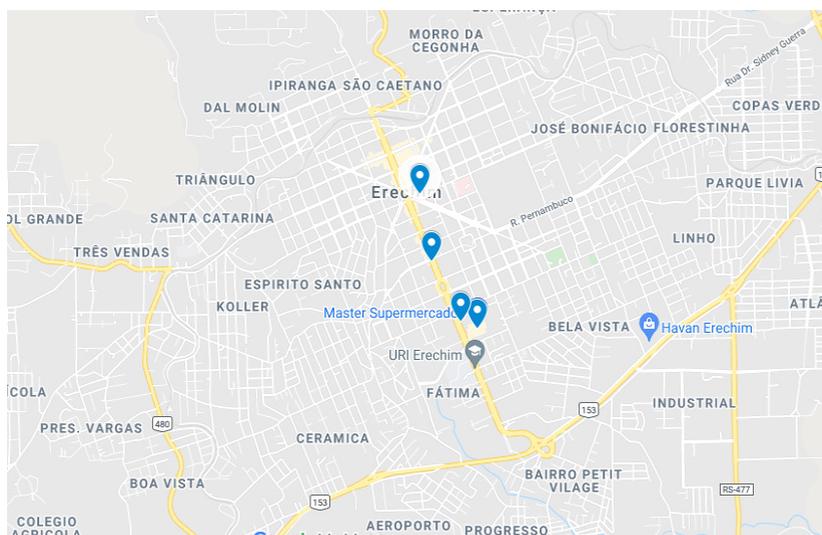
pH

Verificou-se o pH das amostras mediante o uso de um Phmetro digital da marca tecnal modelo tec-7.

Coleta de amostras

Primeiramente realizou-se as coletas de diferentes amostras de álcool em gel nas cidades de Erechim e Três Arroios, no Rio Grande do Sul e após foi realizado os testes para determinar as características físico químicas das amostras de álcool gel. As amostras foram mantidas em temperaturas de 20°C e transportadas até o laboratório da URI- Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus Erechim, para a realização das análises no mesmo dia.

Figura 1- Mapa dos pontos de venda de álcool gel de Erechim – RS



Fonte: Google Maps, 2021.

Figura 2- Mapa dos pontos de venda de álcool gel de Três Arroios– RS



Fonte: Google Maps, 2021.

Resultados e discussões

As análises foram realizadas em triplicata para obter uma maior precisão, após sua realização foi possível observar na Tabela 1 que as amostras (A, C, F, G e L) estavam em desacordo com o que foi apresentado na embalagem do álcool gel. As amostras (B, C, E, G e L) possuíam e sua composição aloe vera dessas amostras 3 (C, G e L) estavam em desacordo com o que era informado em sua embalagem. Uma possível justificativa para isso seria algum polímero ou até mesmo o aloe vera presentes, influenciando na análise por densimetria digital.

Tabela 1- Valores obtidos da densimetria e v/v de álcool na amostra

Marca	Média	Desvio padrão	v/v
A	0,8964	< 0,0001	66,0
B	0,8815	< 0,0001	70,0
C	0,9281	< 0,0001	51,9
D	0,8878	< 0,0001	69,7
E	0,8803	0,0009	69,9

F	0,8976	0,0002	65,7
G	0,9448	0,0010	40,8
H	0,8761	0,0006	75,0
I	0,8812	< 0,0001	72,0
J	0,8824	0,0059	72,5
K	0,8753	< 0,0001	75,0
L	0,9054	< 0,0001	62,4
M	0,8879	< 0,0001	69,7
N	0,8814	< 0,0001	72,0

Em comparação com as amostras analisadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama no IPT (instituto de pesquisas e tecnologia) em 10 de setembro de 2020 foi observado que frações mássicas de etanol estavam variando entre 53,9% a 65,9%, o que estaria abaixo da concentração declarada no rótulo e das especificações da Anvisa. Por fim, neste artigo foram analisadas amostras nas quais foi possível observar que 9 delas estão seguindo as especificações exigidas pela Anvisa, e 5 estão com o teor de álcool abaixo do exigido. (EFICÁCIA DO ÁLCOOL GEL, 2020).

Na sequência foram comparados os valores de cada produto com as suas respectivas quantidades na embalagem, conforme demonstra a Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de cada produto e o volume apresentado nas embalagens

Marca	Valor (R\$)	Volume	R\$/g
A	8,29	55g	0,1507
B	15,99	300mL	0,0533
C	7,49	100g	0,0749
D	7,5	500mL	0,0150
E	4,99	60mL	0,0832
F	12,95	250mL	0,0518
G	19,95	450g	0,0443

H	22,35	340g	0,0657
I	21,32	300mL	0,0711
J	6,99	500mL	0,0140
K	13,32	430g	0,0310
L	9,79	50g	0,1958
M	10,69	500g	0,0214
N	9,99	420mL	0,0238

Foi concluído que os valores das amostras estão dentro do esperado, e apenas a amostra (A) tem o valor mais elevado por grama de produto.

A Tabela 3 apresenta as composições de cada amostra de álcool gel que foi utilizada para a realização das análises. Todas as amostras contêm água, álcool e Carbopol.

Tabela 3 - Componentes das amostras de álcool gel

Marca	Extrato	Hidratante	Etc
A	—	glicerina	benzoato de denatônio, trietanolamina, dimetil polissiloxano
B	aloe vera, triclosan	glicerina	benzoato de denatônio, trietanolamina
C	aloe vera, triclosan	Glicerina, linalool	benzoato de denatônio
D	—	glicerina	propileno glicol, benzoato de denatônio, aminometilpropanol
E	camomila, aloe vera	glicerina, linalool	trietanolamina
F	—	glicerina	aminometilpropanol, fenoxietanol e metilisotiazolinona
G	aloe vera	glicerina	trietanolamina
H	verbena, salvia, menta	propileno glicol	1- amino-2-propanol, beazoato de denatônio
I	menta, salvia	propileno glicol	isopropanol
J	—	glicerina	metilisotiazolinona, polissorbato 20, aminometilpropanol

K	—	glicerina, linalool	metilparabeno, 2-amino-2-metil-1-propanol
L	aloe vera	glicerina	trietanolamina, citronelol, hexil cinamaldeído
M	—	glicerina, propileno glicol	aminometilpropanol, benzoato de denatônio
N	—	glicerina	isopropanol

Na Tabela 3 é possível visualizar que além dos componentes mais comuns como: água, álcool, carbopol e trietanolamina, é também muito usado o benzoato de denatônio, linalool, glicerina e propipileno glicol.

O linalool é um componente de óleos essenciais obtidas em várias espécies de plantas aromáticas, o benzoato de denatônio é um desnaturante em formulações que apresentam alguma toxicidade e em seguida a glicerina e o propipileno glicol entram em cena como um hidratante para a pele.

A Tabela 4 apresenta o pH obtido em cada amostra de álcool gel.

Tabela 4 - Valores obtidos nas análises do pH

Marca	pH
A	8,22
B	6,00
C	6,60
D	7,53
E	8,03
F	7,80
G	8,80
H	6,59
I	7,15
J	6,25
H	6,59

L	5,84
M	6,25
N	8,21

Após a coleta de pH das amostras foi observado que o menor pH foi de 6,00 e o maior foi de 8,80 assim sendo possível notar que o álcool em gel trabalha com uma faixa de pH entre 6,00 e 8,80.

A Tabela 5 apresenta a média das análises realizadas em triplicata e o desvio padrão das mesmas.

Tabela 5 - Valores obtidos nas análises realizadas em triplicata

Marca	1º Análise	2º Análise	3º Análise	Média	Desvio padrão
A	0,8965	0,8964	0,8964	0,8964	< 0,0001
B	0,8815	0,8815	0,8815	0,8815	< 0,0001
C	0,9281	0,9281	0,9281	0,9281	< 0,0001
D	0,8878	0,8878	0,8877	0,8878	< 0,0001
E	0,8812	0,8803	0,8795	0,8803	0,0009
F	0,8978	0,8976	0,8974	0,8976	0,0002
G	0,9465	0,9448	0,9447	0,9448	0,0010
H	0,8751	0,8762	0,8761	0,8761	0,0006
I	0,8812	0,8812	0,8812	0,8812	< 0,0001
J	0,8927	0,8824	0,8824	0,8824	0,0059
K	0,8752	0,8753	0,8753	0,8753	< 0,0001
L	0,9054	0,9054	0,9053	0,9054	< 0,0001
M	0,8879	0,8879	0,8878	0,8879	< 0,0001
N	0,8814	0,8814	0,8814	0,8814	< 0,0001

Considerações finais

Considerando a importância do álcool gel 70% durante a pandemia, ele precisa ser usado diariamente, por isso é necessário entendermos a qualidade e eficácia do produto. Para tanto, a ANVISA foi designada para supervisionar a comercialização e

produção de álcool gel dentro de suas especificações e permitir que sejam comercializados de forma segura e eficaz.

As amostras do IPT (instituto de pesquisas e tecnologia) onde as frações mássicas de etanol estavam variando entre 53,9% a 65,9%, o que estaria abaixo da concentração declarada no rótulo e das especificações da Anvisa, sendo de um produto sem muita eficácia nos momentos de hoje, um cenário de pandemia global. Dessa forma, foi possível observar que 9 amostras estavam cumprindo o que era exigido pela legislação, teor de álcool 70% e 3 amostras de 5 que possuem em sua composição Aloe Vera, não estavam apresentando o mesmo teor de álcool que era apresentado em sua embalagem, assim se tornando ineficaz para combater vírus e bactérias.

Conclui-se que 64,28% das amostras estão de acordo com o que é exibido em sua embalagem. As amostras que estão irregulares são (A, C, F, G e L), sendo 3 que possuem Aloe Vera em sua composição. Muito embora os métodos de análise utilizados pareçam simples, foram eficazes para demonstrar à sociedade, principalmente neste momento de pandemia, onde é necessário fornecer dados para a população, sobre a eficácia de um produto que é essencial no combate da disseminação do vírus SARS-coV-2.

Referências

ANVISA. **Anvisa simplifica autorização de produtos para higiene**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-quer-aumentar-oferta-de-produtos-para-higienizacao/219201. Acesso em: 10 set. 2020.

ANVISA. **Nota Técnica nº 3/2020/SEI/DIRE3/ANVISA**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/2857848/5680794/NT+FINAL.pdf/361b79b3-9277-452a-835a-3b9ef9be1bb9>. Acesso em: 9 set. 2020.

ANVISA. Orientações sobre a produção de álcool gel.

Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias?p_p_id=101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_groupId=219201&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_urlTitle=guia-orienta-sobre-producao-de-alcool-gel&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_struts_action=%2Fasset_publisher%. Acesso em: 5 set. 2020.

ANVISA. Resolução dea Diretoria Colegiada – RDC N° 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd. Acesso em: 12 set. 2020.

ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 347, DE 17 DE MARÇO DE 2020.

Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/5809525/%282%29RDC_347_2020_COMP.pdf/258ca133-2952-4053-97f4-581baa9d1428. Acesso em: 8 set. 2020.

CNN BRASIL. Efeito coronavírus: vendas de álcool em gel crescem 600% em uma semana no Brasil. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/business/2020/03/19/efeito-coronavirus-vendas-de-alcool-em-gel-crescem-600-em-uma-semana-no-brasil>. Acesso em: 13 set. 2020.

GAZETA DIGITAL. Saiba mais sobre cada tipo de álcool para higienizar as mãos. Disponível em: <https://www.gazetadigital.com.br/editorias/cidades/saiba-mais-sobre-cada-tipo-de-lcool-para-higienizar-as-mos/611124>. Acesso em: 22 set. 2020.

GOMES, Denise Araújo; SOUZA, Kassandra David de; ALBUQUERQUE, Roberto Lima de. Produção e análise de qualidade do álcool em gel. In: Anais da Mostra de Pesquisa em Ciência e Tecnologia 2017. **Anais...** Fortaleza(CE) DeVry Brasil - Damásio - Ibmec, 2019. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/mpct2017/44454-PRODUCAO-E-ANALISE-DE-QUALIDADE-DO-ALCOOL-EM-GEL>. Acesso em: 29 set.

2020

HYPENESS. Uma mulher latina, estudante de enfermagem, inventou o álcool gel. Disponível em: <https://www.hypeness.com.br/2020/03/uma-mulher-latina-estudante-de-enfermagem-inventou-o-alcool-gel/#:~:text=Poucos%20sabem%2C%20porém%2C%20que%20a,%2C%20nos%20EUA%2C%20em%201966.&text=O%20álcool%20mata%20germes%20e,especial%20dos%20profissionais%20de%20saúde>. Acesso em: 3 set. 2020.

PANORAMA FARMACÊUTICO . Saiba mais sobre cada tipo de álcool para higienizar as mãos. Disponível em: <https://panoramafarmacutico.com.br/2020/03/30/saiba-mais-sobre-cada-tipo-de-alcool-para-higienizar-as-maos/>. Acesso em: 17 set. 2020.

PORTAL DA SAÚDE. Saiba diferenciar cada tipo de álcool e o seu uso adequado. Disponível em: <http://saude.pi.gov.br/noticias/2020-03-18/9594/saiba-diferenciar-cada-tipo-de-alcool-e-o-seu-uso-adequado.html>. Acesso em: 14 set. 2020.

VALOR INVESTE. Vendas de álcool em gel disparam quase 3.000% com coronavírus. Disponível em: <https://valorinveste.globo.com/mercados/brasil-e-politica/noticia/2020/03/26/vendas-de-alcool-em-gel-disparam-quase-3000percent-com-coronavirus.gh.html>. Acesso em: 2 set. 2020.

RESERCHGATE. Avaliação da qualidade de diferentes marcas de álcool gel comercializadas na cidade de São Paulo. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/342277207_Avaliacao_da_qualidade_de_diferentes_marcas_de_alcool_gel_comercializadas_na_cidade_de_Sao_Paulo. Acesso em: 18 maio 2021.

SÓ FAZ QUEM SABE. Grau GL (°GL) e Grau INPM (°INPM). Medindo o teor alcoólico. Disponível em: [https://www.sofazquemsabe.com/2014/07/grau-gl-e-grau-inpm-medindo-o-teor-alcoolico-porcentagem-volume-massa.html#:~:text=O%20grau%20GL%20\(Gay%20Lussac,Não%20confunda%20](https://www.sofazquemsabe.com/2014/07/grau-gl-e-grau-inpm-medindo-o-teor-alcoolico-porcentagem-volume-massa.html#:~:text=O%20grau%20GL%20(Gay%20Lussac,Não%20confunda%20)

massa%20com%20peso. Acesso em: 20 maio 2021.

SOUZA *et al.* Comparativo de determinação do grau alcoólico entre densímetro de gay-lussac e título alcoométrico: determinação do grau alcoólico. **II Simpósio de Assistência Farmacêutica**, Centro Universitário São Camilo, v. 1, n. 1, p. 1-3, mai./2014. Disponível em: <http://www.saocamilo-sp.br/novo/eventos-noticias/saf/resumo-16.pdf>. Acesso em: 20 maio. 2021.

SUPER ABRIL. **Como é medido o teor alcoólico de uma bebida?** Disponível em: <https://super.abril.com.br/mundo-estranho/como-e-medido-o-teor-alcoolico-de-uma-bebida/>. Acesso em: 19 maio. 2021.

IPT. **Eficácia do álcool gel.** Disponível em: https://www.ipt.br/noticia/1640-eficacia_do_alcool_gel.htm#:~:text=Todas%20as%20amostras%20apresentaram%20frações,para%20formulações%20de%20álcool%20gel. . Acesso em: 30 maio. 2021.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos:** Bebidas alcoólicas. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.



PRODUÇÃO DE ÁCIDO HIALURÔNICO POR *STREPTOCOCCUS ZOOEPIDEMICUS* ATCC 39920 EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA

*Leonardo Meirelles da Silva*¹, *Diane Rigo*², *Rogério Marcos Dallago*³,
*Jamile Zeni*⁴

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Química (URI Erechim) –
leonardomeirelesdasilva@gmail.com

²Doutoranda do Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos
(URI Erechim) – dianerigo@hotmail.com

³Prof. Dr. do Curso de Engenharia Química (URI Erechim) – dallago@
uricer.edu.br

⁴Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia Química (URI Erechim) –
jamilenzi@uricer.edu.br

Resumo: O ácido hialurônico (AH) é um biopolímero de grande interesse industrial e comercial, uma vez que possui inúmeras aplicações na medicina, principalmente em cirurgias oculares e de reconstituições faciais, nas áreas nutracêutica e farmacêutica e aplicação em filmes para alimentos. Com relação à origem, o AH pode ser extraído de animais (crista de frango e humor vítreo bovino) ou ser produzido por rotas microbiológicas, através da bioprodução por processos metabólicos. A pesquisa objetivou a produção de AH através do micro-organismo *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920 em fermentação submersa com a avaliação de um screening de meios de produção e análise de diferentes técnicas de extração e rompimento capsular e celular para a liberação do AH. Os resultados dos 6 meios de bioprodução avaliados demonstraram que uma combinação de glicose e extrato de levedura como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente, associadas à uma suplementação com sais e a presença do aminoácido L-asparagina, maximizaram a produção de AH pelas células do micro-organismo, com um crescimento microbiano intermediário. Já o processo de liberação do AH, mostrou-se satisfatório com o emprego de congelamento do caldo fermentativo, seguido de liberação com o uso de SDS em concentração, método e

tempo de contato maximizados (SDS 5% e contato em ultrassom por 10 min). A produção de AH, portanto, ocorreu de forma satisfatória e contribuiu para a definição de um meio ótimo e de condições de liberações favoráveis, tornando relevante a pesquisa realizada.

Palavras-chave: Ácido Hialurônico. Bioprodução. Rompimento celular. Micro-organismo.

Introdução

Os biopolímeros são compostos que possuem macromoléculas biológicas em sua constituição, sendo formados por proteínas, ácidos nucleicos ou polissacarídeos, cujos princípios de nossa existência são ditados pela interação entre essas substâncias. Um dos biopolímeros mais relevantes é o ácido hialurônico (AH), cuja descoberta remete a mais de 80 anos e suas aplicações e propriedades instigam cada vez mais o desenvolvimento de pesquisas (SELYANIN, BOYKOV e KHABAROV, 2015).

O AH é um polissacarídeo com estrutura linear e que possui um alto valor comercial associado, principalmente relacionado às suas aplicações na área da saúde e cosmética. Foi isolado pela primeira vez em 1934, por Karl Meyer e John Palmer de humor vítreo bovino, substância gelatinosa presente no olho, sendo constituído por unidades dissacarídicas formadas de ácido glucurônico e N-acetilglicosamina (MACEDO, 2006; PEREIRA, 2017; CAVALCANTI, 2019).

Com relação à produção industrial de AH, esta pode ser efetuada por duas rotas: a extração de tecidos de animais e produção via microbiana, sendo que ambas as tecnologias podem produzir moléculas de AH com elevado peso molecular.

O AH produzido a partir de crista de frango ou qualquer tecido animal possui muitas limitações com relação ao uso, não podendo ser usado para fins medicinais, em virtude da presença de possíveis contaminações, oriundas do processo de criação do animal e do método de extração do ácido. Além disso, sua produção

requer um maior tempo e custo, visto que é necessário a criação do animal e por necessitar métodos mais trabalhosos no quesito de separação do tecido e isolamento do AH presente, normalmente em quantidades pequenas.

A produção via rota microbiana é uma alternativa viável e adequada para a produção de AH. A bioprodução apresenta um bom rendimento, gera AH de alta massa molar e isento de contaminações, apresentando maior pureza, o que proporciona um bom potencial para aplicação em áreas biomédicas, que requerem cada vez mais produtos de excelente qualidade, que não venham a causar complicações em decorrência de seu uso. Em paralelo a isso, o baixo custo, a maior rapidez e o uso de pouco espaço também são grandes vantagens observadas na produção de AH via rotas microbiológicas.

Dentre os micro-organismos que são capazes de sintetizar esse polímero de alto peso molecular, estão as bactérias gram-positivas dos gêneros *Streptococcus sp.* e *Pasteurella sp.*, entretanto, essas são bactérias patogênicas, tanto para humanos, quanto para animais. Para evitar o uso de tais micro-organismos, outras cepas podem ser obtidas por mutagênese química, transformando, por exemplo, uma bactéria do gênero *Streptococcus sp.* em bactérias não patogênicas, negativas para hialuronidase e que são capazes de sintetizar o AH (SELYANIN, BOYKOV e KHABAROV, 2015).

A produção do AH por *S. zooepidemicus* é norteadada principalmente pela ação das enzimas hialuronano-sintase (HasA), UDP-glicose desidrogenase (HasB, E.C. 1.1.1.22) e UDP-glicose pirofosforilase (HasC, E.C. 2.7.7.9) (PEREIRA, 2017).

Segundo Pan, Vignoli e Celligoi (2013), a produção de ácido hialurônico ocorre de forma intracelular, pois a enzima HasA (hialuronano-sintase) atua na membrana plasmática da célula, polimerizando as unidades de ácido UDP-glicurônico e UDP-N-acetilglicosamina. Após a polimerização, grande parte do AH é excretado para fora do meio celular, na forma de cápsulas bacterianas, permitindo a elongação do polímero e a garantia de

uma elevada massa molecular, aumentando o interesse pelo produto (PAN, VIGNOLI e CELLIGOI, 2013). Conforme Hascall e Esko (2017), este processo de polimerização, pode ocorrer por até 10^4 vezes, sendo responsável pelo aumento da cadeia polimérica.

Desta forma, muitos autores empregam dodecil sulfato de sódio (SDS) para liberação do AH hialurônico produzido de dentro da cápsula excretada ou que permaneceu no interior da célula (AMADO *et al.*, 2016; AMADO *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2009; PAIVA, 2019; HUANG, CHEN e CHEN, 2007; JAGANNATH e RAMACHANDRAN, 2010). Outros partem diretamente para a precipitação e purificação do AH presente no caldo, sem a adição de SDS ou algum outro tensoativo para rompimento da cápsula (AROSKAR, KAMAT e KAMAT, 2012; MACEDO, 2006; OLIVEIRA, 2018; PAN *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2010; ZEE-WEI *et al.*, 2011; HOR *et al.*, 2014).

Ainda, a produção de AH é inversamente proporcional ao crescimento microbiano, assim como a massa molecular do produto formado. Isso ocorre devido à competição pela fonte de carbono e por energia entre as células do micro-organismo e a síntese do ácido, reduzindo assim sua produção, quando se tem a presença de grandes quantidades de biomassa no caldo fermentativo (PAN, VIGNOLI e CELLIGOI, 2013).

Devido elevada capacidade de retenção de água e sua viscoelasticidade, o ácido hialurônico possui uma vasta aplicação, seja nas áreas médicas ou farmacêuticas (PEREIRA, 2017; MACEDO, 2006). Muitos produtos, entre eles, cosméticos e máscaras faciais possuem AH em sua composição. Entretanto, ultimamente, o AH vem sendo utilizado na forma de micro-emplantes intradérmicos ou injeções, que proporcionam a correção de imperfeições na pele através de métodos de contorno plástico ou bio-revitalização (SELYANIN, BOYKOV e KHABAROV, 2015).

Estudos recentes foram desenvolvidos por Foglarová *et al.* (2016), com o desenvolvimento de filmes à base de AH para aplicações biomédicas. Os filmes produzidos apresentaram uma

superfície lisa e homogênea e foram preparados à base de ésteres palmitoilícos, ou seja, um material que fosse insolúvel em água. Com base na caracterização, o filme manteve o peso molecular do polímero utilizado e demonstrou não ser citotóxico, tendo um grande potencial de aplicação em diversas áreas da biomedicina, entre elas o uso, na engenharia de tecidos, para cicatrização de feridas.

Segundo Guo, Yin e Chen (2018), o AH de baixo peso molecular (3.000 – 10.000 Da), ou também chamado de oligo-ácido hialurônico possui atividade antioxidante superior ao AH de massa molar convencional, acima de 10^6 Da (OLIVEIRA, 2018). Sendo assim, Guo, Yin e Chen (2018) produziram um polímero/sistema nutracêutico (hialurossoma) empregando a co-encapsulação de oligo-AH com curcumina e resveratrol, garantindo um bom perfil de liberação gastrointestinal *in vitro*, podendo ser empregado como suplementação em sucos e iogurtes, visando a redução da quantidade de radicais livres presentes no organismo.

Moradi, Guimarães e Sahin (2021), estudaram a potencialidade de aplicação de exopolissacarídeos, oriundos de bactérias lácticas, na área alimentícia. Os autores citam que o uso do AH, considerado como um exopolissacarídeo, tem um potencial de aplicação para a formação de filmes alimentícios, devido às suas propriedades de geleificação.

Desta forma, vê-se que estudos da produção AH por rotas microbiológicas possuem relevância na área dos processos tecnológicos e biotecnológicos, uma vez que é responsável por desenvolver e otimizar métodos de produção deste composto bastante importante e com inúmeras aplicações na área médica, biomédica e potencial de aplicação na área de alimentos.

O objetivo geral da pesquisa foi produzir AH por *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920 empregando a fermentação submersa em biorreator, contemplando a investigação da produção de AH com variações na composição do meio de bioprodução, através de um *screening* e a análise de diferentes técnicas de liberação do

AH produzido: tratamento inicial do caldo, concentração de SDS, método de contato e tempo de contato.

Metodologias

Manutenção da cepa

A cepa de *S. zooepidemicus* ATCC 39920 foi reativada em placas contendo caldo Brain Heart Infusion – BHI (Merck KGaA/Alemanha), 37 g/L, e ágar (Kasvi/Brasil), 20 g/L, sendo incubada em estufa bacteriológica (Biomatic/Brasil) à 37 °C por 24 ou 48 h, até apresentar crescimento do micro-organismo. As colônias foram transferidas para frascos contendo caldo BHI (37 g/L) e ágar (20 g/L) inclinado e deixadas crescer por 24 h à 37°C. Após, foi adicionado óleo mineral (Synth/Brasil) ao frasco, resultando na solução estoque do micro-organismo, que permaneceu armazenada à 4°C, com repique sendo efetuado, no mínimo, a cada 6 meses.

Preparo do inóculo

Da cultura estoque de *S. zooepidemicus*, foi realizado o estiramento em placas de Petry contendo caldo BHI (37 g/L) e ágar (20 g/L) e incubação por 24 h em estufa bacteriológica à 37°C. Duas alçadas das unidades formadoras de colônia (UFC) foram transferidas para erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL do meio de inóculo (caldo BHI, 37 g/L) e o conteúdo foi incubado à 37°C e 150 rpm em agitador orbital (Brunswick/Excella E25R). A densidade óptica (DO) do inóculo foi observada ao longo do tempo em espectrofotômetro (Pró-Análise/UV-1600/Brasil), à 690 nm, com intervalos de 1 h até chegar em 0,8 unidades de absorbância (u.a.), quando o inóculo foi transferido para o meio de bioprodução. Para zerar o espectrofotômetro utilizou-se caldo BHI estéril, sem a presença do micro-organismo.

Produção de hialuronano em biorreator

As etapas de bioprodução de AH incluíram a da composição do meio de bioprodução, variando as concentrações dos sais, fonte de carbono e nitrogênio e aminoácido. Dessa forma foi possível avaliar a interferência dos componentes do meio através de *screening* do meio de produção, conforme as composições indicadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição dos meios de bioprodução avaliados

Meio	Composição do meio (g/L)				Referência
	Fonte de carbono*	Fonte de nitrogênio*	Sais	Aminoácido	
1	G (50)	EL (10)	K ₂ HPO ₄ (0,75) MgSO ₄ (0,75) (NH ₄) ₂ SO ₄ (0,75)	L-asparagina (8)	Adaptado de Amado <i>et al.</i> (2017) e Pereira (2017)
2	G (30)	EL (7,5) T (7,5)	KH ₂ PO ₄ (2,0) K ₂ HPO ₄ (0,50) MgSO ₄ (0,50) (NH ₄) ₂ SO ₄ (0,50)	L-asparagina (0,1)	Adaptado de Amado <i>et al.</i> (2017) e Pereira (2017)
3	G (30)	EL (7,5) T (15)	-	-	Adaptado de Oliveira (2018)
4	G (50)	EL (7,5)	K ₂ HPO ₄ (0,75) MgSO ₄ (0,75) (NH ₄) ₂ SO ₄ (0,75)	L-asparagina (8)	Adaptado de Amado <i>et al.</i> (2017) e Pereira (2017)
5	G (30)	EL (7,5)	KH ₂ PO ₄ (2,0) K ₂ HPO ₄ (0,50) MgSO ₄ (0,50) (NH ₄) ₂ SO ₄ (0,50)	L-asparagina (0,1)	Adaptado de Amado <i>et al.</i> (2017) e Pereira (2017)
6	G (30)	EL (7,5) T (15)	KH ₂ PO ₄ (2,0) K ₂ HPO ₄ (0,50) MgSO ₄ (0,50) (NH ₄) ₂ SO ₄ (0,50)	-	Adaptado de Amado <i>et al.</i> (2017)

*G – glicose; EL – extrato de levedura; T – triptona;

Para a realização da produção de AH, adicionou-se 10 % (v/v) de inóculo (DO = 0,8) ao meio de bioprodução (meios 1 a 6, Tabela 1) contido no biorreator (B. Braun Biotech International Biostat® B/Holanda). O controle de aeração foi realizado com um compressor aerador (Inalar/Compact/Brasil), o pH foi controlado continuamente ao longo do tempo de bioprodução com NaOH 5 M alimentado no reator com controlador de pH equipado com bomba dosadora (DosaTronic pH 2900/Provitec/Brasil) e a temperatura foi controlada mediante um banho termostático (Nova Ética/Brasil). A bioprodução para o *screening* de meio de produção ocorreu nas condições de pH 7,0, temperatura de 37°C, aeração de 1 vvm e tempo de 24 h, conforme reportado por Amado *et al.* (2016).

A Figura 1 ilustra os equipamentos e suas disposições durante a realização da bioprodução, podendo-se observar o biorreator encamisado (1), o banho termostático (2), o controlador de pH (3), o controlador do rotor de agitação (4) e o aerador (5).

Figura 1 – Aparato experimental para a produção de produção de AH em biorreator



Fonte: Autores, 2021.

Decorrido o tempo de produção (24 h) para o *screening* de meio, o caldo foi recolhido do biorreator e alíquotas de 10 mL, em triplicata, foram empregadas para as determinações de crescimento

celular e concentração de AH, sendo o restante do caldo armazenado à -10°C , em tubos de centrífuga contendo 40 mL cada.

Liberação do AH

Para a liberação do AH capsular produzido pelas células de *S. zooepidemicus*, inicialmente empregou-se a metodologia descrita por Amado *et al.* (2016), para as análises do *screening* de meios de bioprodução. Para tal, em 10 mL de caldo fermentativo foi adicionado 10 % (v/v) de uma solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 5% (m/v) (Neon/Suzano), permanecendo em contato (repouso) por 10 min. Após, o caldo fermentativo com SDS foi submetido à centrifugação (Centrifuge MPW-351R/MPW® Med. Instruments/Polônia) à 4800 rpm, 25°C e 15 min. O sobrenadante foi empregado para quantificação do AH produzido e as células para determinação do crescimento celular.

Após a definição do melhor meio de produção, o caldo oriundo deste processo foi submetido à várias análises da liberação do AH, empregando diferentes tratamentos do caldo, concentração de SDS, método de contato e tempo de contato, conforme as descrições subsequentes.

Análise do tratamento do caldo de bioprodução

O caldo oriundo da melhor bioprodução foi submetido à três tratamentos para avaliação da influência do SDS na liberação do AH e do uso da técnica de congelamento para ruptura celular, conforme estudos reportados por Üstün-Aytekin *et al.* (2016), em rompimento celular de *Lactococcus lactis* spp. *lactis* para a liberação da enzima aminopeptidase X-prolil dipeptidil, que empregou diversas técnicas de ruptura celular. Os tratamentos realizados foram:

Tratamento A: o caldo de bioprodução recém tirado do biorreator foi submetido à liberação somente empregando a etapa

de centrifugação (4800 rpm, 25°C e 15 min) para separação de biomassa, ou seja, sem o uso de SDS.

Tratamento B: o caldo de bioprodução recém tirado do biorreator foi submetido à liberação com 10 % (v/v) de SDS 5 % (m/v) em 10 min de contato em repouso, seguido de centrifugação (4800 rpm, 25°C e 15 min) para separação da biomassa.

Tratamento C: o caldo de bioprodução foi submetido à uma etapa de congelamento lento e único à -10°C, por 24 h, seguindo de liberação com 10 % (v/v) de SDS 5 % (m/v) em 10 min de contato em repouso, seguido de centrifugação (4800 rpm, 25°C e 15 min) para separação da biomassa.

Influência da concentração de SDS

Ainda com o intuito de verificar sobre a necessidade do uso de SDS para a liberação do ácido do AH, visto que vários autores não o empregam, foi avaliada a influência da concentração de SDS, de 0 a 10% (m/v), empregando o tempo de contato em repouso de 10 min e o melhor resultado obtido do tratamento do caldo. As demais etapas e configurações do processo de liberação seguiram o descrito por Amado *et al.* (2016).

Avaliação do método de contato para liberação do AH

Fixando-se a melhor concentração de SDS, foi realizada a avaliação de três diferentes métodos de contato para a liberação do AH, sob o tempo fixo de 10 min, empregando o método de repouso, agitação em agitador vortex (IKA/MS 3 Digital/Brasil) e banho ultrassônico (ReinaLab/USC-1850/Brasil). As demais condições após a etapa de contato, seguiram conforme indicado por Amado *et al.* (2016).

Cinética do tempo de contato

Para finalizar o estudo da liberação do AH, fixados os três melhores resultados anteriores, realizou-se um estudo cinético do tempo de contato, variando de 0 a 20 min, com o intuito de definir a melhor combinação de um conjunto de procedimentos para a liberação do AH presente no caldo de fermentação. Para a análise, 30mL de caldo, oriundo do melhor tratamento, foram submetidos a liberação com 10 % de SDS (v/v) na melhor concentração, empregando o melhor método de contato. Alíquotas de 2 mL foram retiradas em tempos pré-determinados e submetidas a etapas finais de centrifugação (4800 rpm, 25°C e 15 min), conforme Amado *et al.* (2016).

Determinações analíticas

Crescimento celular

Alíquotas do caldo de fermentação foram adicionadas em tubos de centrífuga previamente secos e pesados. Após, realizou-se a centrifugação (4800 rpm, 25°C e 15 min) para separação da biomassa onde, na sequência, ela foi seca em estufa (Tecnal/TE-393-2/Brasil) à 80°C por 24 h e, por diferença de massa, obteve-se a biomassa produzida naquele caldo de fermentação, conforme a Equação (1).

$$\text{Biomassa (g/L)} = \frac{m_F - m_I}{V} \quad (1)$$

Onde m_F é a massa final do tubo seco com biomassa (g), m_I é a massa inicial do tubo seco sem biomassa (g) e V é o volume de caldo adicionado ao tubo (L).

Concentração de AH

Para determinação da concentração de AH presente no caldo de fermentação após o processo de liberação, utilizou-se o método turbidimétrico por espectrofotometria descrito por Chen e Wang (2009).

Alíquotas de 1 mL do caldo de fermentação diluído após liberação do AH foram adicionadas em tubos de ensaio. Na sequência, adicionou-se 2 mL de brometo de cetiltrimetilamônio – CTAB (Dinâmica/Brasil) 2,5 % (m/v), dissolvido em uma solução de NaCl (Synth/Brasil) 0,2 M. Os tubos, após homogeneizados, foram deixados em repouso por 10 min à temperatura entre 20 e 30°C. As amostras foram lidas em espectrofotômetro à 400 nm contra um branco realizado com água em substituição à amostra.

A curva padrão utilizada foi construída com ácido hialurônico comercial (Exodo Científica/Brasil), nas concentrações de 10 a 100 µg/mL, nas mesmas condições descritas. Os resultados foram expressos em gramas de AH produzido por litro de caldo fermentativo (g_{AH}/L), levando em consideração a diluição realizada ou também em grama de AH por grama de célula seca obtida no cultivo ($g_{AH}/g_{célula_seca}$).

Análise estatística

Os dados obtidos nas triplicatas dos ensaios realizados, seja para *screening* do meio de produção ou para as demais análises de liberação do AH, foram tratados com o auxílio do software Statistica 7.0 (Statsoft Inc./Tulsa/OK/EUA), através de teste de comparação das médias (teste de Tukey).

Resultados e Discussões

Screening de meio de bioprodução

A Tabela 2 apresenta os resultados de produção de AH (em g/L e g/g_{g_{célula_seca}}) e biomassa (em g/L) para o *screening* de meios de bioprodução realizado, contemplando os 6 meios utilizados e já citados (Tabela 1).

Tabela 2 – Resultados de produção de AH (em g/L e g/g_{g_{célula_seca}}) e biomassa (em g/L) para o *screening* de meios de bioprodução

Meio de produção	AH (g/L)	Biomassa (g/L)	AH (g/g _{g_{célula_seca}})
1	0,224 ^c ± 0,011	5,17 ^d ± 0,17	0,043 ^b ± 0,002
2	0,349 ^b ± 0,022	11,60 ^a ± 0,26	0,030 ^c ± 0,001
3	0,194 ^c ± 0,013	5,05 ^d ± 0,15	0,038 ^b ± 0,002
4	0,299 ^b ± 0,013	10,70 ^b ± 0,40	0,028 ^c ± 0,001
5	0,568 ^a ± 0,020	6,65 ^c ± 0,25	0,085 ^a ± 0,004
6	0,207 ^c ± 0,019	10,47 ^b ± 0,23	0,020 ^d ± 0,002

*Médias ± desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas, que indicam não haver diferença significativa ($p < 0,05$) entre os meios de bioprodução.

A produção de AH oscilou entre 0,194 g/L (meio 3) e 0,568 g/L (meio 5). Em g/g_{g_{célula_seca}}, a produção de AH variou entre 0,20 g/g (meio 6) e 0,85 g/g (meio 5). A ausência de mesma tendência para as unidades de produção de AH (g/L e g/g_{g_{célula_seca}}) entre os meios de produção foi vinculada as diferenças observadas para a resposta biomassa (g/L), cujos valores oscilaram entre 5,05 g/L (meio 3) e 11,60 g/L (meio 2) e é empregada para calcular a produção de AH em g/g, a partir da unidade g/L. A inexistência de uma relação entre a concentração de AH (g/L) com a biomassa (g/L) sugere que a produção de AH não apresenta uma relação direta, ou seja, dependência, com o crescimento celular, ou seja,

com a quantidade de biomassa produzida. Corroborar com esta hipótese o fato de a maior produção de AH, de 0,568 g/L, estar vinculada a uma biomassa de 6,65 g/L, que é aproximadamente 50% inferior a biomassa (11 g/L) obtida para outras 3 condições avaliadas (meios 2, 4 e 6), cujas produções de AH oscilaram entre 0,207 e 0,349 g/L).

A maior produção do meio 5 pode ser atribuída à menor quantidade do aminoácido L-asparagina na composição do meio (0,1 g/L), quando comparado aos meios 1 e 4, que continham 8 g/L deste aminoácido e apresentaram produções de 0,224 e 0,299 g/L, respectivamente. Comparativamente com o meio 2, que contém triptona como fonte de nitrogênio, e resultou em 0,349 g/L de produção de AH, a quantidade de 0,568 g/L observado no meio 5, sugere que a retirada de uma das fontes de nitrogênio do meio, no caso a triptona, contribuiu para o aumento da produção de AH. De acordo com Pan, Vignoli e Celligoi (2013), a produção de AH é inversamente proporcional ao crescimento microbiano, o qual está diretamente relacionado com o teor de nitrogênio. Sendo assim, a ausência de triptona no meio 5 em relação ao 2, associada a menor quantidade de aminoácido podem estar contribuindo para a redução de 42,67 % do crescimento microbiano observado entre os ensaios, de 11,60 para 6,65 g/L, justificando o aumento de 93,28 % na produção de AH, indo de 0,044 para 0,085g/g_{célula_seca}.

Oliveira (2018), estudou a produção de AH em fermentação submersa com *S. zooeptidemicus*, empregando diferentes concentrações de aminoácidos essenciais, entre eles a glutamina, pertencente ao mesmo grupo do aminoácido utilizado na presente pesquisa. Oliveira (2018) obteve uma produção, nas melhores condições, de 0,843g/L de AH, empregando uma concentração de glutamina de 8g/L. Esse valor supera levemente o encontrado na Tabela 3, de modo que, a diferença pode advir de variação na composição do meio e no aminoácido empregado. Estudos com o uso de L-asparagina como componente do meio de bioprodução para AH não foram encontrados na literatura, entretanto, pode-se dizer que o uso de tal aminoácido, na concentração de 0,1 g/L

contribui para o aumento na produção de AH, conforme as análises experimentais comprovaram.

Também em produção de AH por *S. zooepidemicus*, Zee-Wei *et al.* (2011), obtiveram, para uma concentração de glicose do meio de 30 g/L e de extrato de levedura de 10 g/L, sendo essas as únicas fontes de carbono e nitrogênio empregadas, respectivamente, uma produção média de AH de 0,519 g/L e de crescimento microbiano de 6,35 g/L, corroborando com os resultados apresentados para o meio 5. Os demais componentes do meio de produção de Zee-Wei *et al.* (2011) foram sais de magnésio, potássio e amônia, com concentrações semelhantes às utilizadas no meio 5.

Considerando a produção de biomassa, os meios com excesso de crescimento microbiano (2, 4 e 6) não apresentaram produção de AH satisfatória, assim como os meios com escassez de biomassa produzida (1 e 3). Tal fato sugere que, a composição do meio ideal para produção de AH é uma combinação de compostos que garantam um crescimento microbiano intermediário, não afetando no autoconsumo de AH, por parte do *S. zooepidemicus* e nem no excesso de nutrientes necessários à produção. Isso pode ser atribuído ao reportado por Jagannath e Ramachandran (2010), que estabelecem que, meios com composições que favorecem muito significativamente o crescimento do micro-organismo são responsáveis por desencadear uma competição entre a produção de biomassa e a síntese do ácido, inclusive, podendo resultar na redução do peso molecular do AH sintetizado, o que pode vir a inviabilizar a sua aplicação futura.

Além disso, pode-se dizer que, um meio com uma quantidade adequada de glicose como fonte de carbono e sem excesso na composição das fontes de nitrogênio, aliado a concentrações pertinentes de sais e um aminoácido em quantidade adequada, em torno de 0,1 g/L, apresenta-se como um meio satisfatório para a produção de AH, o que pôde ser comprovado pelo presente estudo de *screening* de meios de produção.

Os meios 3 e 6 foram os que apresentaram as menores produções de AH, com 0,194 e 0,207g/L, respectivamente. Estes valores podem ser possivelmente atribuídos à ausência dos sais, para o meio 3, que apresentou somente as fontes de carbono e nitrogênio como componentes, ou à ausência do aminoácido L-asparagina para o meio 6, uma vez que, pode ter ocorrido uma competição do micro-organismo por fonte de alimento, fazendo-o consumir o AH que estava sendo produzido (PAN, VIGNOLI e CELLIGOI, 2013), já que os meios não apresentavam os sais essenciais ao crescimento ou o aminoácido essencial.

Oliveira (2018), avaliou também a produção e purificação de AH com carvão ativado de *S. zooepidemicus* empregando um meio composto apenas pela fonte de carbono (glicose) e a fonte de nitrogênio, estudando diferentes peptonas de soja, de modo que, em seu melhor resultado, obteve uma produção de AH de 0,37 g/L, estando ligeiramente acima do obtido para os meios 3 e 6 deste estudo. Este melhor desempenho obtido por Oliveira (2018) pode estar vinculado ao emprego de outra fonte de nitrogênio (peptona de soja), que já contém alguns aminoácidos como glutamina em sua composição.

Para estudos posteriores, de liberação do AH e cinética de bioprodução, empregou-se o meio 5, composto por glicose (30g/L), extrato de levedura (7,5g/L), KH_2PO_4 (2g/L), K_2HPO_4 (0,5g/L), MgSO_4 (0,5g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,5g/L) e L-asparagina (0,1g/L), em virtude de proporcionar o melhor resultado, com maior taxa de produção do AH associada a menor produção de biomassa.

Liberação do AH

A Tabela 3 apresenta os resultados referentes ao tratamento inicial do caldo de bioprodução, com o emprego dos três tratamentos para liberação do AH.

Tabela 3 – Resultados dos três tratamentos aplicados ao caldo de bioprodução para liberação do AH (g/L)

Tratamento do caldo	AH (g/L)
A	0,446 ^c ± 0,029
B	0,568 ^b ± 0,020
C	1,258 ^a ± 0,038

*Médias ± desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas, que indicam não haver diferença significativa ($p < 0,05$).

A Tabela 3 permite identificar que ocorre um aumento na quantidade de AH liberado após a execução da etapa de congelamento do caldo (tratamento C). Esse aumento é de tal forma que a quantidade liberada cresce 2,8 vezes quando comparado ao tratamento sem congelamento e sem uso de SDS (tratamento A).

O processo de congelamento de um produto consiste na transcrição de uma substância do estado líquido para o estado sólido, aliada à formação de cristais de gelo, uma vez que o processo de congelamento pode se dar de forma lenta, com redução de até 10°C/h, ou rápida, até 50°C/h (GONÇALVES e SILVEIRA JUNIOR, 2021). Contudo, o congelamento, quando executado na forma lenta, induz ao aumento do volume das células e o deslocamento de água, podendo ocasionar danos mecânicos e ruptura da parede celular. No caso de frutas e hortaliças, tende a afetar suas qualidades (BULUT *et al.*, 2018).

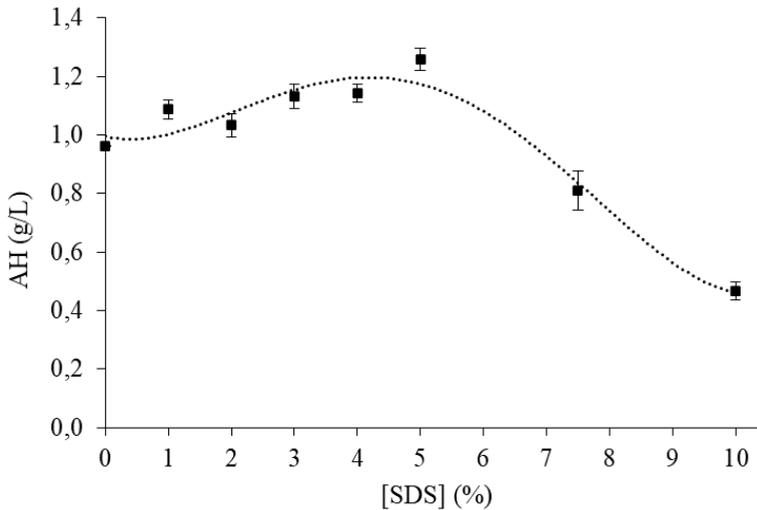
Ademais, pensando no processo de liberação do AH, é interessante ocasionar o rompimento capsular e celular, visto que o AH presente no interior da cápsula expelida pela célula ou que permaneceu na forma intracelular (PAN, VIGNOLI e CELLIGOI, 2013) será liberado ao meio à medida em que a cristalização ocorre pois, em congelamento lento, há a formação de grandes cristais de gelo, que romperão as células (BULUT *et al.*, 2018), justificando-se assim o aumento na quantidade AH liberado e presente no

caldo de fermentação após a etapa de congelamento, empregada no tratamento C.

Struszczyk *et al.* (2008) estudou diferentes métodos de rompimento celular de *Mucor circinelloides* para extração de enzimas quitosanólíticas e, entre eles, o método de congelamento à -20°C , proporcionou resultados satisfatórios, quando comparado ao uso de métodos empregando detergentes, como Tween 80 ou colato de sódio.

Para as próximas etapas, fixou-se o método de tratamento utilizado em C. Na Figura 2, estão expostos os resultados da influência de diferentes concentrações de SDS na liberação do AH produzido pelo meio 5 empregando o tratamento inicial selecionado.

Figura 2 – Concentração de SDS *versus* AH liberado



Observa-se um sensível incremento de AH liberado (30,63 %) no intervalo de concentração de 0 a 5% de SDS, seguido de uma redução acentuada na quantidade de AH liberado em concentrações superiores à 5%, demonstrando que a concentração

que mais favorece a liberação do ácido capsular é a de 5%, com um valor de $\cong 1,3$ g/L, para o intervalo de concentração avaliado.

Souza (2016) estudou a influência de diferentes concentrações de SDS para a liberação do AH capsular, empregando SDS de 0 a 0,5%. Os resultados encontrados pelo autor demonstram que o SDS não aumentou a quantidade de AH liberado, entretanto, o intervalo de concentração avaliado foi muito pequeno, limitando a análise com concentrações maiores de SDS, uma vez poderia ser realizada, em virtude da solubilidade máxima do SDS em água à 20°C ser de 10% em pH 7,2 (IFA, 2021). A análise em concentrações maiores que 0,5% de SDS, desenvolvidas na presente pesquisa, ampliaram a visão sobre liberação do AH, uma vez que, de 0 a 5% obteve-se um incremento na liberação do ácido de 30,63%.

Sendo assim, a concentração foi fixada em 5% para a posterior determinação do método de contato para liberação do AH, empregando 10 min em repouso, agitação em agitador vortex ou ultrassom, cujos resultados estão informados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados dos métodos de contato aplicados para liberação do AH (g/L)

Método	AH (g/L)
Repouso	0,990 ^b \pm 0,020
Agitação	1,030 ^{ab} \pm 0,040
Ultrassom	1,083 ^a \pm 0,006

*Médias \pm desvio padrão, seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas, que indicam não haver diferença significativa ($p < 0,05$).

Os métodos de contato que apresentaram os melhores desempenhos em relação a liberação de AH, conforme Tabela 4, foram conduzidos empregando ultrassom e agitação por 10 min, de modo que não ocorreu diferença significativa entre ambos. Já com relação ao método de contato em repouso por 10 min, com 0,99 g/L, não apresentou diferença significativa com o método de agitação, com 1,03 g/L, porém, possui liberação de AH inferior

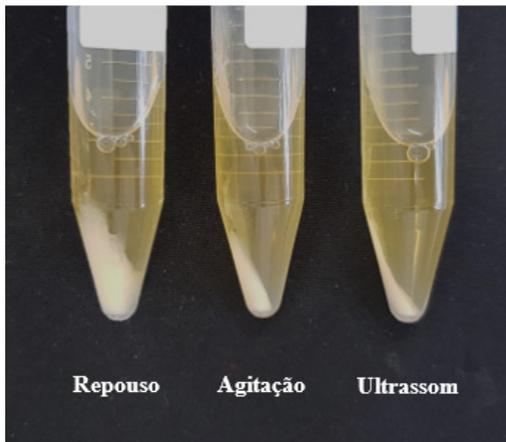
quando comparada ao método de ultrassom, com 1,083 g/L, que apresentou um aumento de 9,39% na liberação do ácido.

Esta tendência foi vinculada ao processo de ruptura celular empregado pelo ultrassom, o qual se dá mediante a cavitação, caracterizada pela sua intensidade, favorecendo a extração de compostos de interesse (ÜSTÜN-AYTEKIN *et al.*, 2016). Alguns autores já empregam o método de ultrassom para ruptura celular e liberação de AH produzido por *S. zooepidemicus* (HUANG, CHEN e CHEN, 2007) ou *Lactococcus lactis* (CHIEN e LEE, 2007) em suas metodologias.

Em pesquisas desenvolvidas por Hor *et al.* (2014), para a análise da produção de AH empregando tratamento ultrassônico para diferentes cepas de lactobacilos, obteve-se um aumento significativo, de até 51,6%, na concentração do AH, o qual foi atribuído ao aumento da permeabilidade da membrana celular proporcionada pelo ultrassom, possibilitando uma liberação mais efetiva dos compostos intracelulares.

Outro fator que pode estar contribuindo para a liberação do AH é a melhor separação da biomassa, observada para os métodos de agitação e ultrassom em relação ao em repouso (Figura 3).

Figura 3 – Aspecto visual dos tubos pós-centrifugação



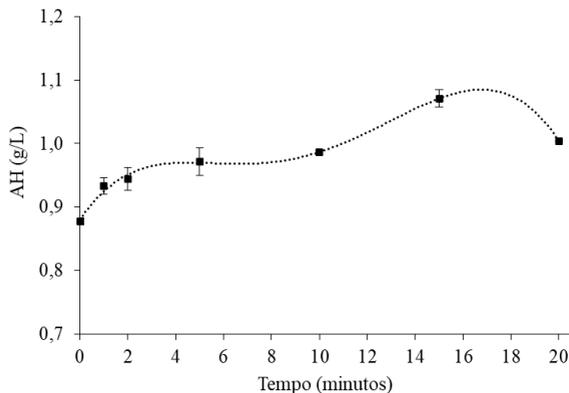
Fonte: Autores, 2021.

O uso de liberação com somente 10 minutos em repouso não sugere uma boa separação de biomassa, proporcionando um gradiente de concentração de AH ao longo da altura do tubo, interferindo na homogeneidade do AH no caldo e inviabilizando o processo de separação da biomassa e do ácido.

Isso pode ser atribuído ao fato de que o tensoativo, no caso, o SDS presente no caldo que foi submetido ao processo de contato com o AH promove interações eletrostáticas entre os dois compostos, formando complexos insolúveis de AH-tensoativo (SOUZA, 2016). Adaptando o exposto por Souza (2016) à Figura 3, conclui-se que, no tubo que permaneceu somente em repouso, as interações ocorreriam entre o AH do interior da célula ou cápsula e o tensoativo, acarretando uma separação ineficiente, pois as células não foram rompidas completamente e ainda apresentam AH em seu interior, permanecendo suspensas no sobrenadante oriundo do processo de centrifugação.

Para a próxima e última etapa de análise fixou-se o método de contato com o uso de ultrassom, em virtude da maior facilidade de execução e da sensível diferença positiva (9,39%) quando comparado ao método de agitação em agitador vortex. A Figura 4 apresenta a cinética de tempo de liberação de AH empregando ultrassom como método de contato.

Figura 4 – Cinética do tempo de liberação do AH



Analisando o tempo de contato em ultrassom (Figura 4), verifica-se um aumento da quantidade de AH liberado em função do tempo de contato para o intervalo de 0 a 15 min. Após os 15 min de contato, observa-se uma queda na quantidade AH liberado, obtendo-se como melhor tempo de contato 15 min.

Hor *et al.* (2014) avaliou a liberação do AH para o meio extracelular em ultrassom, conforme já mencionado, empregando um intervalo de tempo de 1 a 3 min, sendo que, para algumas cepas avaliadas houve aumento na liberação do AH à medida que o tempo passou de 1 para 3 min. Entretanto, em virtude de o intervalo avaliado ser relativamente curto, não se pode definir um melhor tempo de contato para a liberação do AH.

Ademais, pequenas diferenças no AH liberado destas duas últimas análises (método de contato e tempo de contato) com a análise da concentração de SDS advém de o caldo ter sido realocado à geladeira entre uma análise e outra, podendo apresentar degradação do AH.

Ao final no processo de liberação do AH define-se uma sequência lógica de etapas a serem consideradas para este processo e que foram obtidas como melhores nos estudos realizados. Tais etapas são o congelamento do caldo por 24 h após a bioprodução, seguido de liberação com 10 % (v/v) de SDS 5 % (m/v), empregando o método de contato por ultrassom em um tempo de 15 min. Os resultados obtidos maximizam a quantidade AH liberado, de modo que o maior influenciador do processo é o congelamento inicial do caldo de bioprodução. Isso contribui positivamente com as posteriores etapas do processo de recuperação e purificação do produto, assim como, para a extração do AH produzido por *S. zooepidemicus* em sua totalidade.

Conclusão

A definição do meio mais adequado para a bioprodução de um composto, no caso, o biopolímero AH, é de fundamental

importância para maximizar a produção do ácido. Sendo assim, proferiu-se uma produção de 0,568g/L de AH em meio composto por glicose (30g/L), extrato de levedura (7,5g/L), KH_2PO_4 (2g/L), K_2HPO_4 (0,5g/L), MgSO_4 (0,5g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,5g/L) e L-asparagina (0,1g/L).

A etapa de liberação do AH produzido é necessária para retirar o ácido do interior da cápsula ou da célula do micro-organismo produtor, sendo extremamente necessário o processo de maximização da liberação, visto que esta etapa afetará as etapas subsequentes de recuperação e purificação do ácido, evitando perdas na separação da biomassa. Sendo assim, obteve-se como principais condições de liberação uma etapa prévia de congelamento do caldo por 24h, seguido de uma extração do AH com o uso de SDS 5% e 15 min de contato em ultrassom.

O trabalho desenvolvido apresentou resultados favoráveis, perante os objetivos descritos, e que permitem a continuidade da pesquisa, uma vez que conseguiu-se produzir o AH através de cepa de *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920 em fermentação submersa e maximizar o processo de liberação do AH produzido, garantindo uma maior concentração do ácido no caldo fermentativo.

Referências

AMADO, I. R.; VÁZQUEZ, J. A.; PATRANA, L.; TEIXEIRA, J. A. Cheese whey: A cost-effective alternative for hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus*. **Food Chemistry**, United Kingdom, v. 198, p. 54-61, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.062.

AMADO, I. R.; VÁZQUEZ, J. A.; PATRANA, L.; TEIXEIRA, J. A. Microbial production of hyaluronic acid from agro-industrial by-products: Molasses and corn steep liquor. **Biochemical Engineering Journal**, Japão, v. 117, p. 181-187, 2017. DOI: 10.1016/j.bej.2016.09.017.bened

AROSKAR, V. J.; KAMAT, S. D.; KAMAT, D. V. Effect os

Various Nutritional Supplements on Hyaluronic Acid Production. **IIOAB Letters**, Pittsburgh, v. 2, p. 16-24, 2012. DOI: 10.5195/iioablett.2012.18.

BULUT, M.; BAYER, Ö.; KIRTIL, E.; BAYINDIRLI, A. Effect of freezing rate and storage on the texture and quality parameters of strawberry and green bean frozen in home type freezer. **International Journal of Refrigeration**, v. 88, p. 360-369, 2018. DOI: 10.1016/j.ijrefrig.2018.02.030.

CAVALCANTI, A. D. D. **Análise do desempenho de processos de separação e purificação do ácido hialurônico produzido por fermentação**. 112 f. 2019. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2019. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/334188>. Acesso em: 19 ago. 2020.

CHEN, S. J.; CHEN, J. L.; HUANG, W. C.; CHEN, H. L. Fermentation process development for hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920. **Korean Journal Chemical Engineering**, New York, v. 26, n. 2, p. 428-432, 2009. DOI: 10.1007/s11814-009-0072-3.

CHEN, Y. H.; WANG, Q. Establishment of CTAB turbidimetric method to determine hyaluronic acid content in fermentation broth. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 78, p. 178-181, 2009. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.04.037.

FOGLAROVÁ, M.; CHMELAR, J.; HUERTA-ANGELES, G.; VÁGNEROVÁ, H.; KULHÁNEK, J.; TOMÁNKOVÁ, K. B.; MINARÍK, A.; VELEBNY, V. Water-insoluble thin films from palmitoyl hyaluronan with tunable properties. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 144, p. 68-75, 2016. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.02.027.

GONÇALVES, M. P.; SILVEIRA JUNIOR, V. Cuidado com a velocidade de congelamento de alimentos em *freezer* doméstico. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 2777-2784, 2021. DOI: 10.34119/bjhrv4n1-222.

GUO, C.; YIN, J.; CHEN, D. Co-encapsulation of curcumin and resveratrol into novel nutraceutical hyalurosomes nano-food delivery system based on oligo-hyaluronic acid-curcumin polymer. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. 1, p. 1033-1037, 2018. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.046.

HASCALL, V.; ESKO, J. D. Hyaluronan. In: VARKI, A. *et al.* **Essentials of Glycobiology**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310274/>. Acesso em: 07 set. 2020.

HOR, K. C.; LEW, L. C.; CHOI, S. B.; LIONG, M. T. Effects of ultrasonication on the production of hyaluronic acid by lactobacilli. **Acta Alimentaria**, v. 43, n. 2, p. 324-332, 2014. DOI: 10.1556/aalim.43.2014.2.17.

HUANG, W.; CHEN, S.; CHEN, T. Modeling the microbial production of hyaluronic acid. **Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineering**, v. 38, p. 355-359, 2007. DOI: 10.1016/j.jcice.2007.02.004.

IFA, Intitute für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung. **Sodium dodecyl sulfate**. Disponível em: <https://gestis.dguv.de/data?name=020800&lang=en>. Acesso em: 09 maio 2021.

JAGANNATH, S.; RAMACHANDRAN, K. B. Influence of competing metabolic processes on the molecular weight of hyaluronic acid synthesized by *Streptococcus zooepidemicus*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, p. 148-158, 2010. DOI: 10.1016/j.bej.2009.09.003.

MACEDO, A. C. de. **Estudo da produção de ácido hialurônico por fermentação de *Streptococcus zooepidemicus* em substrato de caju (*Anacardium occidentale L.*)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/266287>. Acesso em: 10 ago. 2020.

MORADI, M.; GUIMARÃES, J. T.; SAHIN, S. Current applications of exopolysaccharides from lactic acid bacteria in the development of food active edible packaging. **Current Opinion in Food Science**, v. 40, p. 33-39, 2021. DOI: 10.1016/j.cofs.2020.06.001.

OLIVEIRA, R. C. de. **Principais parâmetros de processo para produção microbiana do ácido hialurônico de alta massa molar e a sua purificação em carvão ativado**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/337347>. Acesso em: 21 ago. 2020.

PAIVA, W. K. V. de. **Produção, caracterização e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do ácido hialurônico produzido por *Streptococcus zooepidemicus* CCT 7546**. 2019. 54f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019. Disponível em: <https://monografias.ufrn.br/jspui/handle/123456789/8910>. Acesso em: 15 set. 2020.

PAN, N. C.; VIGNOLI, J. A.; CELLIGOI, M. A. P. C. Ácido hialurônico: características, produção microbiana e aplicações. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, Londrina, v. 2, n. 4, p. 42-58, 2013. DOI: 10.5433/2316-5200.2013v2n4p42.

PAN, N. C.; VIGNOLI, J. A.; PEREIRA, H. C. B.; CELLIGOI, M. A. P. C. Agroindustrial byproducts for the production of hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920. **International Journal of Scientific & Technology Research**, Índia, v. 4, n. 4, p. 114-118, 2015. DOI: 10.1016/j.bej.2018.06.011.

PEREIRA, H. C. B. **Ácido hialurônico de *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920: produção e avaliação de suas atividades antimicrobiana e antioxidante**. 2017. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017. Disponível em: <http://www>.

bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000219716. Acesso em: 26 nov. 2020.

PIRES, A. M. B.; MACEDO, A. C.; EGUCHI, S. Y.; SANTANA, M. H. A. Microbial production of hyaluronic acid from agricultural resource derivatives. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6506-6509, 2010. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.03.074.

SELYANIN, M. A.; BOYKOV, P. Y.; KHABAROV, V. N. **Hyaluronic Acid: Preparation, Properties, Application in Biology and Medicine**. 1 ed. Moscou: Martinex International Research Center, 2015. Disponível em: <https://br1lib.org/book/2655251/b896c0?id=2655251&secret=b896c0>. Acesso em: 10 jan. 2021.

SOUZA, A. B. de. **Influência da centrifugação na recuperação do ácido hialurônico a partir do caldo fermentado**. 2016. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2016. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/305522>. Acesso em: 25 fev. 2021.

STRUSZCZYK, K.; SZCZESNA-ANTCAZAK, M.; WALCZAK, M.; ANTCZAK, T. Isolation and purification of intracellular chitosanolytic enzymes of *Mucor circinelloides*. **Progress on chemistry and application of chitin and its derivatives**, v. 13, p. 107-116, 2008. Disponível em: http://www.ptchit.lodz.pl/PTChit/13_14.pdf. Acesso em: 10 abr. 2021.

ÜSTÜN-AYTEKIN, Ö.; ARISOY, S.; AYKETIN, A. Ö.; YILDIZ, E. Statistical optimization of cell disruption techniques for releasing intracellular X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase from *Lactococcus lactis* spp. *lactis*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, p. 163-171, 2016. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.09.010.

ZEE-WEI, L.; RAHIM, R. A.; ARIFF, A.; MOHAMAD, R. Medium formulation and impeller design on the biosynthesis of high molecular weight hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 39920. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 15, p. 2114-2123, 2011. DOI: 10.5897/AJMR11.305.



ANÁLISE DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUAS DA MICRORREGIÃO DE ERECHIM

*Lia Paula Pletsch¹, Bianca Trindade Oldoni², Clarice Steffens³,
Juliana Steffens⁴*

¹Acadêmico(a) do Curso de Engenharia Química (URI) - liappletsch@gmail.com

²Engenheira química - bianca.oldoni@gmail.com

³Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) - julisteffens@uricer.edu.br

⁴Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) - clarices@uricer.edu.br

Resumo: A água é um recurso natural imprescindível para o planeta um dos principais recursos para sobrevivência. Nos últimos anos a água potável está se tornando escassa, devido a contaminação presente nas águas. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de amostras de água da Microrregião de Erechim. Foram analisadas águas de bebedouro de Erechim, de poço artesiano de Aratiba e de poços rasos de Faxinalzinho e Mariano Moro. Os parâmetros de turbidez, cloretos, dureza e alcalinidade para todas as amostras ficaram dentro dos padrões, exceto pH para amostra de Faxinalzinho que apresentou valor menor do que o preconizado pela Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde e do CONAMA nº 357/05. Para elementos químicos Zn, Ca, Mn, Cu, Cd, Na e K, todas as amostras apresentaram-se dentro dos padrões quando eram estabelecidos. Em relação a análise microbiológica, a amostra de Mariano Moro apresentou presença de Coliformes totais. Portanto, das amostras analisadas, as de Faxinalzinho e de Mariano Moro se apresentam fora dos limites da legislação onde, a de Mariano Morno não pode ser utilizada para fins de consumo humano.

Palavras-chave: Turbidez. Minerais. Dureza. Cloretos. Coliformes totais.

Introdução

A água é um recurso natural imprescindível para a vida no planeta e pode se apresentar em diversos reservatórios, sejam eles superficiais ou subterrâneos. As águas encontradas em reservatórios subterrâneos são importantes fontes de água doce. Essas águas são mais abundantes que as águas superficiais dos rios e lagos, pois, embora se encontrem armazenadas em poros e fissuras milimétricas das rochas, ocorrem em grandes extensões, gerando grandes volumes de água (ABAS, 2016).

Segundo a ABAS (Associação Brasileira de Águas Subterrâneas, 2018) água subterrânea é toda a água que ocorre abaixo da superfície da Terra, preenchendo os poros vazios intergranulares das rochas sedimentares, ou as fraturas, falhas ou fissuras das rochas compactas, e que sendo submetidas a duas forças (de adesão e de gravidade) desempenha um papel essencial na manutenção da umidade do solo, do fluxo dos rios, lagos e brejos. As águas subterrâneas cumprem uma fase do ciclo hidrológico, uma vez que constituem uma parcela da água precipitada.

As águas subterrâneas naturais, como consequência de sua composição química bem como das condições do meio onde se encontram, apresentam uma série de propriedades ou características como turbidez, pH, alcalinidade, dureza, cloretos, condutividade elétrica, minerais, microbiológica, entre outras, que variam de acordo com o local onde estão disponíveis (RAVE, 2009).

A turbidez é uma medida que identifica a presença de partículas em suspensão na água, desde tamanhos grosseiros até os colóides. Os principais causadores da turbidez na água são areia, argila e microrganismos. O pH é a medida da atividade dos íons de hidrogênio e expressa a intensidade das condições ácidas, pH menor que 7, ou alcalinas pH maior que 7 (BRASIL, 2011).

A alcalinidade é a medida total das substâncias presentes na água, capazes de neutralizar os ácidos (ROBAINA, 2000). A dureza é a capacidade da água consumir sabão e formar incrustações, pela

presença de carbonatos e bicarbonatos, eliminados por evaporação. A dureza permanente decorre dos cloretos e sulfatos, que persistem após a ebulição (BRASIL, 2011).

Os cloretos, provêm da dissolução de minerais ou da intrusão de águas do mar, podem também, advir dos esgotos domésticos ou industriais em altas concentrações, conferem sabor salgado à água ou propriedades laxativas. A condutividade se refere à capacidade que uma solução aquosa possui em conduzir corrente elétrica. Esta capacidade depende basicamente em presença de íons, da concentração total, mobilidade, valência dos elétrons, indicando o grau de mineralização da água e variações nas concentrações de minerais dissolvidos (CLESCERI *et al.*, 1998).

A água destinada ao consumo humano é a potável. Para a água ser considerada potável, ela deve atender aos padrões da Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A água potável deve apresentar ausência de Coliformes termotolerantes ou *Escherichia Coli* em 100 mL de amostra e ausência de bactéria do grupo de coliformes totais em 100 mL.

A qualidade da água é de fundamental importância, e é uma questão de saúde pública. A presença de coliformes na água não apresenta, por si só, um perigo à saúde, mas indica a possível presença de outros organismos causadores de problemas à saúde. Os principais indicadores de contaminação fecal são as concentrações de coliformes totais e fecais que podem ser expressas em número de organismos por 100 ml de água (FRANCO, 2003).

E para realizar o tratamento de água como é o caso da água do mar e das águas subterrâneas. Assim deve-se dar maior prioridade, a preservação, o controle e a utilização racional das águas doces superficiais.

O Brasil possui legislações referentes à qualidade da água, dentre elas a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente

(CONAMA) nº 357, de 2011 (BRASIL, 2011) que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, estabelecendo limites individuais a cada substância a ser analisada.

De acordo com a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro 2011 (BRASIL, 2011), água para consumo humano é definida como a água potável destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente da sua origem. Considera-se como potável aquela água que atende um padrão mínimo de condições físico químicas, estabelecida na Portaria supracitada e que não ofereça risco à saúde.

Os elementos predominantes nas águas principalmente subterrâneas minerais, variam com as rochas e terrenos pelos quais percorrem enquanto infiltram-se no solo, podendo apresentar alterações devido condições hidrogeológicas, hidroclimáticas e a biota (RESENDE e PRADO, 2008).

A microrregião de Erechim do Estado do Rio Grande do Sul, bem como inúmeras outras regiões do Brasil, estão sofrendo cada vez mais com problemas de escassez e de contaminação das águas superficiais, o que faz com que cada vez mais são necessários o uso de água subterrânea para o abastecimento da população. Para verificar a qualidade das águas é necessário a realização de análises.

Metodologia

As amostras de água foram coletadas em frascos estéreis em locais distintos: água de bebedouro no município de Erechim, de poço artesiano do município de Aratiba com (profundidade de 78 m), e 2 poços rasos de Mariano Moro e de Faxinalzinho, com profundidades de aproximadamente 2 m, totalizando 4 amostras. O período de coleta foi entre os meses de março e abril de 2021. No Quadro 1 são apresentadas as coordenadas geográficas dos pontos de coleta de água.

Quadro 1: Coordenadas geográficas dos pontos de coleta das amostras de água

Ponto de coleta	Coordenadas
Aratiba	Latitude: 27°28'57" Longitude: 52°15'46"
Faxinalzinho	Latitude: -27.422582 Longitude: -52.67806
Mariano Moro	Latitude: 27°13'04" Longitude: 52°10'15"
Erechim (URI)	Latitude: -27.6494 Longitude: -52.2684

Das amostras coletadas foram avaliados os parâmetros de pH, condutividade, turbidez, alcalinidade, cloretos, minerais, dureza, coliformes fecais.

O pH das amostras realizadas em triplicata foi determinado diretamente por imersão de eletrodo combinado de vidro conectado a um pHmetro digital de bancada da marca Hayonik (modelo FTP 905).

A condutividade foi determinada com medição direta em condutivímetro (Lutron CD 4301).

A turbidez foi determinada pelo método nefelométrico, utilizando o turbidímetro (PoliControl AP 2000). Inicialmente, calibrou-se o aparelho de acordo com as instruções do fabricante e efetuou-se a leitura dos padrões. As amostras foram homogeneizadas para dispersar as partículas. Posteriormente as cubetas foram preenchidas com cada amostra e efetuadas as leituras. A turbidez foi expressa em unidades nefelométricas de turbidez (UNT).

Para a determinação da alcalinidade total foi utilizada a metodologia de titulação com ácido sulfúrico (H_2SO_4). Para a análise foram adicionados 75 mL de amostra em um erlenmeyer de 200 mL e adicionadas três gotas da solução indicadora de alaranjado de metila. Em seguida, foi realizada a titulação com o auxílio de uma bureta, gota a gota, contendo uma solução de ácido

sulfúrico com normalidade de 0,02 N, até se observar a mudança de coloração da solução (para rosa), e foi anotado então o volume de ácido sulfúrico gasto da bureta, onde a alcalinidade P é obtida por meio da Equação 1, com os resultados expressos em CaCO_3 mg/L (LAURENTI, 1997).

$$P = V_a \times 13,345 \quad (1)$$

Onde V_a é o volume de ácido sulfúrico gasto na titulação.

Para a determinação da dureza total foi utilizado o método de volumetria de complexação, cujo agente complexante é o sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Para a análise, foram adicionados 50 mL de amostra em um erlenmeyer de 250 mL e adicionados 10 mL de solução tampão $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$, pH = 10. Em seguida adicionados 2 gotas do indicador Negro de Eriocromo coloração azul, junto à amostra, apresentando coloração vinho agitando-a manualmente. Na sequência, a amostra foi titulada, gota a gota, com o auxílio de uma bureta contendo solução de EDTA 0,1 N, até restaurar a coloração fosse azul, e o volume gasto de EDTA da bureta foi anotado. O teor de dureza foi determinado pela Equação 2, com os resultados expressos em CaCO_3 mg/L (BRASIL, 2009):

$$\text{Dureza total (CaCO}_3 \text{ mg/L)} = V_b \times 10 \times 10 \quad (2)$$

Onde V_b é o volume em mL de solução de EDTA 0,1 M gasto na titulação.

Os cloretos foram determinados mediante titulação com uma solução padrão de nitrato de prata (AgNO_3 0,1 N). Foram adicionados 100 mL da amostra para um erlenmeyer de 250 mL adicionando em seguida 20 gotas da solução indicadora de cromato de potássio (K_2CrO_4 10%), a qual deixou a amostra amarela. Em seguida, foi realizada a titulação com o uso de uma bureta, gota a gota, contendo nitrato de prata (AgNO_3), até o aparecimento de um precipitado avermelhado. O volume gasto de nitrato de prata da bureta foi anotado, e o teor de cloretos obtido através da Equação 3 (BRASIL, 2009).

$$\text{Cloretos (Cl mg/L)} = V_c \times 3,55 \times 10 \quad (3)$$

Onde V_c é volume em ml AgNO_3 0,1 N gasto na titulação.

Para análise dos metais/minerais foi adicionado 150 mL de cada amostra em um béquer de 250 mL, com 10 mL de ácido nítrico HNO_3 65%. Aquecido em chapa até o ponto de ebulição, permanecendo nestas condições até restar no béquer 50 mL das amostras, a qual foi transferida para um balão volumétrico de 200 mL, tendo seu volume aferido com água milli Q. Os teores dos elementos Zinco, Cálcio, Manganês, Cobre, Cadmio, Sódio e Potássio foram obtidos utilizando o método de espectrometria de absorção atômica com chama – (Savantaa® Modelo 6BC) com digestão prévia das amostras.

Para a determinação de coliformes fecais, foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), seguindo o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Preparo da amostra e diluições: em um béquer foi pesado 35,6g de LST (Lauryl Tryptose Broth) e diluído em 400 mL de água destilada sendo homogeneizado. Para *Escherichia Coli* foi pesado 0,15g de peptona com 150 mL de água destilada sendo homogeneizado. Para ambos preparos foi realizado em triplicata, diluindo a amostra em 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Após encaminhado para a autoclave colocado para esterilizar por 15 min em 121 °C. Em seguida, foi transferido 1 mL desta primeira diluição para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1% e foi homogeneizado (diluição 10^{-2}). Então, foi retirado 1 mL deste tubo de ensaio e adicionou-se em outro tubo de ensaio contendo novamente 9 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizou-se (diluição 10^{-3}).

Teste presuntivo: nesta etapa foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada diluição e inoculadas em 3 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Tryptose (LST) com um tubo de Durham dentro. No total foram utilizados 9 tubos para cada amostra coletada, e em seguida, foram incubados a 35°C por 24 h. Após esse período

foi observado se ocorreu ou não a formação de gás dentro do tubo de Durham e/ou turvação do meio dentro do tubo. Ocorrendo a confirmação da presença de gás e/ou turvação, deve-se realizar o teste confirmativo para *Escherichia coli*.

Teste confirmativo: para a confirmação da presença de Coliformes fecais, foi transferido 1 alçada, utilizando a alça de platina, para cada tubo positivo com caldo LST para igual quantidade de tubos contendo caldo de *Escherichia coli*. Em seguida, foram incubados à 45°C por 24 h. A presença de gás no interior dos tubos de Durham e/ou a turvação do meio é considerada reação positiva para contaminação de origem fecal.

Resultados e discussão

Os resultados das análises físico-químicas realizadas nas amostras de água coletadas na Microrregião de Erechim encontram-se na Tabela 1, bem como seus respectivos parâmetros da Portaria MS.nº2.914/20 11 (BRASIL, 2011) e CONAMA nº 357/05 (BRASIL, 2005).

Tabela 1- Análises físico-químicas das amostras de água coletadas na Microrregião de Erechim.

Amostras de água	pH	Condutividade (µs)	Turbidez (NTU)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Cloretos (mg/L)	Dureza (CaCO ₃ mg/L)
Faxinalzinho	4,63	54,06	0,44	4,00	17,75	40
Aratiba	7,10	82,01	0,42	69,39	19,65	60
Erechim	6,45	37,63	0,28	13,34	17,89	50
Mariano Moro	6,73	26,20	4,17	21,35	3,55	20
Portaria MS. nº2.914/20 11 e CONAMA nº 357/05	6-9	N.E	5,0	30 - 500	250	500

*N.E- Não Especificado

Com relação ao pH observa-se que três amostras apresentaram valores dentro do exigido pela legislação, exceto a de Faxinalzinho. PH abaixo de 6, com o tempo pode ocasionar

corrosão em recipientes e tubulações. O pH é considerado um dos parâmetros mais importantes para indicar a qualidade da água, pois pode ser utilizado para avaliar o tratamento realizado. Quando fora dos padrões indicados pode contribuir para a corrosão das tubulações e sistema hidráulico (FREITAS *et al.*, 2002). O valor de pH pode ser influenciado por fatores como concentração de CO₂, oxidação da matéria orgânica, entre outros (VON SPERLING, 1996).

O maior valor de condutividade foi observado para a amostra de Aratiba e o menor para a de Mariano Moro, no entanto todas as amostras apresentaram baixa concentração de sais dissolvidos. Embora este parâmetro não seja integrante do padrão de potabilidade de água brasileiro, ele é monitorado nas estações de tratamento pois é indicador de redução da concentração de sólidos dissolvidos. A condutividade está relacionada ao teor de salinidade, indicando a capacidade de transmitir a corrente elétrica que água possui, devido a presença de substâncias dissolvidas que se dissociam em ânions e cátions (VON SPERLING, 1996).

Para a turbidez, todas as amostras apresentaram valores dentro do que preconiza a legislação. Este parâmetro está relacionado a presença de materiais sólidos em suspensão e argilas suspensas na água, que dão origem a colóides, além do tamanho e da geometria de partículas que interferem na penetração da luz (FERREIRA *et al.*, 2015).

Em relação a alcalinidade somente a amostra de água de Aratiba ficou dentro dos limites exigidos, as outras amostras ficaram abaixo. De acordo com (LIRA, 2014) elevados valores de alcalinidade estão relacionados a processos de decomposição da matéria orgânica e presença de micro-organismos, com liberação e dissolução do gás carbônico (CO₂) na água. Normalmente as águas superficiais possuem alcalinidade natural em concentração suficiente para reagir com o sulfato de alumínio nos processos de tratamento. Quando a alcalinidade é muito baixa existe a necessidade de se proporcionar uma alcalinidade artificial com aplicação de substâncias alcalinas (FUNASA, 2004). Caso um

ambiente aquático presente abundância de material tampão (alta alcalinidade), este é mais estável e resistente às variações de pH. Enquanto águas de baixa alcalinidade (< 24 mg/L como CaCO_3) apresentam baixa capacidade de tamponamento e, assim, são suscetíveis às mudanças de pH (CHAPMAM e KIMSTACK, 1992). As águas superficiais raramente excedem os 500 mg/L de CaCO_3 (BITTENCOURT; HINDI, 2000), sendo esta a unidade usada para expressão deste parâmetro.

Todas as amostras analisadas apresentaram teores de cloretos dentro dos padrões de potabilidade de água permitidos pela legislação. Cloreto é um ânion inorgânico comum encontrado em águas, sendo que sua concentração depende de fatores geológicos e geográficos. Água com grande quantidade de cloretos apresenta uma característica mais salgada (COSTA *et al.*, 2015).

Todas as amostras podem ser classificadas em relação a dureza como pouco duras, e estão de acordo com a legislação. Dureza da água está relacionada com a concentração de íons de determinados minerais dissolvidos nesta substância. Em relação a água para consumo humano, a dureza não proporciona transtorno de ordem sanitária (VON SPERLING, 1996).

Portanto, a água do município de Faxinalzinho encontra-se fora dos padrões da legislação pela análise de pH. Isto pode estar relacionado com a origem desta amostra e pode ser influenciado pela presença de resíduos.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados de Metais/minerais presentes nas amostras de água coletadas na microrregião de Erechim

Tabela 2 - Metais/minerais das amostras de água coletadas na microrregião de Erechim.

Amostras de água	Metais/minerais (mg/L)						
	Zn	Ca	Mn	Cu	Cd	Na	K
Faxinalzinho	ND	7,45	1,59	0,09	ND	24,00	4,00
Aratiba	ND	23,91	ND	0,10	ND	15,00	1,02
Erechim	ND	7,10	ND	0,12	ND	5,00	1,00
Mariano Moro	ND	4,33	0,02	0,09	ND	5,02	1,01
Portaria GM/MS. N°888/2021 e Portaria MS. n° 5/2017	5	-	0,1	2	0,003	200	-

*ND- Não detectado

Para todas as amostras não foi detectado Zn e Cd nas amostras analisadas. Os minerais Cu e Na para todas as amostras permaneceram dentro dos padrões para todas as amostras. Quando a concentração de Na na água for acima de 200 mg/L provoca gosto desagradável, e acima 1 mg/L de Cu também confere sabor desagradável a água e pode ser tóxicos para a vida aquática (RIBEIRO, 2002; QUEIROS e OLIVEIRA, 2018). Para Ca e K não existe limite pela legislação para estes parâmetros. No entanto, a amostra de Aratiba apresentou maior valor de Ca em relação as outras amostras, o que está coerente com o maior resultado de dureza observado para esta amostra. Sais de cálcio, em concentrações normais, não representam risco à saúde do ser humano, sendo, no entanto recomendados para o desenvolvimento de ossos e dentes, além de oferecer proteção contra algumas doenças, por exemplo a osteoporose (QUEIROS e OLIVEIRA, 2018).

A formação de depósitos de sais inorgânicos, conhecidos na indústria como incrustação ou *scale* é um dos problemas mais importantes e sérios na garantia de escoamento que geralmente envolve os sistemas de injeção de água. Os tipos de incrustação mais comum são os sulfatos de bário, estrôncio, os carbonatos de cálcio e magnésio. Os sulfatos são precipitados devido a mistura da água do mar, os carbonatos são precipitados devido à mudança na

saturação, que é muito sensível a mudanças na temperatura, pressão e pH. As incrustações inorgânicas, são formadas por sais de baixa solubilidade em água, que quando precipitam podem aglomerar-se em diferentes pontos (DUARTE, 2010).

O mineral (CaCO_3) carbonato de cálcio, quimicamente inerte e com características alcalinas, responsável por manter o pH constante nas águas naturais, é muito utilizado na indústria de cimento, papel e tintas. Esse mineral é um dos maiores causadores de incrustação salina em sistemas de aquecimento de água, torres de resfriamento, plantas de dessalinização e no escoamento de fluidos aquosos (DUARTE, 2010).

A amostra de Faxinalzinho apresentou teores acima do permitido pela legislação para o Manganês. Este elemento é encontrado em águas nas suas formas solúveis e/ou iônicas, devido às características geoquímicas do local. Quando entra em contato com o oxigênio forma precipitados conferindo cor, odor e sabor característicos às águas (PARRON *et al.*, 2011).

Com relação as análises microbiológicas, a amostra de água de Mariano Moro (Tabela 3) apresentou contaminação de Coliformes totais, e apresentou ausência de *Escherichia coli*, estando esta amostra em desacordo com o estabelecido na Resolução CONAMA nº 396/2008. Já as outras amostras de Aratiba, Faxinalzinho e Erechim (Tabela 3.1), não apresentaram contaminação destes agentes. A água potável não deve conter microorganismos patogênicos e bactérias indicadoras de contaminação fecal, ou seja, *Escherichia coli*. Portanto, a água do município de Mariano Moro encontra-se fora dos padrões da legislação tornando-se imprópria para o consumo humano pela análise microbiológica.

A presença de bactérias do grupo Coliforme em água potável tem sido vista como um indicador de contaminação fecal relacionando ao tratamento inadequado ou inabilidade de manter o desinfetante residual na água distribuída. Os coliformes totais são indicadores de contaminação mais utilizados para verificar a qualidade sanitária da água (DEIVD, 2016).

A amostra de água de bebedouro de Erechim é uma água tratada, portanto, esperava-se mesmo que ela estivesse dentro dos padrões. A amostra de Aratiba é de poço artesiano, com profundidade, no entanto, não é tratada, mas também permaneceu dentro dos padrões. Já as amostras de poços rasos, de Faxinalzinho ficou fora dos padrões em relação ao pH e Mariano Moro não atende aos parâmetros devido a presença de Coliformes totais. Estas últimas duas amostras por serem mais superficiais são influenciadas por infiltração de poluentes que podem ter alterado seus resultados.

Considerações finais

Diante dos resultados apresentados neste estudo, as amostras de águas de poço artesiano de Aratiba e de bebedouro de Erechim são consideradas águas potáveis, pois se enquadram dentro dos valores exigidos pela legislação. No entanto, as águas de poços rasos dos Municípios de Faxinalzinho e Mariano Moro não se enquadram dentro da legislação, onde, a de Mariano Moro não pode ser utilizada para fins de consumo humano. Estudos de qualidade da água são muito importantes por poderem mostrar se as mesmas necessitam de tratamento ou podem ser utilizadas na forma em que estão.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS (ABAS). Águas subterrâneas, o que são? Disponível em: <http://www.abas.org/educacao.php>. Acesso em: 25 jul. 2016.

BITTENCOURT, A.V.L.; HINDI, E.C. **Tópicos de hidroquímica**. In: III Curso Sudamericano Sobre Evolución Y Vulnerabilidad De Acuíferos, Asunción, Itaipú binacional, OEA, 2000.

BRASIL, Resolução CONAMA nº 396, de 3 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o

enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. **Diário Oficial da União** nº 66, de 7 de abril de 2008, Seção 1, páginas 64-68.

BRASIL. CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf. Acesso em: 07 jul. 2021.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Manual prático de análise de água**. Brasília, DF: Funasa, 2009. 141 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Diário Oficial da União*, Brasília, 14 de dezembro de 2011.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de Saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**. 5 set 2017.

CHAPMAN, D; KIMSTACK, V. **The selection of water quality variables. Water quality assessment**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 51 – 117.

CHMIEL, B. **Qualidade Microbiológica De Sushi Comercializado Na Cidade De Erechim – Rio Grande Do Sul**. 2020. 169. f. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2020.

CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. **D. Standart methods for the examination of water and wastewater**. 20th. ed. Washington, DC: American Public Health Association; American Water Works Association; Water

Environment Federation, 1998. 1325 p.

COSTA, A. M.; SILVAS, B. P. C.; CASTRO, R. R. O. **Análise da concentração de cloro livre, cloro total, ph e temperatura em alguns pontos de consumo abastecidos pela rede pública de distribuição na cidade de Curitiba/Pr.** 2015. 92 f. Trabalho de conclusão de curso, 2015, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

DUARTE, L. R.; **Estudo da formação de incrustações carbonáticas.** Trabalho de Conclusão de Curso. 09 f. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2010.

FERREIRA, A. C.; ROCHA, L. C.; FIGUEIREDO, M. do A. Análise do índice de qualidade de água na Bacia do Córrego do Rio Acima, São João DelRei/MG. **Rev. Nacional de Gerenciamento de Cidades**, v. 3, n. 15, p. 94-105, 2015.

FRANÇA, D. L. **Controle de qualidade microbiológico da água filtrada disponível nos bebedouros da Unirv - Universidade De Rio Verde.** 2016. 11. F. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Rio Verde, Goiás, 2016.

Franco, M. **Microbiologia dos Alimentos.** Ed. Atheneu, São Paulo, 2003.

FREITAS, V. P. S. *et al.* Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 61, n. 1, p. 51-58, 2002.

Fundação Nacional de Saúde - Funasa. **Manual prático de análise de água.** Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004. 146 p.

LAURENTI, Ariane. **Qualidade de água I.** Florianópolis: Imprensa Universitária, 1997. 89 p.

LIRA, O. O. **Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS/** Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Brasília: Funasa, 2014. 112 p.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. F.; PEREIRA, C. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011.

QUEIROZ, T. M.; OLIVEIRA, L. C. P. Qualidade da água em comunidades quilombolas do Vão Grande, município de Barra do Bugres (MT), **Eng Sanit Ambient**, v. 23, n.1, p. 173-180, 2018.

RAVE, J. C. G. **Geología, geofísica, hidrogeológica e isótopos, como herramientas para definir un modelo conceptual hidrogeológico, caso de aplicación: Acuífero Costero del municipio de Turbo**. 2009. 296 f. Dissertação (Magíster en Ingeniería – Recursos Hidráulicos) – Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2009.

RESENDE, A. PRADO, C. N. Perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 3, n. 2, p. 16-22, 2008.

RIBEIRO, P. R. S. **Caracterização química, física e microbiológica de cursos d' água da bacia do rio Turvo Limpo**. 2002. 175 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerai, Brasil, 2002.

ROBAINA, LIMA, J. V. **Unidades experimentais de química: cotidiano inorgânico**. Canoas: ULBRA, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Un. Federal de Minas Gerais, 1996.



CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DA POLPA E CASCA DO ARAÇÁ-VERMELHO (*PSIDIUM CATTLEIANUM* SABINE) *IN NATURA* E LIOFILIZADO

Marília Jordana Dequi Vendruscolo¹, Rosicler Collet², Geciane Toniazzo Backes³, Jamile Zeni⁴

¹Acadêmica do Curso de Engenharia Alimentos (URI) – maajordanaa@gmail.com

²Pós-doutoranda do Curso de Engenharia Alimentos (URI) – rosicler.collet@yahoo.com.br

³ Prof.^a. Dr.^a. do Curso de Engenharia Alimentos (URI) – gtoniazzo@uricer.edu.br

⁴Prof.^a. Dr.^a. do Curso de Engenharia Alimentos (URI) – jamilezeni@uricer.edu.br

Resumo: No Brasil, são inúmeras as espécies de frutas nativas existentes e pouco exploradas. Como fonte rica em nutrientes e vitaminas, sendo indiscutivelmente benéfico para a dieta humana, o araçá-vermelho (*Psidium cattleianum Sabine*) pode ser consumido *in natura* ou processado. Sua composição química e suas características nutricionais conferem potencial para industrialização por meio de preparações como geleias, sucos, sorvetes e licores. Desta forma, o objetivo do estudo foi realizar a caracterização enzimática da polpa e casca do araçá-vermelho *in natura* e liofilizado. Após a colheita, limpeza e o preparo das amostras separando-se casca e polpa, estas foram congeladas e liofilizadas até o momento das análises. Para a determinar a caracterização enzimática, as amostras foram descongeladas e determinadas as atividades de amilase, exo-poligalacturonase (Exo-PG), FPase, polifenoloxidase (PFO), peroxidase (PDO) e protease. As maiores atividades para a amilase foram encontradas na polpa liofilizada (0,27 U.mL⁻¹). A FPase e a Protease não apresentaram atividade em nenhuma das amostras analisadas. A polifenoloxidase apresentou maior atividade na casca liofilizada (0,13 U.mL⁻¹) e a peroxidase apresentou atividades iguais para todas as amostras de casca e polpa do araçá-vermelho. Dentre

as amostras analisadas, destaca-se a casca *in natura* e liofilizada com as maiores atividades enzimáticas observadas, concluindo-se que pode haver relação com a presença dos compostos fenólicos e ação antioxidante do araçá-vermelho.

Palavras-chave: Amilase. Polifenoloxidase. Peroxidase. Protease.

Introdução

A araçá é o nome comum de *Psidium cattleyanum*, uma planta endêmica do Brasil, da Bahia até o Rio Grande do Sul, assim como em outros países da América do Sul. Sua classificação taxonômica é: classe *Magnoliopsida*, ordem *Myrtales*, família *Myrtaceae*, gênero *Psidium* e espécie *P. cattleyanum*. *Psidium Cattleyanum* Sabine, é o nome científico de araçá, araçazeiro ou araçá coroa (FRANZON; SOUSA SILVA, 2018). Do gênero *Psidium*, são mais de 100 espécies encontradas no Brasil, destes 5 são encontrados no Rio Grande do sul: a *Psidium austrele Cambesèdes*, *P. incanum* (Berg) Burret, *P. Luridum* (Sprengel) Burret, *P. pudifolium* Burret e *P. Cattleyanum Sabine* (BRASIL, 2004; SOBRAL *et al.*, 2015).

Psidium Cattleyanum Sabine é uma planta amplamente adaptada em terrenos úmidos. Seu período de floração é de junho a dezembro, e a maturação do fruto ocorre de setembro a março, como não é uma planta muito exigente pode ser cultivado também em pomares domésticos (BRASIL, 2004; FRANZON *et al.*, 2009). Porém, no sul do Brasil a floração pode ocorrer em 3 épocas, sendo a primeira em setembro à outubro, a segunda em dezembro e uma eventual terceira floração pode ocorrer em março, sendo assim os frutos podem ser colhidos de outubro à março (DOS SANTOS PEREIRA, 2018). Pode-se produzir até 10 toneladas de frutos por hectare em um pomar de araçá em condições específicas (FRANZON *et al.*, 2009).

O nome “araçá” origina-se do tupi *ara’şa* ou do guarani *ara* (que significa céu) e *aza* (Olho), ou seja, fruto com olhos

(DONADIO *et al.*, 2002). Os frutos são compostos por bagas globosas, arredondados, de coloração verde, amarela ou vermelha, de acordo com a espécie. A polpa é branca-amarelada ou avermelhada, mucilaginosa, aromática, numerosa em sementes (FRANZON *et al.*, 2009; BRASIL, 2004).

O araçá vermelho possui sabor exótico (polpa doce, levemente ácido/picante), altos teores de açúcares, fibra alimentar, e uma excelente fonte de vitamina C, que podem representar entre quatro a sete vezes mais vitamina C que as frutas cítricas. Também são fontes de compostos naturais com potencial fitoquímicos/bioativos (compostos fenólicos e carotenoides), com atividade antioxidante, anti-inflamatória, bactericida e fungistática, os quais são benéficos a saúde na prevenção de doenças (MEREGALLI *et al.*, 2020; FRAZON *et al.*, 2019; REISSIG *et al.*, 2016; BRASIL, 2015; NORA *et al.*, 2014).

A fruta do araçá-vermelho pode ser consumida *in natura* ou processada, sua composição química e suas características nutricionais conferem ao araçá, potencial para industrialização por meio de preparações como geleias, sucos, sorvetes e licores, entre outros, e de suas sementes pode ser extraído óleo (REISSIG *et al.*, 2016; PATEL, 2012).

Porém, sabe-se que durante o desenvolvimento dos frutos ocorre uma série de mudanças físicas, físico-químicas, químicas e bioquímicas. Na formação de características relacionadas ao sabor de fruta madura e tecnologia de processamento da fruta industrializada, são importantes as alterações na composição dos ácidos orgânicos, carboidratos e pH (GONÇALVES *et al.*, 2006). As frutas em sua polpa e casca podem apresentar diferentes enzimas, as quais determinam o comportamento da fruta desde o início de seu desenvolvimento até a maturação, sendo responsáveis por acelerar reações dentro das células.

O amaciamento do fruto é atribuído à perda de firmeza dos tecidos e está associado a mudanças na composição da parede celular, em decorrência de alterações na estrutura e composição

dos carboidratos, como pectinas, hemicelulose e celulose. A degradação de polissacarídeo pécnicos é uma das principais causas do processo de amaciamento dos frutos. A modificação da textura dos frutos é devido a ação conjunta de poligalacturonase (PG) e a pectinametilsterase (PME) (ANTHON *et al.*, 2002; Giongo *et al.*, 2013; CHANG; LEE; KIM, 2017)). Para as frutas vermelhas, por exemplo, a cor é uma qualidade importante e as celulasas atuam no melhoramento da coloração do extrato.

As amilases possuem a função de degradar o amido presente nas frutas tornando-as mais doces durante o decorrer de sua maturação. Enquanto que as enzimas proteásicas são importantes para o desenvolvimento das plantas, participando em processos como a mobilização de proteínas de reserva, senescência e morte celular programada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2009). Em geral, as fontes de proteases são vegetais, animais e também microrganismos, sendo que desempenham papel degratativo e sintético (RAO *et al.*, 1998).

As enzimas polifenoloxidase e peroxidase são responsáveis pelo escurecimento em frutas, vegetais e seus produtos processados, por isso o controle das atividades destas enzimas é de grande importância durante a transformação dessas matérias-primas para a obtenção de produtos processados (DE FREITAS *et al.*, 2008). A peroxidase (POD) é do grupo das oxidoreduases, sendo capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio. É considerada a enzima vegetal mais estável ao calor e sua inativação tem sido convencionalmente usada como indicador de adequação de branqueamento em processamentos vegetais.

Alguns processos, como os de secagem, podem alterar o comportamento dessas enzimas, resultando em diferentes atividades, porém promovendo um aumento na vida de prateira do produto. Dentre estes processos destaca-se a liofilização, que se caracteriza por uma técnica de secagem que retira a umidade contida no material através do congelamento da parte líquida e

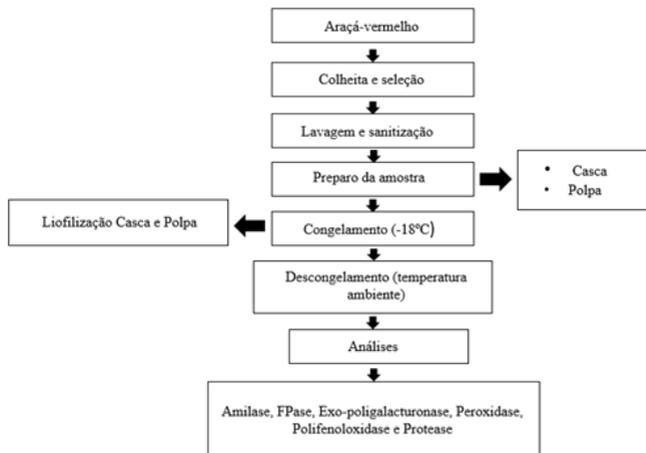
posterior sublimação do gelo. Tal técnica de secagem visa reduzir os desperdícios e as perdas pós colheita, por exemplo, de frutas, resultando no aproveitamento dos excedentes de safra e torna a fruta um veículo adequado de vitaminas e nutrientes, enriquecendo produtos já existentes ou ocasionando a criação de novos produtos isentos de conservantes (CI *et al.*, 2008). Esse processo é constituído de três etapas: congelamento, secagem primária e secagem secundária. A finalidade do congelamento dentro do processo de liofilização consiste na imobilização do produto a ser liofilizado, interrompendo reações químicas e atividades biológicas. (VIREILIO; PARRA; PITOMBO, 2006). A liofilização apresenta algumas vantagens como a redução da desnaturação oxidativa e também as reações degradativas (FILKOVÁ; MUJUMDAR, 2020) e segundo Cohen; Yang (1995), o produto pode ser reconstituído com grande facilidade pois a estrutura dos poros formada se assemelha a uma colmeia garantindo permeabilidade.

Consoante ao exposto, e por não sido encontrado relatos na literatura sobre a quantificação de enzimas em frutos de araçá-vermelho, esse estudo teve como objetivo realizar a caracterização enzimática da casca e polpa do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum Sabine*), *in natura* e liofilizado, em termos de atividade de amilase, exo-poligalacturonase, FPase, polifenoloxidase, peroxidase e protease.

Metodologia

A Figura 1 apresenta um diagrama simplificado mostrando as etapas envolvidas na caracterização enzimática do araçá-vermelho, desde a colheita até a determinação da atividade de amilase, exo-poligalacturonase, FPase, polifenoloxidase, peroxidase e protease.

Figura 1- Diagrama simplificado da caracterização enzimática do araçá-vermelho.



Fonte: Os Autores (2021).

Colheita, lavagem e armazenamento dos frutos

Os frutos de araçá-vermelho (*Psidium cattleianum Sabine*) foram colhidos em dezembro de 2020, nas coordenadas -27.647844° , $-52,283587^{\circ}$. A avaliação visual, para o ponto da colheita ideal se deu quando a porção inferior do fruto, ou seja, aquela que está ligada ao caule, estiver com a coloração uniforme característica do araçá-vermelho (Figura 2). Após a colheita, os frutos foram selecionados manualmente, eliminando-se os avariados que porventura não haviam sido percebidos durante a colheita. Realizou-se uma lavagem com água corrente e imersão por 15 min em solução de NaClO a 200 ppm. Em seguida, os frutos foram enxaguados e acondicionados em embalagens de polietileno contendo a indicação de peso e data de colheita, e congelados à -18°C .

Uma amostra de galho com folhas e frutos foi incorporado no Herbário Pe. Balduino Rambo (HPBR), na URI- Erechim, sob o número de registro de exsicata 12609.

Figura 2 – Aspecto visual do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) (a) e dos frutos estágio de maturação (b).



(a)



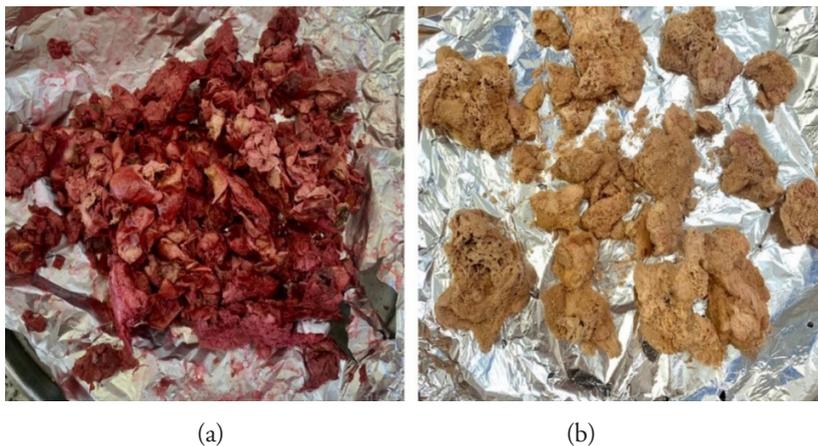
(b)

Fonte: Os autores (2021).

Liofilização da casca e da polpa

Para a realização do processo de liofilização, primeiramente, separadas as frações de casca (epicarpo) e polpa (mesocarpo), as quais foram pesadas separadamente, e envolvidas em papel alumínio, congeladas separadamente em *freezer* (Prosdócimo, F25 Smile) por 24 h (-18°C), e após, mantidos no liofilizador (Edwards) por aproximadamente 103,5 h. Após o processo de secagem, as amostras foram novamente pesadas e embaladas ao vácuo. A Figura 3 apresenta o aspecto visual da casca e polpa do araçá-vermelho após o processo de liofilização.

Figura 3 – Aspecto visual da casca (a) e polpa (b) do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) liofilizadas.

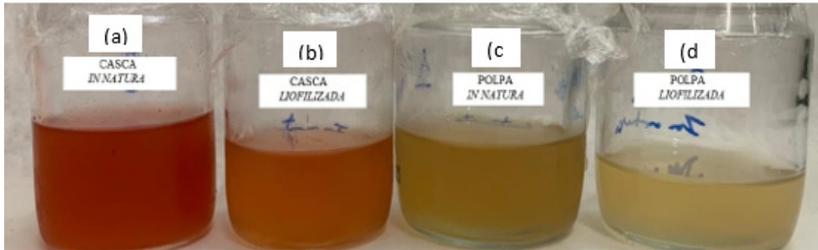


Fonte: Os autores (2021)

Preparo do extrato enzimático

O extrato enzimático utilizado para a caracterização enzimática, em termos de amilase, exo-poligalacturonase (Exo-PG), FPase, polifenoloxidase, peroxidase e protease, foi preparado separadamente para a casca e polpa *in natura* e liofilizada, respectivamente. Para os extratos da casca e polpa *in natura*, primeiramente fez-se o descongelamento das amostras a temperatura ambiente ($\pm 22^{\circ}\text{C}$). Então, pesou-se 6 g da casca e da polpa *in natura* e liofilizada, nas quais foram adicionados 60 mL de água (Figura 4). Para obtenção do extrato, realizou-se a maceração das amostras com o auxílio de gral e pistilo. Após a maceração o líquido obtido foi filtrado em papel filtro Watman nº 1 com o auxílio de uma bomba a vácuo (MARTE, modelo 131), e este utilizado para a caracterização enzimática.

Figura 4 – Aspecto visual dos extratos enzimáticos (a) da casca *in natura*, (b) da casca liofilizada, (c) da polpa *in natura* e (d) da polpa liofilizada do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine).



Fonte: Os autores (2021)

Caracterização enzimática da casca e da polpa *in natura* e liofilizada

Foram realizados ensaios de atividade enzimática com a casca e a polpa *in natura* e liofilizada com o intuito de verificar a presença das enzimas amilase, exo-poligalacturonase (Exo-PG), Fpase, peroxidase, polifenoloxidase e protease.

A atividade amilásica baseou-se na determinação de açúcares redutores (glicose) seguindo a metodologia de Miller (1959) com adaptações. Assim, em um tubo de ensaio adicionou-se 0,5 mL de extrato enzimático, 0,5 mL de substrato (solução tampão Tris-HCL 0,05M com amido 0,5%) e 0,2 mL de tampão Tris-HCL 0,05M de pH 8,5 e incubou-se as amostras a 90°C por 10 min. Em seguida, adicionou-se 1 mL de DNS, e levou-se para banho-maria com água em ebulição por 10 min. Após resfriou-se a amostra em banho de gelo e adicionou-se 8 mL de tartarato de sódio-potássio. A leitura da absorbância em relação a coloração desenvolvida foi realizada em espectrofotômetro (Agilent HPIB) em 540 nm. Para o controle, foi realizado o mesmo procedimento, porém substituiu-se o extrato enzimático por água destilada. Sendo uma unidade de atividade (U) definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 mol de açúcar redutor por minuto ($U = \mu\text{mol}/\text{min}$)

nas condições de reação e segundo a curva padrão estabelecida, utilizando glicose, na faixa de 0,01 a 2,5 mg/mL.

Para determinar a atividade da Exo-PG, seguiu-se a metodologia descrita por Teixeira *et al.*, (2019), onde a 0,8 mL de solução de pectina (0,5% m/v, diluída em tampão acetato de sódio 200 mmol/L) foi adicionado de 0,2 mL de extrato enzimático e incubados por 6 min a 37°C. Passado o tempo de reação, adicionou-se 1 mL de reagente de ácido 3,5-dinitrosalicílico, DNS (MILLER, 1959), e levou-se em ebulição por 8 min seguido de resfriamento em banho de gelo. Então adicionou-se, 8 mL de solução de tartarato duplo de sódio-potássio (50 mmol, Vetec). A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm. O controle foi realizado substituindo-se o extrato enzimático por água destilada. Onde uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de ácido galacturônico por um minuto (μ mol/min), nas condições de reação e segundo a curva padrão estabelecida, utilizando ácido galacturônico monoidratado (peso molecular 212,16 g/mol), como açúcar redutor, na faixa de 0,25 a 2 mg/mL. A atividade da Exo-PG foi expressa em U.mL⁻¹.

A determinação da atividade da FPase baseou-se na metodologia de Ghose (1987) como atividade de papel filtro (FPA) e a quantificação seguiu-se a de Miller (1959). De acordo com Ghose (1987), a atividade de celulase é determinada como atividade de papel filtro (FPA) e expressa em unidades de papel filtro (FPU – *Filter Paper Units*) por volume de enzima original. Dessa forma, utilizou-se quatro tubos de ensaio onde cada um deles continha: (1) tubos das amostras para serem quantificadas (AE); (2) tubo com branco reacional para zerar o espectrofotômetro; (3) tubos de controle da enzima (enzimas e/ou extrato enzimático sem substrato) e (4) tubos de controle do substrato (substrato sem enzima e/ou extrato enzimático). Em cada tubo de ensaio, colocou-se 1mL de solução tampão citrato 0,2M pH4,9 e 0,5 g de papel filtro enrolado (tiras de papel filtro Whatman nº 1 com tamanho de aproximadamente 1,0 x 6,0 cm). Submeteu-se a um

aquecimento prévio (banho maria, 50°C, 10 min) para o equilíbrio de temperatura. Após, adicionou-se 0,5 mL de extrato enzimático e os tubos voltaram para o banho maria por mais 60 min. Assim, foi removido de cada tubo a alíquota de 0,5 mL e adicionou-se 0,5 mL de DNS com leitura a 540nm (MILLER, 1959). Antes de realizar a leitura, os tubos foram levados ao aquecimento em água fervendo por 5 min, transferidos para um banho de gelo e para o término dessa etapa adicionou-se 8 mL de tartarato de sódio e potássio considerada solução estabilizante. O tubo com o branco reacional foi preparado com 1,5 mL de tampão citrato e após 60 min, adicionou-se DNS conforme descrito anteriormente. A curva padrão para a análise de FPase foi estabelecida utilizando-se glicose nas concentrações de 0,01 a 2,5 mg/mL. Obteve-se a equação da reta plotando-se em um gráfico (Absorbância X concentração de glicose) para os cálculos da atividade enzimática. Uma unidade de atividade enzimática libera 1 μmol de açúcar redutor por mL de caldo por minuto: $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mL}^{-1}$.

A determinação da atividade da peroxidase (POD) baseou-se na metodologia de Matsuno; Uritani (1972), com alterações. Em um tubo adicionou-se 2,5 mL de tampão fosfato-citrato contendo solução de fosfato de sódio dibásico 0,2M e ácido cítrico 0,1M pH 5; 1,5 mL de extrato enzimático e 0,25 mL de guaiacol a 0,5%, sendo homogeneizados em vórtex. Após, misturou-se 0,25 mL de H_2O_2 a 3% e, novamente, os tubos foram homogeneizados em vórtex. A mistura foi incubada a 30°C por 15 min e após os tubos foram colocados em banho de gelo e posteriormente foram misturados 0,25 mL de solução de meta bissulfito de sódio a 2%. Após nova agitação no vórtex, os tubos foram deixados em repouso por 10 min. A leitura da absorbância foi feita em 450nm, em espectrofotômetro. Como controle para a reação enzimática, utilizou-se água. A atividade da enzima foi expressa em unidade enzimática (UE). Uma unidade da enzima é definida como a quantidade de extrato enzimático que acusou um aumento na absorbância de 0,001 unidade por minuto. Considerando-se

um total de 25 min de reação, o cálculo foi definido conforme a equação (1):

$$Abs/min = \frac{Abs}{tempo} \quad (1)$$

Após calculado a absorbância por minuto, calcula-se, conforme a equação (2), quantos ml são necessários para que aumente 0,001 unidade de absorbância, logo:

$$x = \frac{1,5ml \times 0,001 \text{ abs/min}}{Abs/min} \quad (2)$$

A determinação da atividade da polifenoloxidase (PFO), seguiu-se a metodologia dos autores citados a cima para tal enzima. Em um tubo, colocou-se 3,6 mL de tampão fosfato 0,05M pH 6,1 mL de extrato enzimático, 0,1 mL de catecol 0,1M e em seguida misturou-se em vórtex por 15 s. Esta mistura foi incubada em banho maria a 30°C, por 30 min. Após, os tubos contendo a mistura foram transferidos para um banho de gelo e adicionou-se 0,2 mL de ácido perclórico a 1,4 %. Agitou-se em vórtex e os tubos foram deixados em repouso por 10 min. A leitura da absorbância foi realizada em 395 nm, em espectrofotômetro. Como controle, substituiu-se o extrato enzimático por água destilada. A atividade da enzima foi expressa em unidade de enzimática (UE). Uma unidade da enzima é definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidade de minuto por absorbância. Os cálculos foram feitos utilizando as equações (1) e (2) citadas a cima.

Para detectar a atividade proteolítica, seguiu-se a metodologia proposta por Ahammad; Gomes; Sreekrishnan (2008) adaptada de Charney; Tomarelli (1947), com alterações. Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL de amostra e 0,5 mL de solução de azocaseína 0,5% (m/v) preparada em tampão acetato 50 mM pH 5,0. Os tubos foram então incubados durante 15 min a 37 °C. Após o período de incubação a reação enzimática foi interrompida adicionando-se 0,5 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 10% (m/v), em banho de gelo. Os tubos com a mistura foram centrifugados a 8000 rpm por 20 min. Retirou-se então 1 mL do

sobrenadante, ao qual foi adicionado 1 mL de solução de hidróxido de potássio 5 N. A leitura da absorbância foi monitorada por espectrofotometria (Agilent 8453) a 428 nm. O branco para o controle foi preparado adicionando-se a amostra após a adição do TCA. O branco para zerar o aparelho foi preparado substituindo-se o volume de amostra por tampão acetato 50 mM pH 5,0. Uma unidade de atividade proteolítica foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir uma diferença unitária de absorbância por minuto de reação entre o branco reacional e a amostra nas condições de ensaio. A atividade proteolítica foi determinada por meio da Equação 3.

$$\text{Atividade proteásica} = \frac{(\text{Abs a} - \text{Abs b} \cdot f \cdot b)}{t \cdot V_a} \quad (3)$$

Onde: Absa = leitura de absorbância da amostra; Absb = leitura de absorbância do branco; f = fator de diluição; t = tempo de reação em minutos e Va = volume de amostra (mL).

Análise estatística

Os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e a diferença entre as médias foi comparada pelo teste de Tukey usando o *Software Statistic* (Statsoft Inc, 2008), a 95% de significância ($p < 0.05$).

Resultados e discussões

Caracterização enzimática da polpa e da casca in natura e liofilizada do araçá-vermelho

Os resultados da atividade enzimática de amilase, exo-PG, Fpase, peroxidase (POD), polifenoxidase (PFO) e protease na casca e polpa do araçá-vermelho *in natura* e liofilizados estão apresentados na Tabela 1. De acordo com os resultados apresentados,

observa-se que o araçá-vermelho apresenta alta atividade de Exo-PG, sendo que as amostras da casca, tanto *in natura* quanto liofilizada, apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) das amostras de polpa *in natura* e liofilizada. Este comportamento já era esperado, pois a enzima Exo-PG está diretamente relacionada com o amadurecimento do fruto, e o araçá-vermelho analisado neste trabalho estava no estágio final de amadurecimento conforme pode ser observado na Figura 2b.

Tabela 1 – Atividade enzimática de amilase, exo-PG, Fpase, POD, PFO e protease na casca e polpa do araçá-vermelho *in natura* e liofilizada.

Araçá-Vermelho (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine)						
Atividade Enzimática (U.mL ⁻¹)	<i>In natura</i>			<i>Liofilizada</i>		
	Casca	Polpa	Casca+Polpa**	Casca	Polpa	Casca+Polpa**
Exo-poligalacturonase (Exo-PG)	176,69 ^a ± 0,007	169,24 ^b ± 0,002	345,93 ^b ± 0,009	176,31 ^b ± 0,005	175,75 ^a ± 0,001	352,06 ^a ± 0,006
Amilase	0,25 ^a ± 0,003	0,22 ^b ± 0,003	0,47 ^b ± 0,006	0,26 ^a ± 0,009	0,27 ^a ± 0,005	0,53 ^a ± 0,014
FPase	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*
Peroxidase (POD)	0,05 ^a ± 0,007	0,05 ^a ± 0,002	0,1 ^a ± 0,009	0,05 ^a ± 0,005	0,05 ^a ± 0,003	0,1 ^a ± 0,008
Polifenoloxidase (PFO)	0,27 ^a ± 0,004	0,21 ^a ± 0,005	0,48 ^a ± 0,009	0,13 ^b ± 0,008	0,21 ^a ± 0,005	0,34 ^b ± 0,013
Protease	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*

Médias ± desvio padrão seguidas de letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$) na linha entre as amostras *in natura* e liofilizado, respectivamente.

*atividade enzimática não detectada, **somatório das atividades da casca e polpa

De acordo com Lohani; Trivedi; Nath (2004) e Chang; Lee; Kim (2017), as enzimas poligalacturonase e celulase, são responsáveis por degradar a parede celular de frutas em geral durante o amadurecimento, apresentando altas taxas de atividade o que resulta na quebra de polímeros e amolecimento da fruta. Huber *et al.* (2001), ao analisarem frutos em seu estágio final de amadurecimento, mencionam que há o acúmulo da atividade enzimática da Exo-PG nas frutas. Por sua vez, Morgutti *et al.* (2005), relacionaram a grande presença de atividade da PG também a produção de etileno durante o desenvolvimento e maturação da graviola (*Annona muricata*). Ren *et al.* (2020), ao analisarem atividade de enzimas relacionadas com o amolecimento da fruta *Annona squamosa* durante o armazenamento, concluíram que as atividades de PG aumenta com o tempo de armazenamento dos frutos.

A atividade amilásica, por sua vez, apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre a polpa *in natura* e liofiliza (Tabela 1), sendo que esta diferença pode estar relacionada com o fato da aplicação do processo de liofilização na amostra, o que pode ocasionar a concentração de atividade na amostra devido a retirada de água. Em estudos realizados, Podsędek *et al.* (2014), constataram que as alfa-amilases estão diretamente ligadas a transformação do amido em açúcares durante o desenvolvimento de frutas. O maior valor de atividade para amilásica foi $0,27 \text{ U.mL}^{-1}$ e pode relacionar ao índice de carboidratos e açúcares encontrados no araçá-vermelho quando em seu estágio final de maturação (NORA, 2014).

Ao analisar a presença de peroxidase (POD) nas amostras de araçá-vermelho, encontrou-se resultados similares para as quatro amostras analisadas, independente do processo de liofilização da polpa e da casca, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre as mesmas. Cabe ressaltar que quanto menor o valor encontrado maior será a atividade de peroxidase na fruta, de acordo com a metodologia aplicada neste estudo. Concluindo-se que as atividades de peroxidase observadas no presente estudos são elevadas. A enzima POD pode também afetar a textura de alguns

tipos de frutas participando da síntese de lignina e catalisando a ligação entre moléculas de ácido ferrúlico, substituintes da cadeia de pectina (ADAMS, 1997).

Já ao analisar a presença da enzima polifenoloxidase (Tabela 1), observou-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de polpa *in natura* e liofilizadas, enquanto que a casca liofilizada apresentou menor atividade ($0,13 \text{ U mL}^{-1}$), diferindo estatisticamente da casca *in natura*. A PFO também classificada como enzima oxidativa, apresentou, porém, menor atividade em relação a POD (peroxidase). A PFO está diretamente atrelada ao escurecimento de tecidos e senescência das frutas (ZHAO *et al.*, 2019). Além disso, Jang; Moon (2011), relataram que, quando a atividade da enzima PFO de maçãs minimamente processadas é inibida, o escurecimento é retardado e o período de armazenamento e preservação prolongado. Portanto, ao controlar a atividade de PFO em frutas, alterando as condições de armazenamento ou de processamentos, como a o processo de liofilização, contribuem para prolongar do armazenamento e preservação de frutos.

As enzimas FPase, uma celulase, e a protease não foram detectadas nas amostras de araçá-vermelho analisadas no presente estudo. Resultado este, contrário do que é reportado na literatura para frutos. De acordo com Gallon (2009), um dos principais fatores relacionados ao amadurecimento e perda de firmeza dos frutos é a ação de enzimas proteolíticas e hidrolíticas. Já que estas enzimas degradam a parede celular, levando ao amolecimento do fruto, o que o torna macio e pronto para consumo. Varoquaux; Wiley (1994), afirmaram que as reações enzimáticas são responsáveis pela perda de firmeza da polpa, bem como pelas deteriorações sensoriais, como odor e sabor desagradáveis, e alterações da cor da casca e da polpa. Gallon (2009), relata ainda que, as microfibrilas de celulose são desestruturadas pela celulase, enzima capaz de romper as ligações glicosídicas, resultando na liberação de oligossacarídeos, enquanto as pectinas da parede celular são despolimerizadas por enzimas pectinolíticas. Segundo Gross; Sams (1984), uma das grandes modificações na parede celular de frutos em amadurecimento

é a perda de resíduos de galactose, dos polímeros da parede (Balasubramaniam *et al.*, 2005).

Destaca-se que são raros os trabalhos relacionados a caracterização de araçá-vermelho, e não há na literatura citações sobre a determinação da atividade enzimática nestes frutos. Desta forma, mais pesquisas acerca da investigação da presença de enzimas em araçá-vermelho devem ser realizadas.

Considerações finais

Ao realizar a caracterização enzimática da casca e polpa, *in natura* e liofilizada, do araçá-vermelho, conclui-se que a enzima Exo-PG e as PDO e PFO, classificadas como oxidativas, apresentaram as maiores atividades. Sendo que, as amostras de casca tanto *in natura* quanto liofilizadas apresentaram as maiores atividades, podendo haver relação com a presença dos compostos fenólicos e ação antioxidante do araçá-vermelho.

Referências

ADAMS, J.B., Regeneration and the kinetics of peroxidase inactivation, **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 201-206, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00320-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00320-2)

AHAMMAD, S. Z.; GOMES, J.; SREEKRISHNAN, T. R. Wastewater treatment for production of H₂S-free biogas. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 83, p. 1163–1169, 2008. DOI: 10.1002/jctb

ALBUQUERQUE, A.; VALDÍVIA, L.; ARAGÃO, M.; GUSTAVO, S.; GONÇALVES, J.; SILVA, M.; DANIELL, I. **XI Encontro de Iniciação Científica da UVA**, n. 1, p. 2178, 2009. Acesso em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/85944/1/RAC-Determinacao-da-atividade.pdf>

BALASUBRAMANIAM, S.; LEE, H. C.; LAZAN, H.; OTHMAN, R.; ALI, Z. M. Purification and properties of a

β -galactosidase from carambola fruit with significant activity towards cell wall polysaccharides. **Phytochemistry**, v. 66, p. 153-163, 2005. DOI: 10.1016 / j.phytochem.2004.11.005

BRASIL. **Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil** / Editores Maria do Carmo Bassols Raseira [et. al.]. - Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 124 p. (Embrapa Clima Temperado. Documento, 129).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Alimentos regionais brasileiros** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 484 p.: il. Acesso em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/publicacoes/alimentos_regionais_brasileiros_2ed.pdf

MARQUES, M. G. Liofilização de frutas tropicais. 2008. 293 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlo, Centro de Ciências exatas, São Carlos, 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/3870/2148.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 jun. 2021.

DE FREITAS, A. A.; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F. L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008. DOI: 10.1590/S0101-20612008000100025

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002.

DOS SANTOS P, E.; VINHOLES, J.; FRANZON, R. C.; DALMAZO, G.; VIZZOTTO, M.; NORA, L. Frutas Psidium cattleianum: Uma revisão sobre sua composição e bioatividade, **Food Chemistry**, v. 258, p. 95-103, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016 / j.foodchem.2018.03.024>.

EUN-HA CHANG, JIN-SU LEE, JI-GANG KIM. Cell

- wall degrading enzymes activity is altered by high carbon dioxide treatment in postharvest ‘Mihong’ peach fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 399-407 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.038>.
- FRANZON, C. R.; SOUSA SILVA, J. C. **Araçá** – *Psidium* spp. Instituto Interamericano de **Cooperación para la Agricultura** (IICA), Edición, 2018.
- FILKOVÁ, I.; MUJUMDAR, A. S. Industrial Spray Drying Systems. **Handbook of Industrial Drying**. New York: CRC Press, 2020.
- FRANZON, R. C.; VIZZOTTO, M.; BONOW, S. Simpósio Nacional do Morango. Pelotas, RS **Anais / VIII Simpósio Nacional do Morango e VIII Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2019.
- FRAZON, R. C.; CAMPOS, LZO; PROENÇA, CEB; SILVA, JCS, **Araçás do gênero Psidium: espécies, ocorrências, descrições e usos**. Documentos Embrapa Cerrados: Brasília, 2009.
- GALLON, C. Z.; BROETTO, S. G.; SILVA, D. M. Atividade da celulase e β -galactosidase no estudo da firmeza da polpa de mamões “golden” e “gran golden”. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1178-1183, 2009. DOI: 10.1590/s0100-29452009000400035
- GONÇALVES, C. A. A.; LIMA, L. C. D. O.; LOPES, P. S. N.; PRADO, M. E. T. Caracterização física, físico-química, enzimática e de parede celular em diferentes estádios de desenvolvimento da fruta de figueira. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 220-229, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100035>
- GROSS, K. C.; SAMS, C. E. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. **Photochemistry**, v. 23, p. 2457-2461, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84075-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84075-3)

GIONGO, L.; PONCETTA, P.; LORETTI, P.; COSTA, F. Perfil de textura de mirtilos (*Vaccinium* spp.) Durante o desenvolvimento do fruto: amadurecimento e armazenamento. **Postharv. Biol. Technol.**, v. 76, p. 34-39, 2013.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959. DOI: 10.1021/ac60147a030

NORA, C. D.; MULER, C.; DE B., SBARDELOTTO G.; RIOS, A. O.; HERTZ, P. F.; JABLONSKI, A.; JONG, E. V.; FLORES, S. H. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, p. 18-25, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.01.006>.

REN, Y.; SUN, P.; WANG, X.; ZHU, Z. Degradation of cell wall polysaccharides and change of related enzyme activities with fruit softening in *Annona squamosa* during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 166, p. 111203, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111203>

REISSIG, GABRIELA NIEMEYER; VERGARA, LISIANE PINTANELA; FRANZON, RODRIGO CEZAR; RODRIGUES, ROSANE DA SILVA; CHIM, JOSIANE FREITAS. Compostos bioativos em goiaba morango vermelha convencional e sem adição de açúcares (*Psidium cattleianum* Sabine) geleias. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, p. 1-7, 2016. DOI: 10.1590 / 0100-29452016062.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. Myrtaceae. In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Acesso em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10858>

TEIXEIRA, A. J. Aplicação de Celulases e Pectinases na Hidrólise de Resíduos Lignocelulósicos, p. 136, 2016. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/3103.pdf

VAROQUAUX, P.; WILEY, R. C. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: WILEY, R.C. (Ed.). **Minimally processed refrigerated fruits & vegetables**. New York: Chapman and Hall, 1994. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2393-2_6

VIREILIO, T.; PARRA, D. F.; PITOMBO, R. N. D. M. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 127-136, 2006. DOI: 10.1590/s1516-93322006000100014

ZHAO, H.; LIU, B.; ZHANG, W.; CAO, J.; JIANG, W. Enhancement of quality and antioxidant metabolism of sweet cherry fruit by near-freezing temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 113-122, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.013>



ESTUDO DE VIABILIDADE DA UTILIZAÇÃO DO LÍQUIDO IÔNICO HIDROGENOSSULFATO DE TRIETILAMÔNIO NA REMOÇÃO DE CROMO DO RESÍDUO DE COURO *WET BLUE*

Natália Ambrósio¹, Júlia L. Bernardi², Marcelo G. Speziali³, Rogério M. Dallago⁴, Marcelo L. Mignoni⁵

¹Acadêmica do Curso de Engenharia Química (URI) – nati_ambrosio07@outlook.com

²Mestranda em Engenharia de Alimentos (URI) - julialisboabernardi@yahoo.com

³Prof. Dr. do Departamento de Química (UFOP) – speziali@ufop.edu.br

⁴Prof. Dr. do Curso de Engenharia Química (URI) – dallago@uricer.edu.br

⁵Prof. Dr. do Curso de Engenharia Química (URI) – mignoni@uricer.edu.br

Resumo: A indústria coureira representa importante segmento industrial, mas gera elevada quantidade de resíduos contaminados. Os líquidos iônicos (LIs), mais precisamente o hidrogenossulfato de trietilamônio [TEA][HSO₄], aparece como material de elevado potencial de remoção de metais pesados de resíduos contaminados, desta forma, este estudo objetiva avaliar o potencial de remoção do metal cromo presente em resíduos de couro utilizando líquido iônico. Assim foram efetuados ensaios de extração de cromo do resíduo de couro *wet blue* utilizando o LI em 4 condições: temperaturas de 25 e 50°C e concentrações de Cr:LI (m/m) de 1:4,5 e 1:30 por 22 h acompanhando o perfil de remoção do cromo espectrofotometricamente. O couro recolhido ao final do tratamento foi quantificado e obtiveram-se percentuais de remoção de aproximadamente 30 a 75% de cromo. A aparência dos couros restantes no final da extração foi avaliada via Microscopia Eletrônica de Varredura. Foi observado que as condições mais brandas não provocaram alterações

expressivas na estrutura das fibras, já a condição mais agressiva, 1:30 (Cr:LI (m/m) a 50°C provocou degradação da estrutura fibrosa. Como conclusão, obtém-se um potencial viável (74,10%) de remoção de cromo do resíduo de couro *wet blue* utilizando o LI [TEA][HSO₄], apesar de ainda não atingir o limite mínimo estabelecido pela legislação.

Palavras-chave: Líquido iônico. Cromo. Resíduo. Couro.

Introdução

Estudos relacionados a produção, caracterização e aplicação de líquidos Iônicos (LI's) encontram-se amplamente presentes no atual cenário científico e tecnológico em diferentes áreas do conhecimento, com destaque para química e a engenharia (FOONG, WIRZAL e BUSTAM, 2020).

Líquidos Iônicos são uma classe de materiais cujas características e propriedades estão diretamente atreladas aos precursores (cátions e ânions) empregados para sua síntese (SINGH e SAVOY, 2020). A elevada gama de combinações catiônicas e aniônicas possíveis, permite a formação de uma variedade de compostos com diferentes peculiaridades, tanto estruturais quanto funcionais, ampliando assim seu potencial de aplicabilidade (AMBRÓSIO *et al.*, 2021; PERALTA, 2019).

Dentre as inúmeras aplicações, nos últimos anos, o emprego de LI's na forma livre ou imobilizada como meio extrator de metais pesados presentes em solo ou águas e efluentes líquidos, tem despertado o interesse da comunidade científica (AMBRÓSIO *et al.*, 2021). Esta característica está vinculada ao poder complexante e elevada solubilidade que os LI's e seus complexos possuem em meio aquoso (SINGH e SAVOY, 2020).

Dastyar *et al.* (2019) observaram que adição de LI ao solo proporcionava uma melhora na capacidade de absorção de metais pesados pelas plantas (Salgueiros) ali alocadas, potencializando a remoção dos mesmos, os quais muitas vezes encontram-se

presentes nos solos como contaminantes. Wieszczycka *et al.* (2021) demonstraram a potencialidade do emprego de sílicas incorporadas com diferentes LI's para remoção de Pb, Cd e Zn de efluentes, enquanto Zambare e Nemade (2021) desenvolveram esponjas de óxido de grafeno com líquido iônico para a remoção de Cr⁺⁶ da água.

A capacidade complexante dos LI's, se estendida a matrizes sólidas, pode apresentar-se como uma possibilidade para o tratamento de resíduos sólidos contaminados com metais pesados, uma vez que seu emprego permitiria, em muitos casos, a recuperação do elemento contaminante, além de apresentar-se como uma possível alternativa para o tratamento de resíduos até então enviados para aterros em virtude da inexistência de processos de tratamentos eficientes.

Dentro deste contexto, podemos considerar o resíduo sólido produzido na etapa de beneficiamento do couro *wet blue*, o qual conduz a geração de uma quantidade significativa de material na forma de aparas e serragem, com elevado teor de cromo (Cr) em sua composição, entre 2 e 5% (m/m) (POPIOLSKI, 2017). Devido a presença do Cr, o mesmo é classificado como um resíduo Classe I, ou seja, Perigoso (NBR 10004), característica que inviabiliza seu descarte em aterros sanitários, bem como seu reaproveitamento, por exemplo, como insumo para produção fertilizante orgânico mediante compostagem (ABNT, 2004; DE OLIVEIRA *et al.*, 2008; NOGUEIRA *et al.*, 2010 e COOPER *et al.*, 2011) ou alimento animal na forma de hidrolisado (SILVA *et al.*, 2012), situações que seriam possíveis se o cromo fosse removido em sua totalidade ou parcialmente, no caso do fertilizante a valores inferiores a 500 mg/kg (POPIOLSKI, 2017).

A possibilidade de extrair o cromo deste resíduo é relatada na literatura por alguns autores, empregando diferentes condições experimentais e agentes extratores. Brown *et al.* (1986) avaliaram a descromagem de resíduos de couro com ácidos hidroxâmicos, conhecidos pela capacidade de formar complexos com metais de transição, muitos deles solúveis em meio aquoso. O melhor

resultado foi com o ácido benzohidroxâmico, com 67 % de extração, resultando em um produto com 1.700 mgCr/kg. O emprego de ácidos orgânicos, como cítrico e tartárico melhorou o rendimento, com extração, podendo alcançar valores de 70 e 90 %. A descromação baseada na oxidação de Cromo III (Cr^{+3}) a Cromo VI (Cr^{+6}) por peróxidos foi relatada por Cot *et al.* (1999) e Mahler (1999), os quais avaliaram o perborato de sódio com uma extração de 99%, além de obter uma proteína de boa consistência com teor residual médio de cromo de 237 mg/kg.

A hidrólise também se demonstrou uma alternativa para Bizzi *et al.* (2020) que avaliaram diferentes ácidos, na presença de ultrassom, como meio extrator para a recuperação do Cr presente no couro *wet blue* residual, obtendo como melhor resultado, 92% de extração para uma solução de HNO_3 3mol/L.

Popiolski *et al.* (2018) demonstraram a potencialidade da extração do Cr presente na estrutura do couro com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), com resultados promissores em relação ao teor de Cr presente no couro tratado, além de proporcionar as recuperações do agente extrator (EDTA) e do cromo.

Como resultado das metodologias citadas nenhuma se demonstrou viável técnica ou economicamente, a ponto de ser aplicada em escala comercial, estimulando a continuidade de pesquisa vinculadas a este tipo de resíduo.

Considerando o exposto anteriormente, o objetivo deste trabalho é avaliar a potencialidade do emprego do líquido iônico Hidrogenossulfato de Trietilamônio, $[\text{TEA}][\text{HSO}_4]$ na extração/recuperação de cromo (Cr^{+3}) presente couro *wet blue* residual.

Metodologia

Todas as metodologias aplicadas neste trabalho foram baseadas em metodologias clássicas disponíveis na literatura, bem como, todos os equipamentos e reagentes utilizados fazem parte do

inventário da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus I, Erechim – RS.

Metodologia analítica para a Determinação de Cromo

A metodologia analítica empregada para determinação do teor de Cromo presente nas amostras (líquidas ou sólidas) foi a espectrofotometria, após derivatização do Cr com EDTA, o qual conduz a formação de um complexo com coloração lilás, ou seja, com capacidade de absorção de radiação em 542 nm. A reação de complexação foi induzida mediante o emprego do microondas (COSTA *et al.*, 1998).

Os teores de Cr foram determinados de forma comparativa com uma curva de calibração construída com padrões externos entre 5 a 100 mg/L, preparados a partir de uma solução estoque contendo 1.000 mg/L, mediante diluição.

Curva padrão

Após preparadas as soluções com concentrações de Cr entre 5 a 100 mg/L, retirou-se uma alíquota de 5 mL de cada padrão, os quais foram misturados de forma independente, a 5 mL de uma solução saturada de EDTA dissódico (marca Vetec Química Fina) e submetidos a irradiação em microondas (marca Philco modelo PMW-101) por 30 segundos para indução de formação do complexo, cuja capacidade de absorção de radiação e, 542 nm foi determinada em um espectrofotômetro UV-Vis (marca Logen Scientific, modelo 12899).

Avaliação da interferência LI na reação de complexação entre o Cr e o EDTA

Considerando que o Cr em solução, após a extração, estará teoricamente interagindo com o agente extrator empregado, no caso o LI, e que esta interação pode vir a interferir na reação

de complexação entre o Cr e o EDTA, induzindo a valores não correspondes com os verdadeiros, foram realizados ensaios empregando como amostra uma solução padrão de Cromo contendo uma quantidade conhecida de LI. Como referência a mesma solução padrão sem LI foi empregada com amostra.

Preparação das amostras:

1. A amostra 1 foi preparada empregando 5 mL de uma solução padrão de Cr de 200 mg/L, 5 mL de água e 5 mL de uma solução saturada de EDTA.

2. A amostra 2 foi preparada empregando 2 mL de uma solução padrão de Cr de 200 mg/L, 3 mL de LI [TEA] [HSO₄], 5 mL de água destilada e 5 mL de uma solução saturada de EDTA.

3. A amostra 3 foi preparada empregando 2 mL de uma solução padrão de Cr de 200 mg/L, 3 mL de LI [TEA] [HSO₄], 5 mL de NaOH 1 M e 5 mL de uma solução saturada de EDTA.

Todas as amostras, após uma etapa de homogeneização forma submetidas a uma etapa de complexação em microondas por 20 segundos e analisadas em espectrofotômetro (marca Logen Scientific, modelo 12899) em 542 nm quanto a suas capacidades de absorção, bem como seus pHs em medidor de pH de bancada (marca Tecnal modelo Tec-7). Os valores de Abs foram transformados em concentração (mg/L) mediante o emprego da curva de calibração construída sem a presença de LI.

Efeito do pH na reação de complexação do Cr-EDTA

Empregando as mesmas relações volumétricas anteriores para solução padrão de Cr (200 mg/L):líquido iônico:solução saturada de EDTA (2:3:5, v/v/v) e um volume final de 15 mL, foram preparadas 7 amostras empregando 5 mL de soluções de NaOH com diferentes concentrações, gerando 15 mL de amostras com diferentes pHs: 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13. Após a etapa de

complexação induzida em microondas por 20 segundos, procedeu-se a análise espectrofotométrica em 542 nm. Os valores de Abs foram transformados em concentração (mg/L) mediante o emprego da curva de calibração construída sem a presença de LI.

Curva padrão de Cr na presença de líquido iônico (LI)

Após evidenciar que a presença do LI interferia negativamente na reação de complexação, visando estipular este efeito foram construídas novas curvas de calibração, empregando as mesmas condições da primeira curva, contendo diferentes quantidades de LIs, correspondendo a uma proporção massa Cr : LI de 1:4,5; 1:15 e 1:30 (m:m), considerando uma massa de Cr fixa de 190 mg, igual a 0.0037 mols, a qual corresponde a massa de Cr presente na massa de couro que será empregada nos ensaios de extração com LI, ou seja, em 5 g de couro.

Tratamento do resíduo de couro *wet blue*

O couro residual *wet blue*, na forma de serragem (Figura 1), foi fornecido por um curtume localizado na região norte do estado do RS.

Figura 1. Aspecto visual do couro *wet blue* residual, na forma de serragem empregado nos ensaios.



Fonte: Autora (2021).

Síntese do Líquido Iônico Hidrogenossulfato de Trietilamônio

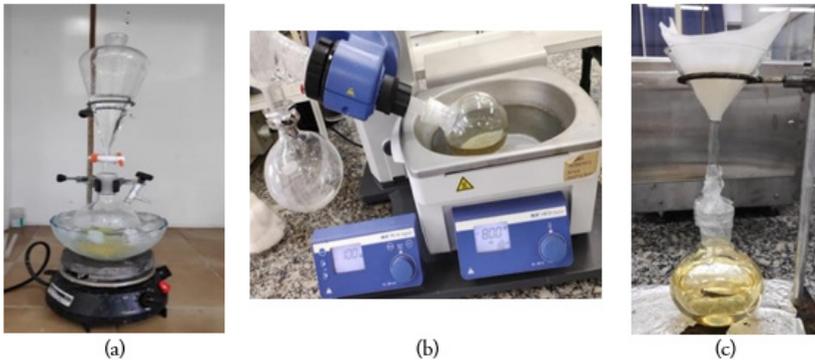
A síntese do líquido iônico hidrogenossulfato de trietilamônio [TEA][HSO₄] seguiu o descrito por Dastyar *et al.* (2019) e Peralta (2019) com algumas adaptações: em um balão fundo redondo de 500 mL, acomodado em um banho de gelo sob um sistema de agitação (Fisaton Mod. 752A), foi adicionado 75,9 g = 104,5 mL, ou seja, 0,75 mol, de trietilamina (P.A., Vetec), seguido de 150 mL de H₂SO₄ 5 mol/L, gota a gota, contido em um funil de separação, em constante agitação mecânica. Ao encerrar a adição do H₂SO₄, a mistura reacional foi retirada do banho de gelo e mantida sob agitação por mais 2 horas a temperatura ambiente (Figura 2a), para que a reação expressa na Equação 1 se completasse.



Posteriormente a mistura reacional foi submetida a uma etapa de evaporação, em evaporador rotativo (modelo IKA HB10) a 90°C por 8 horas (Figura 2b), seguido de 2 filtrações sucessivas em filtro com leito de Sulfato de Sódio Anidro (Proton Química) (Figura 2c) para a remoção da água contida da mistura, por fim foi calculado o rendimento conforme Equação 2.

$$h (\%) = \frac{100 \cdot \text{MM}_f}{\text{MM}_i} \quad (2)$$

Onde, MM_f é a massa final do conteúdo do balão e MM_i a massa inicial do balão vazio.

Figura 2. Sistema de reação para síntese do líquido iônico [TEA][HSO₄]

O teor de cromo presente nas amostras (couro bruto, tratado e extratos) foi determinado espectrofotometricamente em 542 nm, após reação de complexação com EDTA (POPIOSLKI, 2017), empregando como referência uma curva de calibração com padrões externos.

Ensaio de extração de Cr do couro wet blue residual com LI [TEA][HSO₄]

As condições experimentais empregadas nestes estudos basearam-se nos estudos apresentados por Popiolski (2017) e Dastyar *et al.* (2019) na recuperação de Cr em couro residual, os quais demonstraram que a temperatura, razão molar Cr : Agente extrator e tempo de contato influenciam diretamente no processo de extração. Neste sentido foram avaliadas duas razões molares Cr : LI (1:4,5 e 1:30) e duas temperaturas (25 e 50 °C), perfazendo 4 ensaios experimentais, conforme explanado na Tabela 1.

Todos os ensaios foram conduzidos em *erlenmeyers* de 500 mL, com 5 g de couro *wet blue* residual. As massas de LI empregadas foram 3,26 e 21,69 g, respectivamente. O volume de solução aquosa reacional foi de 250 mL, permitindo assim, mediante remoções periódicas por um período de 22 horas, a retirada de alíquotas de 1 mL da solução do meio reacional e uma avaliação cinética da evolução da concentração de Cr em solução, ou seja, do processo de

extração. Os ensaios foram realizados em um Shaker-Incubadora, marca Nova Ética, com controle eletrônico de temperatura.

Para os extratos, devido a presença do LI, o qual atua negativamente no processo de complexação, os resultados foram corrigidos mediante o emprego de um fator de correção, calculado elaborando curvas de calibração contaminadas com teores de LI similares aos empregados nos ensaios de extração.

Tabela 1. Ensaios realizados para avaliar os efeitos da razão molar Cr : LI e temperatura na extração de Cr^{+3} do resíduo do couro *wet blue*.

Ensaio	Razão molar Cr : LI	Temperatura (°C)
A	1:4,5	25
B	1:30	25
C	1:4,5	50
D	1:30	50

Após o período de 22 horas reacionais os sólidos foram separados de seus extratos por filtração, secos em estufa de circulação de ar (Marconi, modelo MA035/811300) a 50°C por 12 horas, pesados e caracterizados em relação ao teor de cromo, por espectrofotometria UV-Vis e morfologia estrutural, por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Os extratos, após caracterização em relação ao teor de cromo foram submetidos a uma etapa de alcalinização com NaOH 5M até pH 12 para induzir a precipitação e recuperação do cromo, como $\text{Cr}(\text{OH})_3$, bem como separação do LI.

As amostras de couro foram submetidas a reação de complexação com ETDA, mediante metodologia de digestão ácida em bloco digestor (modelo Termoreaktor TR300 – Merck) a 148°C por 10 minutos, empregando 0,1 g de amostra e 2,0 mL de HNO_3 (65%), marca NEON. Após resfriamento a temperatura ambiente

(25°C), a solução resultante da digestão foi transferida para balão volumétrico de 25 mL, e o volume aferido com água destilada.

A reação de complexação foi induzida em forno microondas (Philco modelo PMW-101), por 10 segundos, empregando 5 mL de amostra, 5 mL de NaOH 1 M mais água até pH 5 e 5 mL de uma solução saturada de EDTA, mantendo uma relação 1:1:1 (v/v/v). Para os extratos o volume empregado desta relação foi de 1 mL ao invés de 5 mL. Após a formação do complexo Cr-EDTA a amostra foi analisada espectrofotometricamente em 542 nm.

Análise Morfológica

A morfologia do material, antes e após extração foi observada mediante análises por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura da marca Zeiss modelo EVO LS25 (Alemanha). Previamente, as amostras de couro foram submetidas a uma etapa de metalização em metalizador (marca Quorum, modelo SC 7620 – UK) com ouro (20 nm). As ampliações variaram de 54 a 1000 vezes, de acordo com a estrutura de cada amostra, e foram efetuadas de tal maneira a se obter imagens nítidas da estrutura e das fibras em regiões específicas que permitiram tal visualização. As micrografias foram obtidas na tensão 10 kV.

Resultados

Metodologia Analítica para a Determinação de Cromo

A curva de calibração empregada para a análise espectrofotométrica do cromo é apresentada na Figura 3.

A relação Abs versus concentração de cromo ($[Cr]$) apresentou uma excelente linearidade para a faixa de concentração avaliada, entre 5 e 100 mg/L, com um R^2 de 0,9987.

Os resultados referentes aos pHs e as concentrações de Cr presentes nas amostras preparadas com a solução padrão de Cr de 200 mg/L, sem e com a presença de LI e NaOH, calculadas com equação referente a curva padrão sem LI são apresentados na Tabela 2.

Figura 3. Curva de calibração de concentração de Cr⁺³

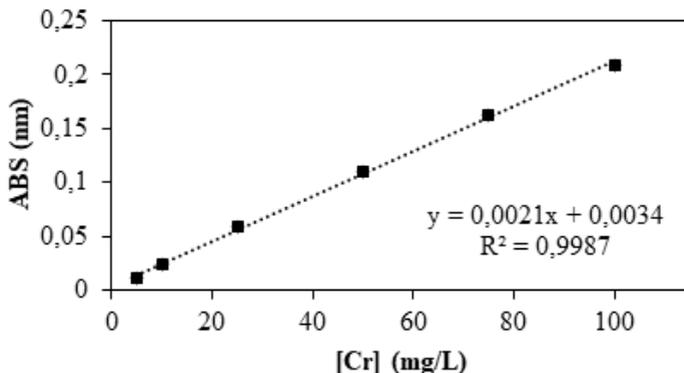


Tabela 2. Valores de pH e concentração de Cr presentes nas amostras preparadas com a solução padrão de Cr de 200 mg/L, sem e com a presença de LI e NaOH

Amostras	Respostas	
	pH	[Cr] (mg/L)
1	3,36	206,3
2	0,54	72,1
3	1,13	123,9

1- Solução padrão de Cr de 200 mg/L; 2 - solução padrão de Cr de 200 mg/L + LI; 3 - solução padrão de Cr de 200 mg/L + LI + NaOH

Para a Amostra 1, constituída sem a presença do LI, a Abs obtida, quando transcrita em concentração, correspondeu a um valor de 206,3 mg/L, ou seja, similar a sua concentração real que era de 200 mg/L, indicando que a metodologia a empregada seria adequada para este tipo de análise.

No entanto, quando da presença do líquido iônico, sem e com a adição de NaOH 1M (Amostra 2 e 3, respectivamente), os valores de concentração de Cr obtidos 72,1 (Amostra 2) e 123,9 mg/L (Amostra 3), foram bem distintos em relação ao valor verdadeiro (200 mg/L). Outra tendência observada foi em relação aos valores de concentração de Cr obtidos para as mesma amostras na presença de LI, os quais apresentaram um aumento significativo, de $\cong 72\%$ quando o pH passou de 0,54 para 1,13, indicando que o pH deve ser considerado como uma variável na etapa de complexação para minimizar o efeito negativo proporcionado pelo LI.

Neste contexto 7 novos ensaios foram realizados com as mesmas relações volumétricas para solução padrão de Cr (200 mg/L) : líquido iônico:solução saturada de EDTA (2:3:5, v/v/v), empregando 5 mL de soluções de NaOH com diferentes concentrações, gerando 15 mL de amostras com diferentes pHs: 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13. Os teores de cromo obtidos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentrações de cromo nas amostras obtidas em diferentes valores de pH

Amostra	pH	[Cr] (mg/L)
1	1	80,63
2	3	191,04
3	5	184,79
4	7	45,21
5	9	20,21
6	11	-
7	13	-

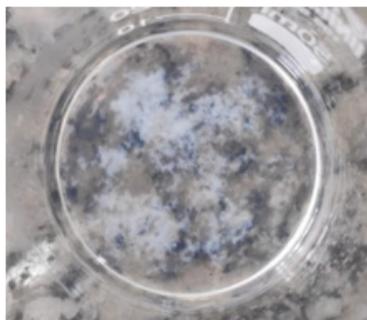
Observa-se um aumento da concentração de cromo quando o pH passou de 1 para 3 ou 5, com o melhor resultado, com 191 mg/L, sendo observado para os ensaios conduzidos com pH = 3. Este resultado está coerente com a literatura a qual sugere que o pH

entre 3 e 5 é o mais favorável para a reação de complexação entre o Cr e o EDTA ocorrer (Yuan *et al.*, 2021; Rosa, Jahno e Aquim, 2020).

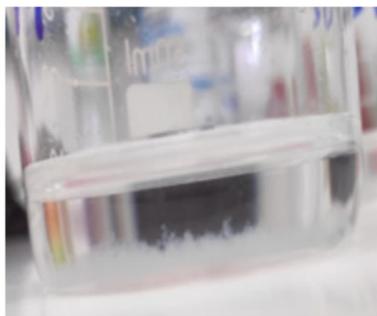
Em pHs superiores ($\geq 7,0$) observa-se um efeito negativo em relação a concentração de Cr, o qual passa a não ser identificado nos ensaios conduzidos com pHs 11 e 13. Esta tendência foi vinculada a precipitação de Cr, na forma de hidróxido de Cromo (III), no momento da correção do pH a valores entre 9 e 13. A manutenção do precipitado, mesmo na presença do EDTA, nos pHs 11 e 13 (Figura 4), sugere que o Cr(OH)_3 , nestas condições de pH é mais estável que o complexo Cr-EDTA.

Como esta etapa ocorre previamente a adição do EDTA, a transformação dos íons Cr em solução em uma espécie mais estável, o Cr(OH)_3 , tende a inibir a reação de complexação, impedindo o Cr de reagir com o EDTA.

Figura 4. Aspecto visual das amostras 6 e 7, ou seja, com pHs 11 e 13, após a adição do EDTA.



Amostra 6, pH = 11



Amostra 7, pH = 13

Fonte: Autora (2021).

Este efeito negativo do pH para a reação de complexação, o qual foi vinculado a formação de precipitado de Cr(OH)_3 em pHs 11 e 13, no contexto global da proposta de extração do Cr do couro com o líquido iônico em questão, apresenta-se com um resultados de extrema importância. Ao se avaliar este comportamento, presume-se que caos o processo de extração do Cr do couro seja

possível, existe um método simples e econômico para induzir a recuperação do LI e do Cr do sistema reacional. Esta característica de recuperação pode se tornar um diferencial para a viabilização econômica de um processo em escala real.

Em termos analíticos, o valor de 191 mg/L para uma solução de 200 mg/L é aceitável, pois representa um erro inferior a 5,0 %. No entanto, como o ensaio foi conduzido com um único ponto e com elevada concentração de líquido iônico, visando minimizar os erros foi conduzido um novo ensaio, construindo curvas de calibração na presença de diferentes teores de LI, com as mesmas concentrações de Cr empregadas na elaboração da curva sem LI.

As curvas de calibração obtidas na presença de diferentes teores de LI são apresentadas na Figura 5.

Comparando as curvas de calibração observa-se que as obtidas na presença de LI diferente em relação a obtida sem LI, apresentando valores inferiores aos observados para as mesmas concentrações na ausência do LI. No entanto os valores são muito similares entre si, indicando que na faixa de teores de LI avaliados os efeitos proporcionados pelo LI são similares.

Neste contexto, foi conduzido um estudo de proporcionalidade, para todas as concentrações, entre o valor médio de Abs obtido para as 3 condições ensaiados com LI e o valor de Abs obtido sem LI (Tabela 4).

Observa-se uma similaridade entre os valores de proporcionalidade ($\cong 1,8$) obtidos para 3 das 4 concentrações empregadas na construção das curvas de calibração na presença de LI, mais especificamente para as maiores concentrações (25, 50 e 100 mg/L). A discrepância observada para a menor concentração (10 mg/L) em relação as outras, foi vinculada ao baixo valor de Abs da leitura ($\cong 0,009$ u.a.), o qual está muito suscetível a erros significativos, mesmo com uma pequena variação da Abs.

Figura 5. Curvas de Calibração para Cr-EDTA complexados na ausência e na presença de LI [TEA][HSO₄].

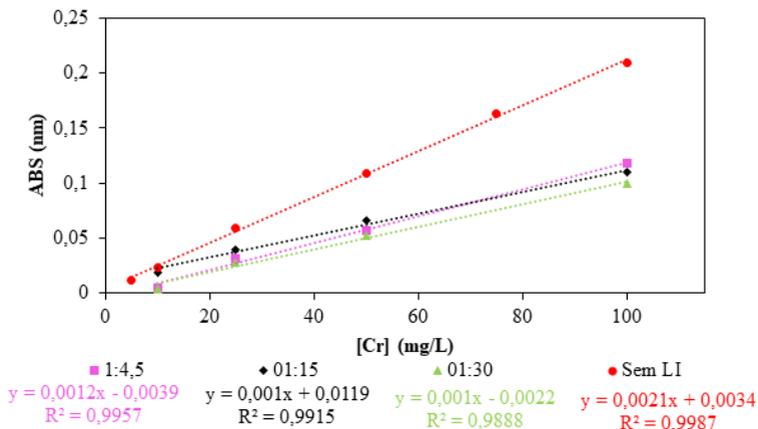


Tabela 4. Obtenção do fator de correção

[Cr] (mg/L)	Abs (nm)			Média (nm)	Abs (sem LI) / Média	Proporcionalidade
	1:4,5	1:15	1:30			
10	0.005	0.018	0.003	0.009	2.654	
25	0.031	0.039	0.028	0.033	1.806	1,864
50	0.057	0.066	0.052	0.058	1.869	
100	0.118	0.110	0.099	0.109	1.917	

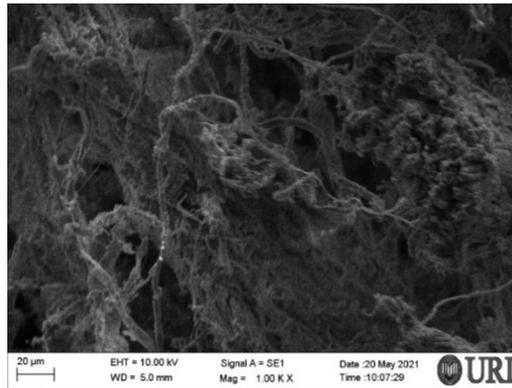
Neste sentido, optou por considerar a proporcionalidade média das outras 3 concentrações com fator de correção (1,864) para correção das respostas das amostras na presença de LI (extratos líquidos), calculadas empregando a curva de calibração sem LI.

Tratamento do resíduo de couro *wet blue*

O couro *wet blue* residual empregado como amostra apresentou em sua composição um teor de Cr de 37.800 mg/kg, o que equivale a 3,78%. Este valor está coerente com outros autores

que encontram valores de 2,5 % (m/m) (POPIOSLKI *et al.*, 2018) e 3% (m/m) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2008). Taborski *et al.* (2005), relatam que as aparas de couro curtido com Cromo contém entre 3,54 e 6,12 % (m/m) de Cr_2O_3 , ou seja, entre 2,46 e 4,25 % (m/m) em Cr. A Figura 6 mostra a morfologia interna de constituição das fibras do couro *wet blue* residual avaliada em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Figura 6. MEV do resíduo de couro *wet blue* sem tratamento



Fonte: Autora (2021).

Síntese do Hidrogenossulfato de Trietilamônio [TEA][HSO₄]

Após a etapa de síntese e purificação do LI, para remoção de água, obteve-se um rendimento, em massa, de 80,03%, o qual se demonstrou inferior aos valores relatados por Peralta (2019) e Dastyar *et al.* (2019), sendo estes, superiores a 90% para este mesmo LI, empregando os mesmos precursores. Esta diferença em termos de rendimento em relação a literatura foi vinculada ao processo de purificação destinado a remoção de água. Diferentemente das duas etapas empregadas em nosso trabalho, Peralta (2019) e Dastyar *et al.* (2019) aplicaram somente uma etapa de purificação mediante rota evaporação, o que pode ter contribuído para a menor remoção de água e, conseqüentemente, uma maior massa de LI, ou seja, maior

rendimento. Corroborar com esta hipótese as inconsistências nos picos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) observadas por Dastyar *et al.* (2019) para suas amostras, as quais foram atribuídas pelos autores a presença de traços de água ou ácido sulfúrico na composição do LI sintetizado.

A diferença de rendimento sugere que uma única etapa de rota-evaporação não é suficiente para remover toda a água residual presente no meio, e, que o tratamento subsequente com sulfato de sódio conduz a geração de um LI mais puro.

Ensaio de Extração do Cromo do Couro

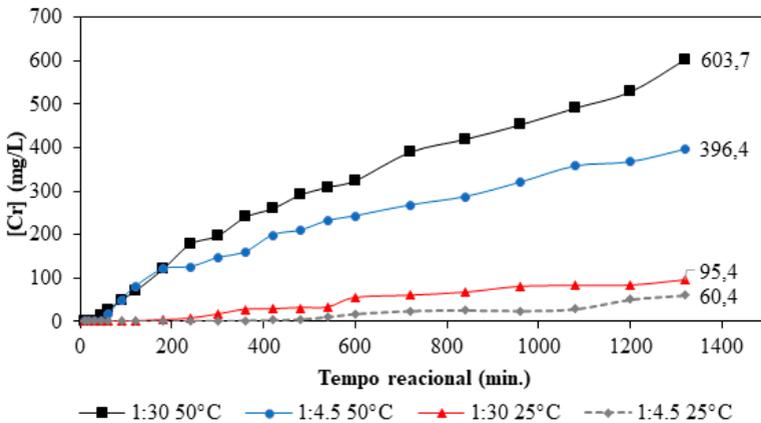
A extração do cromo do couro *wet blue* residual foi avaliada empregando 4 ensaios experimentais. A evolução da concentração de Cr na solução extratora, acompanhada por 22 horas reacionais, para as 4 condições avaliadas é apresentada na Figura 7.

Todas as condições avaliadas apresentaram uma mesma tendência, aumentando a concentração de cromo na solução extratora em função do tempo reacional. Este aumento é bem mais acentuado para os ensaios conduzidos a 50°C, cujo processo de extração se manifesta de forma efetiva acima de 50 minutos reacionais, correspondendo a uma concentração de cromo ([Cr]) de $\cong 25$ mg/L, mantendo um aumento aparentemente linear da evolução da concentração de Cr em solução até o último ponto avaliado (1320 minutos), indicando que o processo não atingiu um estado de equilíbrio.

Para os ensaios conduzidos a 25°C este início efetivo do processo de extração se manifesta em tempos reacionais superiores aos observados para os ensaios a 50°C e, distintos entre as duas relações molares avaliadas ($\cong 500$ minutos para a relação 1:4,5, com uma [Cr] de 10 mg/L e $\cong 300$ minutos para a relação 1:30, [Cr] de 16 mg/L), além de apresentar uma evolução bem menos acentuada com o tempo, com uma aparentemente condição de estabilidade acima 900 minutos reacionais.

Comparando de forma independente as variáveis estudadas, considerando as concentrações de Cr em 1320 minutos reacionais (22 horas), observa-se que tanto a temperatura quanto a relação molar Cr : LI apresentaram efeitos positivos, favorecendo a extração do cromo com seus aumentos e, que das duas variáveis, aparentemente, a temperatura foi a que apresentou o maior efeito, com aumentos de magnitude similares (entre 5 e 6 vezes) para as duas razões molares avaliadas (1:4,5 e 1:30, respectivamente).

Figura 7. Evolução da concentração de Cr na solução extratora por 1320 minutos reacionais

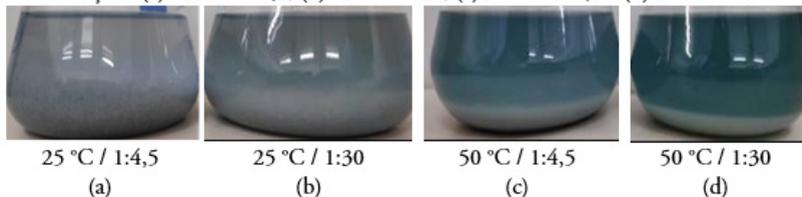


Para a variável razão molar, o efeito positivo é menos pronunciado, apresentando um aumento de 1,25 vezes a 25°C e, 1,5 vezes a 50 °C.

Dentre as condições avaliadas, a conduzida a 50 °C, uma razão molar 1:30 em 1320 minutos reacionais, foi a que apresentou o melhor resultado para remoção de Cr (600 mg/L). O aspecto visual do meio reacional, após 1320 minutos de contato para as 4 condições avaliadas são apresentados na Figura 8.

Figura 8. Aspecto visual das amostras após 1320 minutos reacionais.

Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



Fonte: Autora (2021).

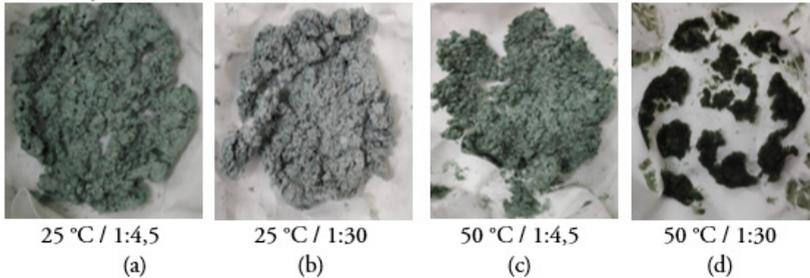
Todas as condições avaliadas continuaram apresentando-se ao final do tempo ensaiado como um sistema heterogêneo, similar ao de partida, diferenciando-se pela alteração da coloração da fase líquida, de incolor para um verde azulado, o qual é característico de íons Cr^{3+} em solução. O aumento, constatado de forma visual, da intensidade desta coloração entre as condições avaliadas apresenta a mesma tendência observada para as concentrações de Cr, determinadas quantitativamente por espectrofotometria UV-Vis, com a condição 50°C/1:30, de maior [Cr] apresentando a maior intensidade de cor.

Outra característica observada está relacionada com a massa de couro na mistura reacional, a qual, aparentemente, varia inversamente com a intensidade da coloração da fase líquida, com o ensaio com maior intensidade de cor, apresentando aparentemente a menor massa. Esta tendência foi vinculada a degradação, a qual favorece a lixiviação/extração do Cr para a solução, ao mesmo tempo que proporciona uma diminuição da fase sólida.

Os sólidos foram recuperados do sistema reacional por filtração e secos. O aspecto visual das 4 amostras de cromo seco, bem como suas respectivas massas são apresentados na Figura 9 e Tabela 5, respectivamente.

Figura 9. Aspecto visual das 4 amostras de couro secas após o processo de extração.

Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



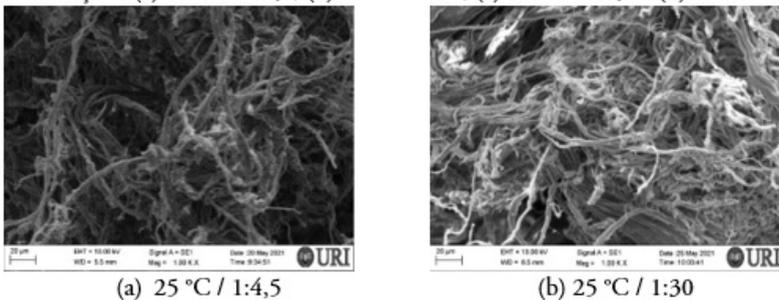
Fonte: Autora (2021).

Analisando a Figura 9, é possível verificar que, aparentemente as condições a, b e c, apresentam aspectos morfológicos macroscópicos similares entre elas e distintos da condição d, onde a manifestação do processo de degradação é macroscopicamente aparente.

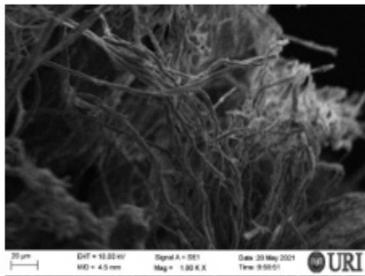
As microscopias eletrônicas de varredura (MEV) das amostras além de confirmar esta tendência, demonstram que a mesma se manifesta também a nível microscópico, atuando sobre a estrutura do couro (Figura 10).

Figura 10. Microscopia Eletrônica de Varredura das 4 amostras de couro secas após o processo de extração.

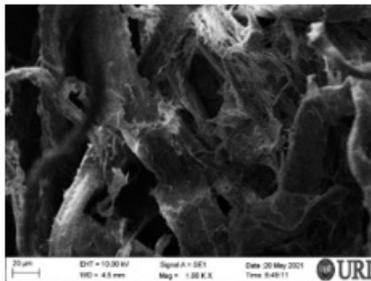
Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



Fonte: Autora (2021).



(c) 50 °C / 1:4,5



(d) 50 °C / 1:30

Nas imagens (MEV) referentes as amostras a, b e c ainda é possível observar a estrutura fibrilar intacta e com poucas ramificações, similar à do couro residual bruto empregado nos ensaios (Figura 9), e observado por De Castro (2011) para este mesmo tipo de amostra, porém diferentemente do aspecto visualizado para condição “d” a qual apresenta as fibras degradadas, coerente com as condições experimentais (50 °C e 1:30) mais agressivas empregada neste ensaio.

Corroborar com a tendência apresentada na Figura 11 para a massa de couro em solução e os aspectos degradativos observados na Figura 12. Os valores de massas seca de couro recuperadas são apresentadas na Tabela 5, com a condição “a” empregando as menores temperatura (25 °) e relação molar (1:4,5), ou seja, a menos agressiva, apresentando a maior massa (4,60 g), a qual equivale a uma recuperação de 92,0% e, a condição “d”, empregando as maiores temperaturas (50 °C) e relação maior relação molar (1:30), ou seja, a mais agressiva, apresentando a menor massa (3,52 g) a qual corresponde a uma recuperação de 70,4%. Os teores de Cr nos couros tratados, ou seja, após etapa de extração, juntamente com o percentual removido, o qual representa a eficiência do processo também são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de Couro recuperados, concentrações de cromo e quantidade de Cr removida.

Ensaio	Couro recuperado		[Cr] mg/kg	%	Remoção (%)
	(g)	%			
A	4,60	92,0	$2,6 \times 10^4$	2,61	30,91
B	4,27	85,4	$2,3 \times 10^4$	2,36	37,47
C	4,23	84,6	$1,5 \times 10^4$	1,56	58,65
D	3,52	70,4	$9,7 \times 10^3$	0,98	74,10

Massa de couro empregada nos ensaios: 5,0 g; Concentração: $37.800 \text{ mg/kg} = 3,78\%$.

O aumento da degradação proporcionado pela elevação da temperatura de 25°C para 50°C também foi relatado por Da Silva (2019) para a hidrólise ácida de couro *wet blue*, cuja melhora na eficiência foi vinculada ao favorecimento da quebra das moléculas, ou seja, degradação, proporcionado pelo aumento da temperatura.

Os valores referentes ao teor de cromo apresentaram a mesma tendência observada para as massas de cromo recuperadas, com a condição “a” com maior massa (4,60 g) recuperada apresentando o maior teor (2,61 %, m/m) e a condição “d”, com menor massa recuperada (3,52 g) apresentando o menor teor de cromo, com 0,98 % (m/m).

Considerando que a eficiência do processo está relacionada com a quantidade de Cr extraída, e que esta pode ser estipulada pela quantidade de Cr que permaneceu incorporada no couro após seu tratamento, os resultados demonstram que esta resposta varia inversamente à concentração de Cr no couro, com a melhor eficiência correspondendo a condição “d”, a qual conduziu há um couro tratado com um teor de Cr de 0,98 % (m/m), ou seja, 9.800 mg/kg, correspondendo a uma eficiência de extração de 74,10% (m/m). Comparado com a literatura estes valores são promissores. Majee *et al.* (2021), utilizando lavagens com ácido fosfórico a 30°C , após 3 lavagens com intervalos de 24 horas, conseguiram remoções de 40 a 90%, partindo de um couro contendo 1,3% de Cr em massa, ou seja, 13.000 mg/kg. Brown *et al.* (1986) conseguiram

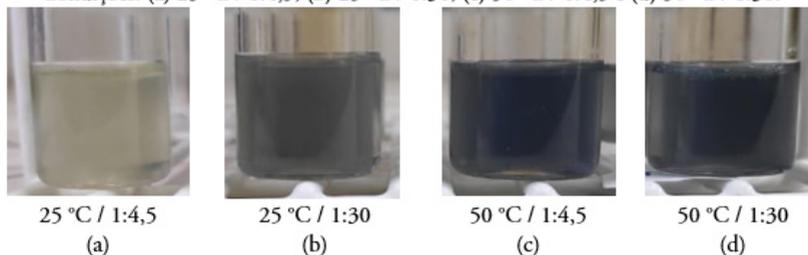
extração do cromo de 67 % com o ácido benzohidroxâmico, resultando em um couro tratado com um teor de Cr de 1.700 mg/kg (0,17%). No entanto nenhum deles relatou o aspecto final e o rendimento do couro tratado, informações importantes uma vez que o emprego de ácidos tende a hidrolisar o couro conduzindo a sua degradação e conseqüentemente perda de massa.

Recuperação do Cromo

As fases líquidas contendo LI e Cromo (Figura 11) foram submetidas a uma etapa destinada a recuperação de ambos os componentes. O processo se baseou na alcalinização da fase líquida induzindo a precipitação do Cr na forma de hidróxido de Cromo (III) $\{Cr(OH)_3\}$ (Figura 12), permitindo sua separação/recuperação da fase líquida, ou seja, do Líquido Iônico (LI) mediante filtração (Figura 13).

Figura 11. Aspecto visual de alíquotas das fases líquidas dos quatros ensaios após remoção do couro.

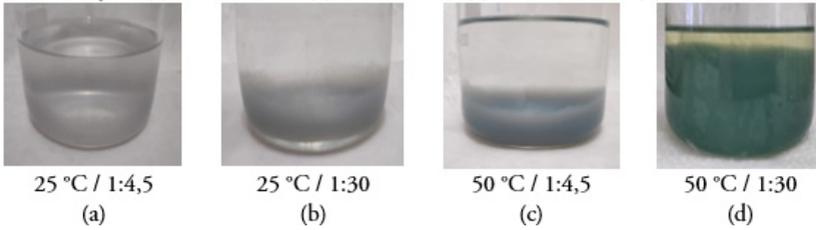
Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



Fonte: Autora, (2021).

Figura 12. Aspecto visual das fases líquidas dos quatros ensaios após alcalinização a pH 11 - 13.

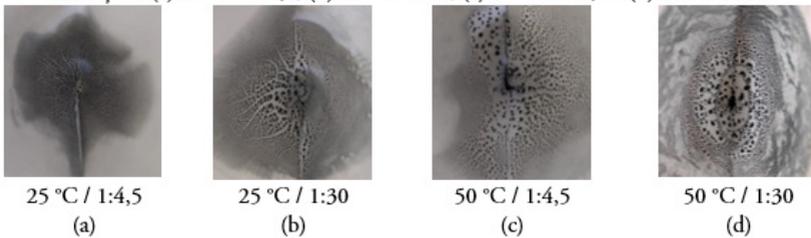
Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



Fonte: Autora (2021).

Figura 13. Aspecto visual dos filtros após a etapa de filtração para recuperação do $\text{Cr}(\text{OH})_3$

Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.



Fonte: Autora (2021).

Após secos os papéis filtros com o hidróxido de Cromo (III) foram pesados, permitindo calcular a massa de sólido recuperada, cujos valores são apresentados na Tabela 6.

Tabela 7. Massa de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ recuperado dos líquidos resultantes dos processos de extração.

Condições: (a) 25 °C / 1:4,5; (b) 25 °C / 1:30; (c) 50 °C / 1:4,5 e (d) 50 °C / 1:30.

Condições Experimentais	(a) 25 °C / 1:4,5	(b) 25 °C / 1:30	(c) 50 °C / 1:4,5	(d) 50 °C / 1:30
Massa de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (g)	0,400	0,435	0,521	0,864

Coerente com as informações anteriores, a condição “d”, com os melhores resultados de extração demonstrado em todas as resposta acompanhadas, foi a que apresentou a maior massa de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ recuperada, com 0,864 g. Em contra partida a condição “a”, com os resultados menos eficientes de extração demonstrado pelas resposta anteriores, foi o que apresentou a menor massa de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ recuperada, com 0,400 g.

Considerações finais

Os resultados demonstram que o LI tem potencial de ser empregado com agente extrator de Cr do couro *wet blue* residual e que o aumento da eficiência de extração, proporcionado pelo aumento da intensidade das variáveis estudadas, vem acompanhada por uma diminuição da quantidade de couro residual recuperado, característica que deve ser considerada, além disto, o processo permite a recuperação do cromo, o qual pode ser reinserido no processo produtivo do curtume, mais especificamente na etapa de curtimento, e do LI, permitindo assim sua reutilização em novos ensaios, tornando o processo cíclico, com o mínimo de perdas em massa no processo.

No entanto, mesmo com a boa eficiência de remoção observada, acima de 70%, o teor de cromo ainda presente ainda não se enquadra nos parâmetros estabelecidos pela legislação vigente para ser empregado como fertilizante orgânico ou substrato de plantas, desta forma, sugere-se que outras rotas utilizando diferentes condições e/ou outros líquidos iônicos sejam estudados. Contudo este trabalho é inovador, onde de nosso conhecimento não há relatos na literatura, que utilizem LI's na remoção do Cr do couro WB. Assim, se concluiu que este trabalho além de inovador é um marco, onde abriu novas portas, possibilitando que muitos outros trabalhos possam surgir nesta área do conhecimento.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.

NBR 10004: Resíduos Sólidos – Classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 2004. Disponível em: <https://analiticaqmcresiduos.paginas.ufsc.br/files/2014/07/Nbr-10004-2004-Classificacao-De-Residuos-Solidos.pdf>. Acesso em: 19 de jun. 2021.

AMBRÓSIO, N.; BERNARDI, J. L.; DALLAGO, R.; MIGNONI, M. L. Remoção de metais pesados de efluentes utilizando líquidos iônicos: uma revisão. **Brasilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 50189-50209, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n5-426. Acesso em 12 jun. 2021.

BIZZI, C. A.; ZANATTA, R. C.; SANTOS, D.; GIACOBÉ, K.; DALLAGO, R. M.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M. Ultrasound-assisted extraction of chromium from residual tanned leather: An innovative strategy for the reuse of waste in tanning industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 64, p. 1350-4177, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104682>. Acesso em: 19 jun. 2021.

BROWN, D. A; GLASS, W. K; JAN, M. R; MULDER, R. M. W. Investigation of carboxylic acids for the extraction of chromium (III) from leather waste and the possible re-use of the extracted chromium in the tanning industry. **Environmental Technology Letters**, v. 7, n. 5, p. 289-298, 1986. DOI: <https://doi.org/10.1080/09593338609384415>. Acesso em 11 fev. 2021.

COSTA, A. C. S.; ASSIS, J. C. R.; TORRES, A. L. C.; FERREIRA, S. L. C.; KORN, M. G. A.; TEIXEIRA, L.S.G. Uso de irradiação de microondas na determinação espectrofotométrica de cromo com EDTA. **Revista Química Nova**, v. 22, n. 2, p.194-196, 1998. ISSN: 0100-4042. Disponível em: <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/4900>. Acesso em: 17 jun. 2021.

COT, J.; MANICH, A. M.; MARSAL, A.; FORT, M.; GIRONA, J.; CELMA, P. J.; CARRIO, R.; CHOQUE, R.; CABEZA, L. F. Processing of collagenic residues. Isolation of gelatin by the action

of peroxochromates. **Journal of the American Leather Chemists Association**, v. 94, n. 4, p. 115-127, 1999.

COOPER, M.; GUTERREZ, M.; MARCÍLIO, N.
Environmental Developments and Researches in Brazilian Leather Sector. **SLTC Journal**, v. 95, p. 243-249, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/288474842_Environmental_Developments_and_Researches_in_Brazilian_Leather_Sector. Acesso em: 19 abr. 2021.

DA SILVA, K. M. **Hidrólise de resíduos da indústria coureira**. 2019. 34 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/200293>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DASTYAR, W.; ZHAO, M.; YUAN, W.; LI, H.; TING, Z. J.; GHAEDI, H.; YUAN, H., LI, X.; WANG, W. Effective pretreatment of heavy metal-contaminated biomass using a low-cost ionic liquid (Triethylammonium Hydrogen Sulfate): optimization by response surface methodology – box Behnken design. **American Chemical Society: Sustainable Chemistry e Engineering**, v. 7, n. 13, p. 11571-11581, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b01457>. Acesso em: 11 mar. 2021.

DE CASTRO, I. A. **Resíduo de couro “wet blue” após a extração de cromo: uso como fertilizante nitrogenado em plantação de eucalipto**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br>. Acesso em: 13 mar. 2021.

DE OLIVEIRA, D. Q. L.; CARVALHO, K. T. G.; BASTOS, A. R. R.; DE OLIVEIRA, L. C. A.; MARQUES, J. J. G. S. M.; DO NASCIMENTO, R. S. M. P. Utilização de resíduos da indústria de couro como fonte nitrogenada para capim-elefante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 417-424, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000100039>. Acesso em: 10 jun. 2021.

FOONG, C. Y.; WIRZAL, M. D. H.; BUSTAM, M. A. A review on nanofibers membrane with amino-based ionic liquid for heavy metal removal. **Journal of Molecular Liquids**, v. 297, n. 111793, p. 1-18, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111793>. Acesso em: 17 abr. 2021.

NOGUEIRA, F. G. E.; DO PRADO, N. T.; OLIVEIRA, L. C. A.; BASTOS, A. R. R.; LOPES, J. H.; DE CARVALHO J. G. Incorporation of mineral phosphorous and potassium on leather waste (collagen): a new N_{collagen} PK-fertilizer with slow liberation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1-3, p. 374-380, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.040>. Acesso em: 02 fev. 2021.

MAHLER, A. P. D. **Descromagem hidrometalúrgica de resíduos sólidos (serragem) de couro**. 1999. 140 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

MAJEE, S.; HALDER, G.; MANDAL, D. D.; TIWARI, O.N.; MANDAL, T.; Transforming wet blue leather and potato peel into an eco-friendly bio-organic NPK fertilizer for intensifying crop productivity and retrieving value-added recyclable chromium salts. **Journal of Hazardous Materials**, v. 411, n. 125046, p. 1-12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125046>. Acesso em: 10 jun. 2021.

PERALTA, A. K. N. **Líquidos iônicos como solventes para incrustações em tubulações industriais**. 2019. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2019. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/11552>. Acesso em: 02 mai. 2021.

POPIOLSKI, Ariana Secco. **Extração de Cromo (Cr) Presente em Couro “Wet-Blue” Residual com Recuperação dos Princípios Ativos**. 2017. 95 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto

Uruguai e das Missões, Erechim, 2017. Disponível em: https://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/3426.pdf. Acesso em: 15 mar. 2021.

POPIOLSKI, A. S.; DALLAGO, R. M.; STEFFENS, J.; MIGNONI, M. L.; VENQUIARUTO, L. D.; SANTOS, D.; DUARTE, F. A. Ultrasound-assisted extraction of Cr from residual tannery leather: feasibility of ethylenediaminetetraacetic acid as the extraction solution. **American Chemical Society**, v. 3, n. 11, p. 16074-16080, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.8b02241>. Acesso em: 19 jun. 2021.

ROSA, M.; JAHNO, V. D.; DE AQUIM, P. M. Valorização dos produtos oriundos do resíduo de couro Wet Blue hidrolisado. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 11, n. 1, p. 90-111, 2020. DOI: <https://doi.org/10.25112/rtt.v11i1.2280>. Acesso em 10 mar. 2021.

SILVA, R. C.; JÚNIOR, J. C. R.; DE LIMA, R. F.; DE SOUSA, R. V.; DE OLIVEIRA, L. C. A.; DANIEL, J. L. P.; MOREIRA, A. de O. Potential of wet blue leather waste for ruminant feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 1070-1073, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000400033>. Acesso em: 23 abr. 2021.

SINGH, S. K.; SAVOY, A. W.; Ionic liquids synthesis and applications: An overview. **Journal of Molecular Liquids**, v. 297, n. 112038, p. 1- 63, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112038>. Acesso em: 14 mar. 2020.

TABORSKI, W.; KOWALSKI, Z.; WZOREK, Z.; KONOPKA, M. Thermal utilization of leather scrap after chrome tanning. **Journal of the American Leather Chemists Association**, v. 100, p. 344-353, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/286886150_Thermal_utilization_of_leather_scrap_after_chrome_tanning. Acesso em 19 jun. 2021.

WIESZCZYCKA, K.; FILIPOWIAK, K.; WOJCIECHOWSKA, I.; BUCHWALD, T.; CIESIELCZYK, K. S.; STRZEMIECKA, B.; JESIONOWSKI, T.; VOELKEL, A. Novel highly

efficient ionic liquid-functionalized silica for toxic metals removal. **Separation and Purification Technology**, v. 265, n. 118483, p. 1- 18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118483>. Acesso em 18 abr. 2021.

YUAN, Y.; AN, Z.; ZHANG, R.; WEI, X.; LAI, B. Efficiencies and mechanisms of heavy metals adsorption on waste leather-derived high-nitrogen activated carbon. **Journal of Cleaner Production**, v. 293, n. 126215, p. 1- 9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126215>. Acesso em: 10 jun. 2021.

ZAMBARE, R. S.; NEMADE, P. R. Ionic liquid-modified graphene oxide sponge for hexavalent chromium removal from water. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 609, n. 125657, p. 1- 33, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125657>. Acesso em 17 abr. 2021.



AValiação DA ESTABILIDADE TéRMICA DE FITASE EM Rações PARA FRANGOS

*Richard Luan Zanin Perosa¹, Rosicler Colet², Geciane Toniazzo
Backes³, Rogério Marcos Dallago⁴*

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) –
richardkperosa@hotmail.com

²Pós-doutoranda em Engenharia de Alimentos e Técnica de laboratório
(URI) - rosicler.colet@yahoo.com.br

³Profª. Drª. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) -
gtoniazzo@uricer.edu.br

⁴Prof. Dr. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) -
dallago@uricer.edu.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura sobre a atividade de fitase empregada na elaboração de ração para frangos de corte e iniciais, farelada e peletizada (etapa de peletização realizada a 80°C), principal responsável pela inativação enzimática. Primeiramente realizou-se a determinação da granulometria da enzima bruta e da ração farelada e peletizada, sendo que a peletizada foi previamente triturada e após determinada a granulometria. As frações retidas nas peneiras de 16 e 35 *mesh* foram homogeneizadas para extração da enzima, por corresponder com a da enzima adicionada. As amostras foram submetidas a moagem em moinho de martelos e classificadas, ambas sem o peneiramento, a fim de avaliar a distribuição da enzima nos diferentes processos de preparo das rações e com peneiramento. Para a determinação da atividade de fitase preparou-se relações de massa:volume de 6,67 a 500 g:L das formulações de ração, mantidas a 150 rpm, 50°C por 1 hora, para solubilizar e extrair as enzimas. Para a determinação da atividade empregou-se 0,2 mL de tampão acetato 0,6 M, 0,15 mL de fitato de sódio 8 mM, 0,65 mL de água destilada e 0,1 mL da solução de fitase e incubado a 50°C por 30 minutos, seguida da quantificação em espectrofotômetro a 350nm. A atividade de fitase das rações para frangos de corte, farelada e peletizada, variou de 6.183 a 10.122 $\mu\text{mol/L}$ e 4.138 a 7.513 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Ao avaliar a ração de frangos iniciais,

obtiveram-se variações de atividade entre 8.994 a 9.363 $\mu\text{mol/L}$ para as amostras fareladas e 5.144 a 5.675 $\mu\text{mol/L}$ para as peletizadas. Para ração farelada e peletizada, com moagem parcial e total, obteve-se atividades de 5.751 e 4.518 $\mu\text{mol/L}$ e 4.323 a 3.644 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente.

Palavras-chave: Enzimas. Inativação enzimática. Metodologia. Peletização.

Introdução

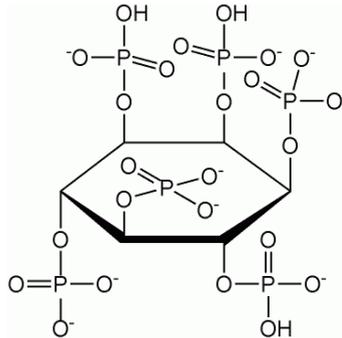
O fósforo é um nutriente essencial para todos os animais, sendo crucial para a integridade do esqueleto, crescimento e desempenho. Porém, o seu teor em ingredientes de origem vegetal varia de 1 a 5% (m/m) (CHERYAN, 1980), por se encontrar na forma de ácido fítico ($\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$), não é suficiente para suprir as necessidades, principalmente de animais monogástricos, como os frangos, os quais possuem capacidade limitada de hidrolisar o fitato (IQBAL *et al.*, 1994), disponibilizando o fósforo, devido à baixa atividade de fitase endógena, bem como da população microbiana na parte superior do trato digestivo (FERREIRA e LOPES, 2012). Por esse motivo o fósforo não é totalmente absorvido (WALZ e PALLAUF, 2002), sendo excretado nas fezes, o que torna o estercor de frangos atrativo para o emprego como fertilizante agrícola.

O ácido fítico ou mio-inositol hexafosfato é um constituinte que está presente, em sua maior quantidade, em vegetais, principalmente em cereais como leguminosas, oleaginosas, pólenes e amêndoas (CHERYAN, 1980). Uma das principais funções fisiológicas do ácido fítico na planta é a sua atuação como reserva de fósforo, representando cerca de 60 a 97% do fósforo total (RAVINDRAN *et al.*, 1994).

O fósforo é um dos ingredientes mais onerosos economicamente na formulação da dieta para frangos, e também é um fator limitante, pois devido às suas propriedades é essencial para manutenção das atividades metabólicas do organismo (ORDONEZ *et al.*, 2018). No entanto, a forma como o fósforo se encontra

nas formulações, na maioria das vezes, como fitato (Figura 1) ou ligado a minerais, proteínas e amido, torna-o indisponível para seu aproveitamento, caracterizando-o como fator antinutricional.

Figura 1 – Estrutura molecular do ácido fítico



Fonte: <http://www.food-info.net/uk/qa/qa-fp162.htm>

Dessa forma, as exigências nutricionais em relação ao fósforo podem ser atendidas por duas vias: i) mediante a implementação na dieta de fósforo inorgânico, como exemplo, o fosfato bicálcico, porém, estas fontes inorgânicas de fósforo são relativamente caras, além de serem fontes não renováveis (DARI, 2012) ou, ii) pela suplementação de fitase em rações, uma fosfatase que hidrolisa as ligações éster do fosfatidilinositol e libera o fósforo (EL-HACK *et al.*, 2018) presente nos matérias de origem vegetal, mais especificamente como fitato, na forma de fósforo inorgânico, proporcionando um aumento deste disponível na dieta animal, potencializando sua absorção, a qual se traduz em ganho de peso (EL-HACK *et al.*, 2018), melhora do sistema imunológico (PIRGOZLIEV *et al.*, 2019) e da qualidade dos ovos (DAILIM *et al.*, 2018), além de possibilitar a atenuação do emprego de fósforo inorgânico suplementar na dieta alimentar dos frangos (ORDONEZ *et al.*, 2018; SCHIMIDT e SILVA, 2018), redução da excreção de fósforo nas fezes (ALAGAWANY *et al.*, 2018) e consequentemente diminuição de custos na elaboração das formulações.

As fitases pertencem à classe das fosfo-hidrolases que realizam a hidrólise gradual dos fitatos, derivados do mio-inositol (SING *et al.*, 2017), nas ligações fosfomonoéster dos fitatos (JATUWONG *et al.*, 2020), liberando o fósforo na condição de fosfatos. Esta classe de enzimas, disponíveis comercialmente, pode ser utilizada nas dietas de frangos, contribuindo para melhora na digestão dos nutrientes, uma vez que as aves não possuem em seu sistema gastrointestinal enzimas com esta função, permitindo uma melhora na absorção de alguns nutrientes (ALAGAWANY *et al.*, 2018).

Neste sentido, o uso de enzimas exógenas, como a fitase, de origem microbiana, como aditivo em rações animais, tem crescido, pois além de melhorar as características das rações, proporciona um melhor desempenho em termos de desenvolvimento (COELHO e TOLEDO, 2017; GARCIA e GOMES, 2019), por disponibilização do fósforo, além reduzir o emprego de fósforo inorgânico como agente suplementar (DELMASCHIO, 2018). Alguns autores avaliaram o emprego da fitase e observaram a eficácia da suplementação de fitase para melhorar a utilização do fosfato proveniente do fitato (TEJEDOR *et al.*, 2001; AUGSPURGER *et al.*, 2003; FUKAYAMA *et al.*, 2008; LELIS *et al.*, 2010). De acordo com Dourado *et al.* (2014), dependendo da enzima é possível observar melhorias no desempenho produtivo, na digestibilidade dos nutrientes, na morfometria intestinal, na saúde e na imunidade dos animais, além de reduzir custos na produção das rações.

No entanto, a utilização das fitases adicionadas à ração ou presentes naturalmente nos cereais, apresenta um problema, a manutenção de sua atividade durante o processamento da ração ou dos alimentos, a qual é afetada pelo aquecimento (térmico e mecânico), que pode variar de 70 a 95°C na etapa de granulação, proporcionando perdas de até 50% na atividade, e próximos a 100% quando o aquecimento ultrapassa 80°C durante a peletização (POINTILLART, 1994; DOZIER, 2001). Por outro lado, o aumento da temperatura, ao promover a hidrólise dos grânulos de amido, liberando a amilose e a amilopectina, facilita a ação das

enzimas digestivas, favorecendo a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, sua absorção. De acordo com Harati *et al.* (2017), uma forma de minimizar o efeito negativo da temperatura sobre a atividade enzimática, bem como aumentar sua estabilidade ao pH, é o emprego da enzima imobilizada.

Dentro do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do processo de peletização de ração de frangos em relação a atividade enzimática da enzima fitase imobilizada incorporada a mesma. Este estudo foi desenvolvido em parceria com uma fábrica de ração localizada no norte gaúcho, com duas formulações de rações para frangos, sendo uma para fase inicial e outra para fase de corte, as rações se encontram nas condições farelada e peletizada.

Metodologia

Rações e enzima utilizadas no estudo

A enzima comercial empregada neste estudo foi uma fitase, produzida pela fermentação do fungo *Trichoderma reesei*, na condição imobilizada (Axta Phy 10000 TPT, Danisco Animal Nutrition), a qual se apresenta em forma de grânulos finos (diâmetros de partículas variando de 200 μ m a 1180 μ m) coloração branca a castanha clara (Figura 2).

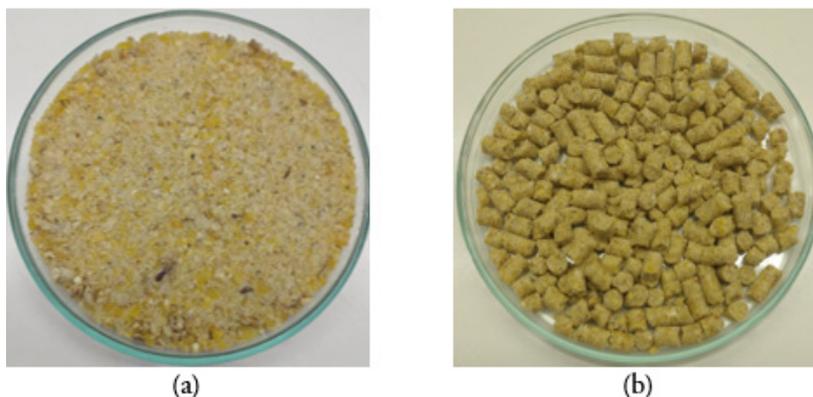
Figura 2 – Enzima fitase comercial imobilizada.



Fonte: Autor (2021).

As rações para os frangos de corte e iniciais, nas formas farelada e peletizada (Figura 3a e 3b), foram gentilmente doadas por uma empresa do norte gaúcho, a qual utiliza em sua composição a enzima fitase imobilizada (Axtra Phy 10000 TPT, Danisco Animal Nutrition) na concentração de 0,005% (m/m). De acordo com o fornecedor, nestas condições a enzima apresenta estabilidade térmica, mantendo sua eficácia, no processo de peletização, desde que não exceda 95°C.

Figura 3 – Ração para frangos de corte e iniciais nas formas (a) farelada (b) peletizada

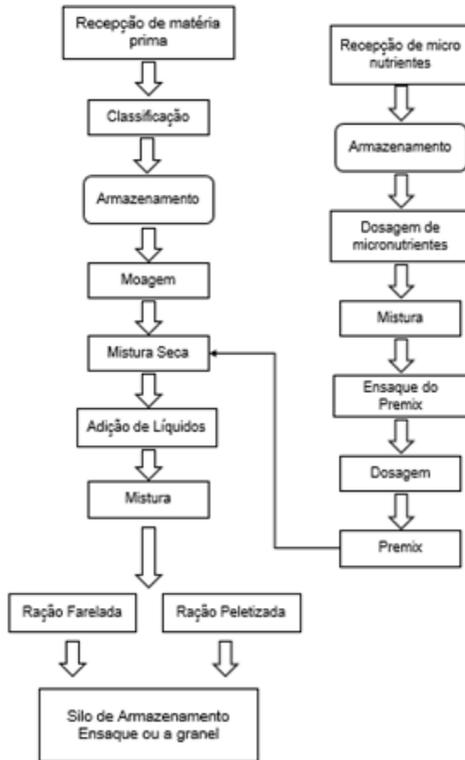


Fonte: Autor (2021).

Processamento das rações

O processo de elaboração de rações está demonstrado no fluxograma da Figura 4, o qual apresenta desde a recepção das matérias-primas como milho, farelo de soja e constituintes líquidos, os quais passam por classificações e avaliação da qualidade de recebimento, para que prossigam para armazenamento em silos.

Figura 4 – Fluxograma do processo de elaboração de ração para frangos

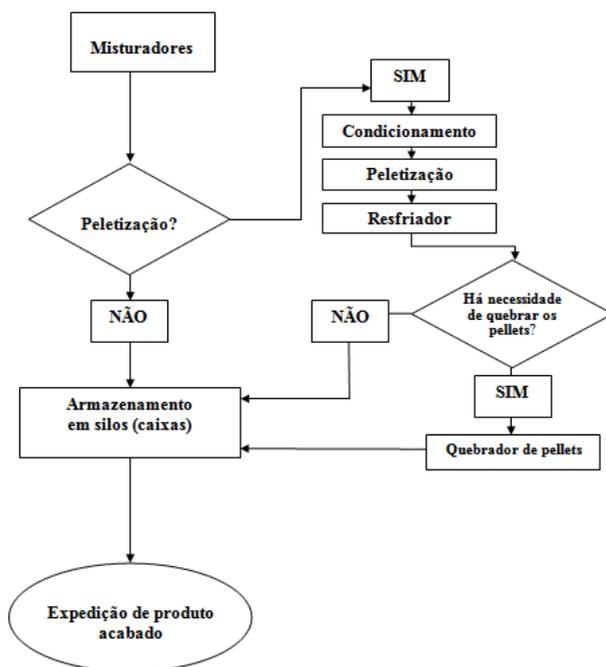


Fonte: Modificado de BARBOSA (2015).

Posteriormente, o milho e farelo de soja passam por uma etapa de moagem, para obtenção de granulometria adequada, seguindo para uma “mistura seca”, a qual é realizada a incorporação do *premix* e dos líquidos. O *premix* corresponde à mistura dos micronutrientes e da enzima. O *blend* correspondente aos macronutrientes, micronutrientes e os líquidos os quais são submetidos a uma nova mistura, visando a sua homogeneização destinada a produção da ração farelada (submetida somente a processos mecânicos, não térmicos) ou peletizada, (submetida a tratamento mecânico e térmico), ambas são encaminhadas para os silos de armazenamento.

A Figura 5 apresenta, de forma mais detalhada, um fluxograma que descreve a etapa do processo de peletização da ração, a qual é obtida mediante a aplicação de um processo mecânico e térmico, o qual pode ser prejudicial a enzima, conduzindo a sua inativação.

Figura 5 – Fluxograma da etapa de peletização do processo elaboração de rações para frangos



Fonte: Autor (2021).

Após a etapa de homogeneização, a ração segue para o condicionamento onde ocorre o cozimento da ração ainda farelada, mediante adição de vapor na entrada a 110°C. Com a utilização de pás a ração é homogeneizada em torno de 7 segundos, atingindo uma temperatura no meio do percurso reacional de 95°C e no final, de 85°C. A temperatura, determinada com termômetro digital, é acompanhada em 3 diferentes pontos da linha do condicionador (entrada, meio e final) como medida de controle.

A etapa de peletização, responsável pela gelatinização do amido e, conseqüentemente a aglutinação, é conduzida à temperatura de 80°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) e tem como objetivo a formação dos *pellets*. A temperatura é monitorada por um sistema integrado, e verificada a cada 3 horas, utilizando um termômetro (PT-100). Na seqüência, o resfriador tem como objetivo diminuir a temperatura da ração, e assim proporcionar um armazenamento estável em relação a qualidade do *pellet*. Além disto, a etapa de resfriamento diminui a umidade, mediante condensação, e evita possíveis fraturas/desintegração dos *pellets* e problemas com o desenvolvimento de fungos.

Coleta e preparo das amostras

As amostras de ração farelada e peletizada correspondem a duas etapas distintas do processo. A ração farelada é coletada posteriormente a mistura mecânica de todos os constituintes. E a ração peletizada, corresponde a ração farelada submetida a processo mecânico e na seqüência um processo térmico de compressão, necessário para a formação do *pellet*. Esta diferenciação nos permitirá avaliar o efeito da temperatura na inativação térmica da fitase.

A enzima bruta imobilizada comercial (Figura 1) foi caracterizada mediante a determinação da distribuição granulométrica, com o emprego de um conjunto de peneiras com abertura de poros que variam de 2 a 0,125 mm (9 a 115 *mesh*), conforme apresentado na Tabela 1. Também se realizou um teste preliminar para observar visualmente a solubilidade da enzima imobilizada em água. Para tanto, foi diluído 0,001 g de enzima imobilizada em 0,3mL de água destilada.

Tabela 1 - Peneiras utilizadas para determinação de granulometria das amostras de ração farelada e peletizada

Peneira	Abertura (mm)	ABNT/ASTM	Tyler/Mesh
1	2,00	10	9
2	1,00	18	16
3	0,850	20	20
4	0,500	35	32
5	0,425	40	35
6	0,355	45	42
7	0,250	60	60
8	0,180	80	80
9	0,125	120	115
Fundo	-	-	-

Fonte: Adaptada de Splabor (2017). Disponível em: <https://www.splabor.com.br/blog/peneiras/peneira-granulometrica-dimensao-de-materiais-solidos-e-obtida-atraves-da-granulometria/>

Esta etapa permitiu estipular, nas rações, em qual faixa de granulometria teoricamente a enzima poderá se encontrar agregada. Frações das rações com granulometrias inferiores a mínima da enzima, em teoria não possui enzima presente, permitindo assim o emprego nos estudos de atividade com as rações de uma fração granulométrica com maior probabilidade de apresentar atividade enzimática a qual será empregada como resposta para avaliar a influência da temperatura no processamento da ração.

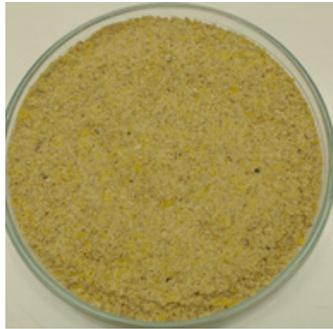
Ensaio 1 – Influência da etapa de peletização sobre atividade de fitase

A ração do tipo farelada (Figura 3a) foi submetida à etapa de peneiramento, coletando as frações pré-determinadas no ensaio anterior. Para a ração peletizada (Figura 3b), previamente a etapa de peneiramento, a mesma foi submetida a um ensaio de maceração,

com gral e pistilo, visando redução do tamanho de partícula, permitindo uma melhor distribuição, similar a farelada (Figura 6).

As frações coletas de cada amostra foram homogeneizadas gerando uma amostra composta, a qual foi empregada nos ensaios de determinação da atividade enzimática. Estas amostras foram submetidas ao contato dinâmico com água, em diferentes proporções de massa de ração:volume de água (6,67; 66,67; 166,67; 333,33 e 500 g:L) sob agitação de 150 rpm em *shaker* (Marconi, MA420) à 50°C por 1 hora, para obtenção de extratos, os quais foram analisados em relação a suas atividades de fitase.

Figura 6 - Ração peletizada após a etapa de maceração com gral e pistilo



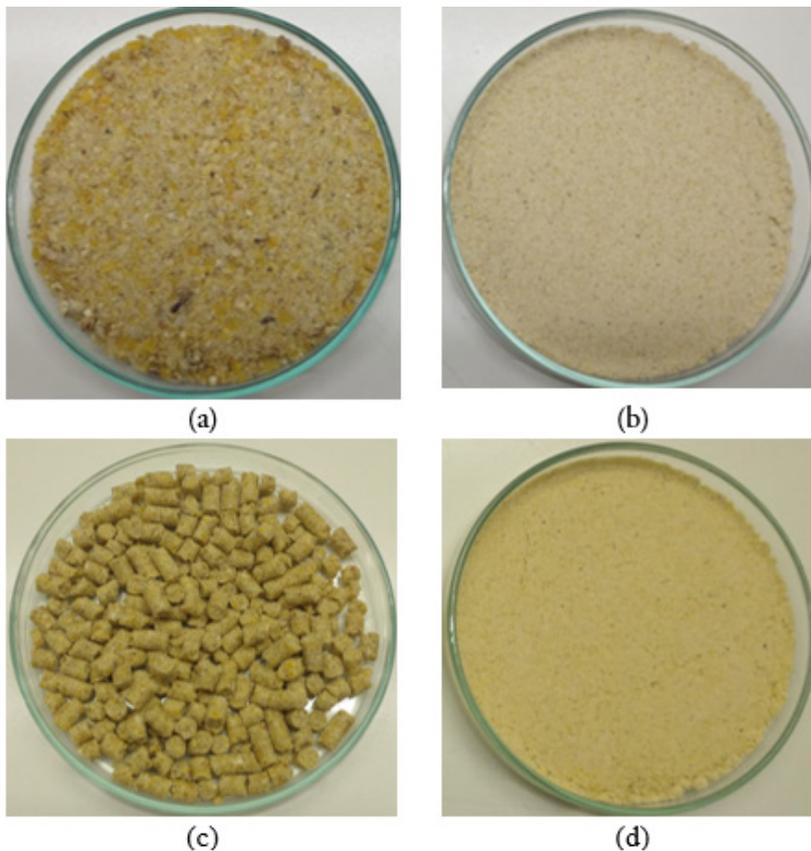
Fonte: Autor (2021).

Ensaio 2 – Influência da moagem das amostras de ração

Buscando melhorar a representatividade das amostras, e em sintonia com a metodologia empregada por laboratório de prestação de serviço para este tipo de análise, com esta amostra, foi conduzido um novo ensaio de preparação, o qual consiste na moagem em moinho de martelos (TE – 330, Tecnal), com peneira de 1 mm (16 *mesh*). Para as duas amostras (farelada e peletizada) foram avaliados segmentos distintos, i) um correspondendo a toda a amostra sem a etapa de peneiramento e ii) outro composto pelas frações (pré-definidas pelo ensaio de determinação da granulometria da enzima imobilizada) recolhidas na etapa de peneiramento. O

aspecto visual das amostras farelada e peletizada pós-moagem em moinho são apresentados na Figura 7.

Figura 7 – Aspecto visual das amostras de ração farelada (a), farelada pós-moagem em moinho (b), peletizada (c) e peletizada pós-moagem em moinho (d)



Fonte: Autor (2021).

Ambas as amostras moídas foram submetidas ao contato dinâmico com água na proporção 333,33 g:L (m/v), mantidas sob agitação de 150 rpm em *shaker* (Marconi, MA420), à 50°C por 1 hora, para obtenção de extratos, os quais foram analisados em relação a suas atividades de fitase.

Atividade de fitase

A atividade de fitase nas amostras de enzima comercial imobilizada e diferentes tipos de rações foram determinados conforme metodologia aplicada por Lolas e Markakis (1977). Em um tubo de ensaio adicionou-se 0,2 mL de tampão acetato 0,6 M, 0,15 mL de fitato de sódio 8 mM (Aldrich), 0,65 mL de água destilada e 0,1 mL das soluções preparadas empregando diferentes massas das amostras de rações (6,67; 66,67; 166,67; 333,33 e 500 g:L), bem como do extrato enzimático contendo 0,67g:L.

Após uma etapa de homogeneização os sistemas reacionais foram incubados em banho-maria (Unique, USC1800), a 50°C por 30 minutos. Posteriormente, adicionou-se ácido tricloroacético (Synth) até uma concentração final de 0,7 M e a mistura centrifugada (Zentrifugen Hettich, D-78532 Tuttlingen) por 10 minutos, a 60 rpm em temperatura ambiente (23°C). O sobrenadante foi separado e submetido a determinação do teor de fósforo inorgânico, de acordo com o método do molibdato de amônio, adaptado por Heinonen e Lahti (1981). O método consiste na mistura de 0,5mL de amostra e 4mL de uma solução de ácido sulfúrico (Química Moderna) 5M – acetona (Nuclear) – molibdato de amônio 10mM (Neon) (AAM), nas proporções de 1:4:1 (v/v/v). Após uma etapa de agitação em *vortex* (KASVI, K40-10208) a 1200 rpm por cinco segundos procedeu-se a adição de 0,4 mL de ácido cítrico (Neon) para agir como redutor de pH. Após nova etapa de agitação a amostra foi submetida à análise espectrofotométrica (Agilent Technologies, G1103A) em 350nm.

A determinação do teor de fósforo foi calculada empregando como referência uma curva padrão construída na faixa de 99 a 2990 $\mu\text{mol/L}$ de fosfato. Todas as análises de atividade enzimática foram realizadas em triplicata. Uma unidade enzimática foi definida como sendo a quantidade de fosfato inorgânico (μmol) liberado por minuto, por g de enzima, sob as condições de ensaio.

Resultados e discussões

Ao caracterizar a enzima imobilizada em termos de granulometria, observou-se que a mesma apresentou uma retenção de aproximadamente 85% de sua massa na peneira de 32 *meshs*, indicando que o diâmetro médio dos grânulos da enzima se encontra predominantemente entre 0,50 e 0,85 mm. Este elevado percentual de retenção observado para uma única peneira está coerente com a imagem ampliada da enzima imobilizada (Figura 2), a qual apresenta uma distribuição de partículas, em relação aos seus diâmetros uniformes.

Os outros 15%, em termos de massa, ficaram retidos em peneiras com aberturas menores, 0,425 e 0,355 mm e foi vinculada a fração fragmentada resultante da ruptura estrutural dos imobilizados, provavelmente ocorrido nas etapas de armazenamento e/ou manuseio dos mesmos.

Com bases nestes resultados e, considerando que a fração de menor granulometria também contém enzimas ativas em sua composição, a faixa das peneiras selecionadas para compor a amostra composta das rações após a etapa de peneiramento, foi entre 16 e 42 *mesh*, as quais correspondem a uma distribuição de tamanho de partículas entre 0,355 e 2 mm, ou seja, com maior probabilidade de conter enzimas imobilizadas agregadas a suas estruturas. A atividade da enzima imobilizada (antes de adicionada na ração) o valor obtido foi de 1860 ($\mu\text{mol/L}$).

A fração (farelada e peletizada fragmentada) retida na abertura de 2 mm foi desconsiderada uma vez que correspondiam basicamente a fragmentos de grãos de milho e/ou soja, aparentemente/visualmente sem a presença de imobilizados, seja na forma granular ou fragmentada.

A Tabela 2 correspondente aos resultados da atividade enzimática de fitase dos extratos aquosos obtidos empregando diferentes relações massa de ração:volume de água (6,67; 66,67; 166,67; 333,33 e 500 g:L). Os ensaios referem-se às amostras

compostas com as frações de peneiramento entre 0,355 e 1 mm, das rações para frangos de corte nas formas farelada e peletizada, esta última submetida previamente a maceração antes do peneiramento.

Tabela 2 - Atividade enzimática de fitase presente nas formulações de ração para frangos de corte, farelada e peletizada

Relação ração: água (g:L)	Atividade Enzimática ($\mu\text{mol/L}$)		Perda da atividade (%)
	Ração Farelada*	Ração Peletizada*	
6,67	6.183 ^a \pm 211	4.138 ^a \pm 219	33,07
66,67	7.299 ^b \pm 188	5.051 ^b \pm 204	30,80
166,67	8.832 ^c \pm 274	6.476 ^c \pm 311	26,68
333,33	9.182 ^c \pm 229	6.820 ^c \pm 358	25,72
500,00	10.122 ^d \pm 376	7.513 ^c \pm 236	25,78

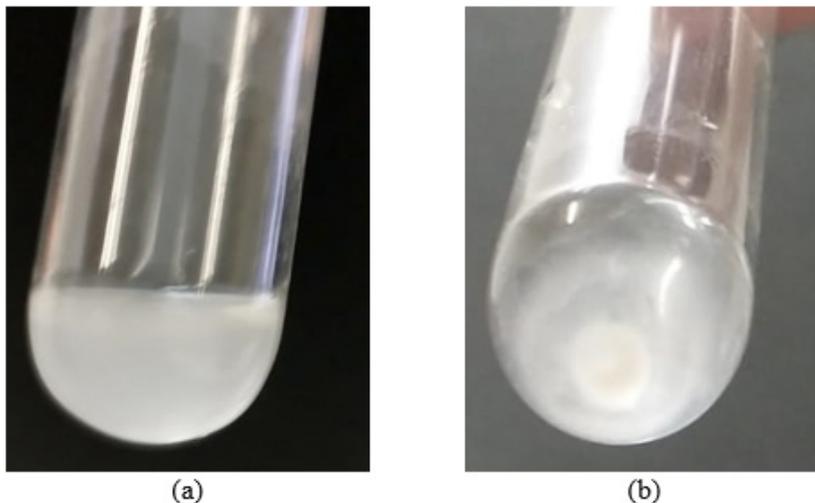
*Média \pm desvio padrão. Fonte: Autor (2021).

Ao analisar a Tabela 1, observa-se um acréscimo da atividade com o aumento da relação massa de ração:volume de água. No entanto, este aumento não varia proporcionalmente com esta relação, pois se obteve atividade de 6.183 $\mu\text{mol/L}$, com 6,67 g:L de amostra e 10.122 $\mu\text{mol/L}$ com 500 g:L, ou seja, de aproximadamente 50% na atividade enzimática para um aumento de 7,4 % na massa de ração. A inexistência de proporcionalidade entre os aumentos de atividade e massa foi vinculada a fatores que podem estar interferindo negativamente no processo de lixiviação da enzima para a solução, a qual é empregada para as análises de atividade, como: i) forma física da enzima agregada, a qual se encontra imobilizada na forma de grânulos, ii) baixa solubilidade do imobilizado em água, a insolubilidade da ração em meio aquoso, baixa concentração da enzima na ração (0,005% (m/m), elevadas relações massa:água, dificultando ainda mais a solubilidade.

Testes preliminares indicam uma solubilidade parcial do imobilizado (enzima-suporte) em água (Figura 8), limitando assim

a transferência da enzima para a solução, a qual é aplicada para os ensaios de atividade.

Figura 8 - Aspecto visual da suspensão aquosa enzima imobilizada. Condição: (a) imediatamente após agitação e (b) após etapa de decantação



Fonte: Autor (2021).

Observa-se que a agitação do sistema imobilizado-água conduz a turvação do meio (Figura 8a), característica da presença de sólidos em suspensão, os quais são nitidamente visíveis na parte inferior do sistema reacional (tubo de ensaio) após um tempo de decantação (Figura 8b). Ambas as características observadas sugerem que o imobilizado, provavelmente devido ao tipo de suporte empregado, seja parcialmente solúvel em água, limitando a quantidade de enzima transferida para a fase aquosa, da qual se retirou as alíquotas empregadas nos ensaios de atividade. A razão também se caracteriza pela baixa solubilidade em água, como demonstrada visualmente na Figura 9.

Figura 9 - Aspecto visual do sistema de extração ração:água (500g:L) após decantação



Fonte: Autor (2021).

Em relação à concentração da enzima imobilizada na ração, por ser baixa pode dificultar uma boa dispersão contribuindo para a coleta de amostras não representativas, tendência esta minimizada pelo emprego de elevadas massas de rações, que por outro lado, mesmo sendo pouco solúvel, a massa solúvel, principalmente a fração inorgânica, tende a aumentar com a ração, saturando o meio e com isso, atuando negativamente na solubilização do imobilizado e, consequentemente nos resultados de atividade.

Em relação à aplicação da enzima imobilizada em detrimento da livre, por recomendação do fabricante, a fitase a ser incorporada em uma ração destinada a peletização, ou seja, que passara por um processo térmico com temperaturas relativamente altas (entre 80 e 100 °C), necessita ser empregada na forma imobilizada, para garantir que a mesma mantenha atividade (total ou parcial) após o processamento da ração.

Coutinho *et al.* (2019), observaram que os resultados de termoestabilidade, tanto para a fitase livre quanto para a imobilizada, mantinham-se estáveis entre 60°C e 70°C. No entanto, a enzima livre apresentou redução de sua atividade relativa a 70°C e perdeu

completamente a atividade após 20 minutos em temperaturas de 80°C a 90°C. Diferentemente, a enzima imobilizada se manteve com 60% de sua atividade após três horas a 80°C, e em 40% após 20 minutos a 90°C.

Segundo Ullah *et al.* (2005), a reação de coordenação entre os grupos carboxílicos da enzima com íons metálicos, como os de Ca^{2+} , da superfície do suporte de imobilização resultaram em uma região de maior rigidez da estrutura tridimensional da fitase. Também pode ter ocorrido uma preservação nas pontes dissulfeto que desempenham papéis cruciais no dobramento da fitase de *A. niger*, ambos os casos impactando em um aumento considerável na estabilidade operacional em temperaturas elevadas.

Outra tendência observada para todas as condições avaliadas foi à perda de atividade quando comparadas as amostras fareladas com as peletizadas. Cabe destacar que esta perda percentualmente foi similar entre as diferentes relações ração:água, com um valor de aproximadamente 30%. A perda de atividade era esperada e foi vinculada, principalmente a inativação térmica da enzima proporcionada pelas temperaturas de processamento durante a peletização, entre 80 e 100 °C. Também podem estar contribuindo para esta diminuição da atividade e, não pode ser descartado, o efeito da agregação na etapa de peletização, o qual ocorre concomitantemente com a gelatinização do amido. Ambas as alterações estruturais contribuem com a agregação da enzima imobilizada (imobilizado) com os componentes da ração, o que é desejável. No entanto esta agregação, provavelmente conduza há uma oclusão do imobilizado, por recobrimento, bem como obstrução de seus poros, características que irão desfavorecer a lixiviação da enzima para a solução. Ambas as tendências são desejáveis para a ração, porém indesejáveis no que se refere ao processo de análise de atividade proposto, a qual faz uso da fração solúvel.

De acordo com Vats & Banerjee (2004), as fitases geralmente apresentam elevadas atividades em temperaturas de 50 a 70°C, sendo entre 45 e 60°C uma boa condição para enzimas não

termoestáveis. Normalmente, as fitases apresentam baixa atividade em temperatura ambiente porque adotam uma conformação tridimensional rígida e, portanto, pouco flexível (LEI & PORRES, 2003).

Corroborando com esta tendência os resultados descritos por Pizzolante *et al.* (2002b), ao avaliarem a atividade de fitase incorporada a rações fareladas e peletizadas. Os autores verificaram perdas máximas de atividade de 7,38% para a ração suplementada com fitase sem ter passado pelo processo térmico e, de 18,54% para a ração suplementada com fitase posteriormente peletizada.

Segundo Wyss *et al.* (1998), diferentes tempos de exposição ao calor irão impactar na desnaturação térmica branda das fitases, permitindo que sua conformação tridimensional retorne ao estado original. Estudos realizados com ração comercial para frangos de cortes com fitases procedentes dos fungos *A. fumigatus* e de *A. niger* T213 peletizadas a 75°C e 80°C, demonstraram que a recuperação da atividade enzimática foi mais elevada nas menores temperaturas e entre as fitases, para a de *A. fumigatus* (70% na ração peletizada a 75°C e 50% na peletizada a 80°C) em relação à de *A. niger* T213 (60% na ração peletizada a 75°C e 30% na peletizada a 80°C). A recuperação da atividade foi vinculada pelos autores a capacidade que a enzima apresenta de retornar para sua conformação tridimensional, posterior a desnaturação térmica ocasionada pelo processo térmico da etapa de peletização o qual seria menos agressivo na menor temperatura (75 °C).

É importante destacar que o processo térmico de peletização empregado para a gelatinização do amido e aglutinação das partículas presentes na ração, é necessário e indispensável, pois proporciona uma melhor homogeneização dos constituintes da amostra além de maior acessibilidade para a ação das enzimas.

Os resultados de atividade para fitase nas rações de frangos iniciais, farelada e peletizada, empregando as mesmas condições experimentais de extração avaliadas na ração de frango de corte são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Atividade enzimática de fitase em ração para frangos iniciais, farelada e peletizada

Concentração de ração (g/L)	Atividade Enzimática ($\mu\text{mol/L}$)		Perda de atividade (%)
	Ração Farelada*	Ração Peletizada*	
6,67	9.019 ^a \pm 393	5.144 ^b \pm 369	42,96
66,67	9.192 ^a \pm 419	5.603 ^b \pm 362	39,04
166,67	8.994 ^a \pm 107	5.675 ^b \pm 368	36,90
333,33	9.282 ^a \pm 137	5.463 ^b \pm 391	41,14
500,00	9.363 ^a \pm 208	5.607 ^b \pm 413	40,11

*Média \pm desvio padrão. Fonte: Autor (2021).

Os resultados de atividade obtidos para a ração para frangos iniciais se apresentaram similares entre si e em relação à ração para frangos de corte, com um pequeno aumento na perda de atividade. Considerando que as mesmas se diferenciam entre si pela formulação (não fornecida pelo fabricante), mas não em relação ao teor de enzima presente, sendo ambas produzidas com 0,005% (m/m) de enzima imobilizada, os resultados sugerem que a variação da formulação nas rações estudadas não afeta significativamente na atividade da fitase incorporada, nem na perda de atividade, a qual variou entre 25 e 33% em ração para frangos de corte, enquanto que para a ração de frangos iniciais variou entre 36 e 43%.

Entretanto ainda que a mistura seja homogênea, as partículas granulométricas das matérias-primas são diferentes, o que também pode impactar no processo da análise. A fim de identificar essas possíveis variações foram realizadas testes, com o objetivo de obter uma melhor uniformidade na amostra. Para isso, a amostra de ração peletizada foi triturada e peneirada, e a ração farelada apenas peneirada. Com o intuito de obter uma melhor homogeneidade e uniformidade das amostras, as frações coletadas foram submetidas a um processo de moagem mecânica em moinho de martelos, com peneiramento (1 mm). Estas amostras foram identificadas como moagem parcial, pois, empregaram somente as amostras retidas em

determinadas aberturas de peneiras. Para comparação foi conduzido um ensaio submetendo as amostras originais (farelada e peletizada), ou seja, sem peneiramento prévio, as quais foram nominadas total.

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4, e são referentes às análises em triplicata das amostras submetidas ao processo de moagem. Para a preparação dos extratos empregou-se uma relação ração:água de 166,67g:L.

Tabela 4 - Atividade enzimática de fitase presente nas formulações de ração para frangos de corte, farelada e peletizada (parcial e total) após o processo de moagem

Moagem	Atividade Enzimática ($\mu\text{mol/L}$)		Perda de Atividade (%)
	Ração Farelada*	Ração Peletizada*	
Amostra Parcial	5.751 \pm 62	4.323 \pm 102	24,83
Amostra Total	4.518 \pm 143	3.644 \pm 263	19,34

*Média \pm desvio padrão. Fonte: Autor (2021).

Como esperado, quando do emprego de toda a ração, incluindo a fração que ficaria retida na abertura de 2 mm, apresentou menor atividade (4.518 $\mu\text{mol/L}$) em relação a amostra parcial (5.751 $\mu\text{mol/L}$), corroborando com a observação visual inicial que sugeria a não incorporação de enzima imobilizada na composição dos grânulos/partículas maiores, vinculados a milho e/ou soja. Neste contexto, a incorporação deste material (sem enzima) proporciona na amostra total uma diluição da enzima presente, em relação à amostra parcial, a qual emprega as frações com maior probabilidade de ter enzima em sua composição, e consequentemente uma menor atividade.

Considerações finais

A partir dos resultados obtidos, fica evidente que há um impacto significativo em relação a perda de atividade devido a

temperatura aplicada na etapa de peletização, o qual conduz a inativação térmica da enzima fitase.

No entanto, na perda de atividade observada, considerando a metodologia empregada a qual faz uso da solução extratora para medida de atividade, devem-se considerar possíveis interferências da matriz (ração) em relação à lixiviação da enzima para a solução.

Referências

ALAGAWANY, M.; ELNESR, S. S.; FARAG, M. R. The role of exogenous enzymes in promoting growth and improving nutrient digestibility in poultry. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 19, n. 3, p. 157-164, 2018.

AUGSPURGER, N. I.; WEBEL, D. M.; LEI, X. G.; BAKER, D. H. Efficacy of an *E. coli* phytase Expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 474-483, 2003. DOI: 10.2527/2003.812474.

BARBOSA, J. R. **Relatório de estágio na fábrica de rações Comigo**. 2015. P. 1-21, Relatório de Estágio Curricular Obrigatório (Graduação em Zootecnia), Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2015.

CHERYAN, M. Phytic acid interaction in food systems. CRC Cr. **Journal Food Science**, v. 13, p. 297-335, 1980. DOI: 10.1080/10408398009527293.

COELHO, R. P.; TOLEDO, J. C. Programas para segurança na indústria de alimentos corn-soybean mealbased diets on growth performance and ileal nutrients digestibility of male broilers. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 1533-1541, 2020. DOI: 10.1080/1828051X.2020.1857311.

COUTINHO, T. C.; TARDIOLI, P. W.; FARINAS, C. S. Melhoria nas propriedades da fitase após sua imobilização em hidroxapatita para aplicação em ração animal. **Simpósio**

Nacional de Instrumentação Agropecuária, São Paulo, 2019.

DARI, R. L.; SHIROMA, N. Por que utilizar fitase na nutrição animal? Fitase-SMIZYME, **Informativo Técnico nº 138**, 2012. Disponível em: <http://www.sossuinos.com.br/Tecnicos/info138.htm>. Acesso em: 27 mar, 2021.

DELMASCHIO, I. B. Enzimas na alimentação de animais monogástricos. **Revista Científica de Medicina Veterinária - UNORP**, v. 2, n. 1, p. 6-20, 2018.

DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. A.; SAKOMURA, N. K. Enzimas na Nutrição de Monogástricos. In: **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p. 466-484, 2014.

DOZIER, W. A. Pelet de calidad para obtener carne de frangos más economica. **Alimentacion Balance Animal**, v. 8, p. 16-19, 2001.

EL-HACK, M. E. A.; ALAGAWANY, M.; ARIF, M.; EMAM, M.; SAEED, M.; ARAIN, M. A.; SIYAL, F. A.; PATRA, A.; ELNESR, S. S.; KHAN, R. U. The uses of microbial phytase as a feed additive in poultry nutrition – a review. **Annals of Animal Science**, v. 18, n. 3, p. 639–658, 2018. DOI: 10.1080/01652176.2020.1857887.

FERREIRA, A. H. C.; LOPES, J. B. Uso da fitase na alimentação de frangos de corte – revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 4, p. 1854-1860, 2012. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/site/artigo-311-importancia-da-enzima-fitase-na-nutricao-animal/>. Acesso em: 15 abr. 2021.

FUKAYAMA, E. H.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B. K; MARCATO, S. M.; Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 629-635, 2008. DOI: 10.1590/S1516-35982008000400007.

GARCIA, D. A.; GOMES, D. E. A avicultura brasileira e os avanços nutricionais. **Revista Científica Unilago**, v. 1, n. 1, p. 1-16, 2019. Disponível em: <http://revistas.unilago.edu.br/index.php/revista-cientifica/article/view/167>. Acesso em 12 jun. 2021.

HARATI, J.; SIADAT, S. O. R.; TAGHAVIAN, H.; KABOLI, S.; KHORSHIDI, S. Improvement in biochemical characteristics of glycosylated phytase through immobilization on nanofibers. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 12, p. 96-103, 2017. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.08.009.

HEINONEN, J. K.; LAHTI, R. J. A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. **Analytical Biochemistry**, v. 49, n. 1, p. 37-47, 1972. DOI: 10.1016/0003-2697(72)90240-0.

IQBAL, T. H.; LEWIS, K. O.; COOPER, B. T. Phytase activity in the human and rat small intestine. **Journal Gut.**, v. 35, p. 1233-1236, 1994. DOI: 10.1136/gut.35.9.1233.

JATUWONG, K.; SUWANNARACH, N.; KUMLA, J.; PENKHRUE, W.; KAKUMYAN, P.; LUMYONG, S. Bioprocess for Production, Characteristics, and Biotechnological Applications of Fungal Phytases. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 188, p. 1-18, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00188.

LEI, X. G.; PORRES, J. M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, Amsterdam, v. 25, n. 21, p. 1787-1794, 2003. DOI: 10.1023/A:1026224101580.

LELIS, G. R.; ALBINO, L. F. T.; DA SILVA, C. R.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BORSATTO, C. G.; Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1768-1773, 2010.

LOLAS, G. M.; MARKAKIS, P. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science**, v. 42, n. 4, p. 1094-1097, 1977. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1977.tb12674.x.

ORDONEZ, M. J.; BRAVO, M. X. R.; SALDANA, D. F. R. Rol de las enzimas en la alimentación de mono-gástricos, con énfasis en pollos de engorde (Artículo de revisión). **Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal**, v. 2, n. 3, p. 25-42, 2018. Disponível em: <http://www.revistaecuatorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/89>. Acesso em: 18 jun. 2021.

PIRGOZLIEV, V.; ROSE, S. P.; IVANOVA, S. Feed additives in poultry nutrition. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 25, p. 8-11, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/338921086_Feed_additives_in_poultry_nutrition. Acesso em: 19 jun. 2021.

PIZZOLANTE, C. C.; SANTOS, C. D. dos; TEIXEIRA, A. S.; GARCIA, E. A.; BERTECHINI, A. G.; FREITAS, R. T. F. Estabilidade da fitase em diferentes formas de armazenamento. **Revista de Veterinária e Zootecnia**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 59-68, 2002b.

POINTILLART, A. Phytates, phytases: leur importance dans l'alimentation des monogastriques. **INRA Productions Animales**, v. 7, p. 29-39, 1994. DOI: 10.20870/productions-animales.1994.7.1.4155.

RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G; SIVALOGAN, S; Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, Exeter, v. 50, p. 133-136, 1994. DOI: 10.1016/0308-8146(94)90109-0.

SCHMIDT, N. S.; SILVA, C. L. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 3, p. 467-482, 2018. DOI: 10.1590/1234-56781806-94790560307.

SING, B.; BOUKHRIS, I.; PRAGYA, KUMAR, V.; YADAV, A. N.; FARHATKEMAKHEM, A.; KUMAR, A.; SINGH, D.; BLIBECH, M.; CHOUAYEKH, H.; ALGHAMDI, O. A. Contribution of microbial phytases to the improvement of plant growth and nutrition: a review. **Pedosphere**, v. 30, n. 3, p. 295-313, 2020.

TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; DE LIMA, C. A. R.; VIEITES, F. V; Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 809-816, 2001. DOI: 10.1590/S1516-35982001000300028.

ULLAH, A. H. J.; SETHUMADHAVAN, K.; MULLANEY, E. J. Monitoring of unfolding and refolding in fungal phytase (phyA) by dynamic light scattering. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 327, n. 4, p. 993-998, 2005. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.12.111.

VATS, P.; BANERJEE, U. C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositol hexakixphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 35, n. 1, p.3-14, 2004.

WALZ, O. P.; PALLAUF, J. Microbial phytase combined with amino acid supplementation reduces P and N excretion of growing and finishing pigs without loss of performance. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 7, p. 835-848, 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2621.2002.00642.x.

WYSS, M; PASAMONTES, L.; RÉMY, R.; KOHLER, J.; KUSZNIR, E.; GADIENT, M.; MULLER, F.; LOON, A. P. G. M. van. Comparison of the thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A. niger* phytase, and *A. niger* pH 2,5 acid phosphatase. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 11, p. 4446-4451, 1998. DOI: 10.1128/AEM.64.11.4446-4451.1998.



CASCA DE ARROZ COMO MATÉRIA PRIMA PARA OBTENÇÃO DE CELULOSE

Silvana Ines Bepler¹, Rogério Marcos Dallago²

¹Acadêmica do Curso de Engenharia Química (URI) – silbepler@hotmail.com

²Prof. Dr. do Curso de Engenharia Química (URI) – dallago@uricer.edu.br

Resumo: Dada sua importância alimentar, o arroz é amplamente cultivado, este fator implica no montante de casca gerado durante o processo de beneficiamento; a casca do arroz gera grandes quantidades de resíduo e necessita de descarte apropriado, logo, uma das alternativas apontadas para solucionar o problema é usar a casca do arroz como matéria prima para extração de sílica e celulose, sendo este, o principal objetivo deste trabalho. Amostras de casca de arroz foram submetidas a um processo de extração que se deu em várias etapas com diferentes reagentes, cada qual adequado ao componente a ser separado da amostra em estudo. Além da extração da celulose foi possível recuperar a sílica um dos principais componentes da estrutura da casca do arroz, para isso, acidificou-se até PH 3 os extratos gerados na etapa de extração alcalina da celulose em condições distintas de NaOH (0,1M; 0,5M; 1M), após etapa de calcinação a fim de promover a purificação da mesma, obteve-se um rendimento de 2,4, 15,9 e 20,4%/10g de massa empregada no ensaio de referência, respectivamente. Para a celulose extraída obteve-se um rendimento de 81,3, 59,7, 52,1%/10g de massa empregada no ensaio de referência, na mesma ordem; aplicou-se duas etapas de branqueamento e efetuou-se a caracterização das mesmas em diversas análises como, umidade, atividade de água, cinética de secagem, cinzas, colorimetria e microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde buscou-se determinar, características físicas e morfológicas do produto final obtido. Com base nos dados fornecidos pela etapa de caracterização, quando comparados a uma amostra padrão de celulose comercial pode-se concluir que a casca de arroz pode ser uma fonte alternativa para extração de celulose.

Palavras-chave: Casca de arroz. Sílica. Celulose. Branqueamento. Caracterização da amostra.

Introdução

O grão de arroz é envolto por uma casca, geralmente de coloração amarelada, contendo em seu interior uma semente dura. Sua estrutura é composta pelo tegumento, o qual reveste a semente e se encontra diretamente ligado ao pericarpo, membrana que envolve o fruto. O pericarpo é envolvido pelas glumelas (lema e pálea), cada uma das brácteas que protegem a flor das espiguilhas e que constituem a casca removida durante o beneficiamento (VIEIRA, SANTOS e SANTANA, 1999).

Considerado um dos alimentos mais consumidos no mundo, dada a versatilidade desta cultura a produção mundial de arroz base beneficiado será de aproximadamente 500 milhões de toneladas para a safra 2020/2021 segundo a United States Department of Agriculture USDA (2020); para esta mesma safra a Companhia Nacional de Abastecimento CONAB (2020) estima que o Brasil irá contribuir com aproximadamente 11,98 milhões de toneladas.

Associado ao seu elevado volume de produção, o arroz gera um grande volume de resíduo produzido pela casca, esse volume representa cerca de 20% do peso do grão, o que corresponde a uma geração mundial de aproximadamente 100 milhões de toneladas deste resíduo. Atualmente, 70% desse volume não é utilizado comercialmente gerando um passivo ambiental. (CHANDRASEKHAR, 2003; FERREIRA, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Seu descarte geralmente é realizado por compostagem, descarte no solo ou queima a céu aberto, gerando elevados níveis de CO₂. Ainda, dado seu potencial energético, pode ser utilizada na geração de vapor para a secagem e processo de parboilização do arroz, também pode ser direcionada para pirólise nas usinas termoelétricas a fim de ser transformada em vapor, eletricidade e força motriz (MAYER, HOFFMANN, RUPPHENTAL, 2006).

A casca de arroz apresenta em sua composição aproximadamente 25 a 35% de celulose, cerca de 18 a 21% de

hemicelulose, 26 a 31% de lignina e 15 a 17% de sílica e 2 a 5% de materiais solúveis em água (MARIN, 2015). Após queima, sua cinza apresenta uma composição entre 80 a 90% de sílica (SiO_2), 5% de K_2O , 4% de P_2O_5 , 1 a 2% de CaO e pequenas quantidades de Mg , Fe e Na , além de não possuir nenhum teor nutricional (ARMESTO *et al.*, 2002).

Sua composição característica associada a seu baixo valor comercial e disponibilidade, impulsionaram as investigações científicas sobre possíveis empregos da casca de arroz, sendo a maioria delas focada na sílica presente nas cinzas geradas de sua queima, a qual pode ser incorporada na elaboração de diversos materiais e em diferentes ramos industriais, como na construção civil, fabricação de vidros, cerâmicas e ainda, se for de alta pureza poderá ser aplicada em componentes eletrônicos (FOLETTTO, 2005).

O elevado teor de celulose também tem despertado interesse na comunidade científica como possível fonte alternativa deste insumo, o qual, após extração, poderia ser empregada na produção de papel, embalagens e fibras diversas (FOLETTTO, 2005).

Segundo Fujisawa *et al.*, (2010) e García *et al.*, (2016), as características e aplicações da celulose extraída variam de acordo com a matéria prima utilizada e o método de extração escolhido. De acordo com Castro (2009) uma molécula de celulose pode apresentar áreas com configuração ordenada, rígida e inflexível em sua estrutura, denominada celulose cristalina e outras áreas com características opostas identificadas como celulose amorfa; estas nanoestruturas denominam-se nanoceluloses, ou seja, possui pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, pode ser produzida através de diferentes fontes de biomassa, são biodegradáveis e capazes de atribuir propriedades ópticas e mecânicas como transparência, leveza, alta resistência e baixa toxicidade podendo ser aplicadas em uma ampla gama de materiais como nanocompósitos, fabricação de papel, aditivos para revestimentos, embalagens, fármacos, indústria automotiva entre outras aplicações (DAMASIO, 2015; CANDINHO, 2020).

Segundo Cruz (2017) e Candinho (2020), as nanoceluloses estão arranjadas em três grandes grupos: *i) Nanocristais de celulose*, obtidos via extração, utilizando um processo químico de hidrólise ácida seguido de agitação mecânica e suspensão de nanocristais em água; *ii) celulose microfibrilada* preparada a partir de um método de desintegração mecânica da polpa celulósica em água; e *iii) a celulose nanofibrilada* extraída utilizando a combinação da oxidação química com o reagente 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxy, seguida da desintegração mecânica em água, ou somente pelo método de desintegração mecânica.

Castro (2009) discorre que, materiais lignocelulósicos carecem de diferentes etapas de separação promovendo o rompimento estrutural da molécula, removendo, solubilizando ou despolimerizando a lignina. Neste contexto, os processos mecânicos demandam alto consumo energético e favorecem a obtenção de materiais com baixo índice de cristalinidade; o processo químico, industrialmente o mais utilizado, é efetivo e com bons rendimentos, porém gera grandes quantidades de efluentes; os processos físicos apresentam-se em três possíveis métodos: irradiação dos raios gama, tratamento a vapor, ou explosão com vapor, exceto este último que promove a separação dos componentes poliméricos, os outros são ineficazes. Um método promissor, porém, ainda em fase de desenvolvimento, é o processo biotecnológico, que se baseia na utilização de microrganismos para promover a uma deslignificação parcial dos materiais lignocelulósicos. Neste contexto, destaca-se a hidrólise enzimática da biomassa com xilanase e uma mistura de carboidrases, seguida de extração alcalina com NaOH, processo que tem conduzido a um produto final de alta qualidade com uma ampla gama de potencial (BELTRAMINO, 2015).

No que se refere a celulose, ela pode ser obtida mediante diferentes processos de extração. Os estudos nessa área sempre objetivam adaptar um método que gere a menor quantidade de efluente possível associado a um ótimo rendimento, o processo *kraft*, apesar de causar poluição odorífica impossibilitando sua utilização em algumas indústrias devido a formação de compostos

de enxofre, ainda é o mais utilizado atualmente. Seu emprego está associado á sua facilidade de adaptação a todos os tipos de madeira empregadas na produção de polpas, a elevada qualidade da polpa a qual apresenta excelentes propriedades de resistências, além de um eficiente sistema de recuperação de reagentes químicos e energia (CASTRO, 2009).

Segundo Gomide *et al.*, (1987) esse processo foi adaptado a partir do processo *Soda*, mediante introdução de sulfeto de sódio no licor de cozimento, o qual possibilitou diminuir a carga alcalina e melhorar as características da celulose, O processo *Soda* é utilizado como uma alternativa para produção de polpa sem enxofre, porém esse processo utiliza uma elevada temperatura, a qual pode prejudicar a viscosidade da polpa, e com isso a qualidade e resistência do papel.

Motivado pela oportunidade de usar resíduo para a obtenção de um produto com demanda comercial e valor agregado ao passo que oferece uma solução menos agressiva para solucionar problemas ambientais, obter celulose a partir da casca de arroz foi o objetivo principal deste trabalho. O método aplicado neste estudo é proveniente de adaptações metodológicas de artigos com embasamento científico e, principalmente, de experimentos testados em laboratório.

Metodologia

Nesta etapa serão descritos procedimentos experimentais, materiais, bem como a metodologia analítica empregada para o desenvolvimento desta pesquisa que foi desenvolvida na área experimental do Campus I da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Erechim – RS. Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

Coleta de amostras

A amostra de casca de arroz da espécie *Oryza Sativa L.* utilizada na pesquisa foi proveniente da cidade de Santa Maria e Itaquí – RS, ambas cidades abrigam grandes cultivares da espécie.

Preparação das amostras

Amostras de aproximadamente 50g foram separadas e lavadas em água corrente para remoção de sujidades provenientes do manejo agrícola, em seguida, direcionadas para estufa de secagem com recirculação de ar (FAMEN, Modelo 320-SE) onde permaneceram até peso constante a 90°C, na sequência efetuou-se a desintegração mecânica em moinho de facas (modelo MA 340 da Marconi) efetuou-se nova pesagem de 45g e seguiu-se para etapa de extração. Todas as etapas deste processo foram elaboradas em triplicata.

Remoção de lignina e quebra da hemicelulose

Os ensaios de remoção de lignina e hemicelulose foram conduzidos segundo metodologia Simundi (2017) com modificações. Para tanto, 50g de amostra foram submetidas a uma etapa de ataque ácido com 315mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 10% (m/v) a temperatura de 85°C por 2h em sistema de agitação constante. Esta etapa teve como finalidade hidrolisar a hemicelulose e solubilizar parte da lignina presente nas fibras, além de remover algumas impurezas. Ao término da reação a amostra é filtrada, lavada e direcionada à estufa de secagem com recirculação de ar (FAMEN, Modelo 320-SE) a 90°C por 2h.

Obtenção da celulose

Para a obtenção da celulose a amostra oriunda da etapa de hidrólise com H_2SO_4 é submetida a um processo alcalino, com

NaOH para a extração da sílica e de possível lignina remanescente da etapa anterior. Considerando que a concentração de NaOH pode ser uma variável que influencia este processo, foram conduzidos 3 ensaios distintos com 10g de amostra, e 63ml de soluções de NaOH 0,1, 0,5 e 1,0 mol/L.

As reações foram conduzidas a 85°C, com agitação magnética em chapa de aquecimento por 1h. Posteriormente, as amostras foram separadas do meio aquoso por filtração e direcionadas a estufa de secagem com recirculação de ar (FAMEN, Modelo 320-SE) a 90°C por 2h.

Os extratos aquosos resultantes desta etapa foram empregados para a recuperação da Sílica extraída, que encontrava-se presente na estrutura da celulose juntamente com impurezas.

Após confirmação da solução de NaOH a ser empregada (0,5M) foi conduzido um ensaio em escala maior, com 50g de amostra para gerar celulose suficiente para conduzir os ensaios de avaliação da etapa de branqueamento.

Etapa de branqueamento da celulose

A etapa de branqueamento tem como objetivo a remoção de possível lignina residual e seus derivados, almejando obter uma polpa com maior grau de alvura e qualidade.

Dependendo da fonte de celulose o processo de branqueamento da polpa é conduzido em sucessivos estágios, com combinações de diferentes reagentes, alternando estágios de oxidação e lavagens com água ou soluções alcalinas, com o intuito de degradar ou remover moléculas contendo grupos cromóforos, responsáveis pela absorção de luz, ou seja, pela presença de coloração.

Neste estudo, na etapa de branqueamento foram avaliadas 4 condições distintas, as quais se diferenciam pelos reagentes empregados. Todos os ensaios foram conduzidos empregando

aproximadamente 5g de amostra. As condições empregadas em cada condição são destacadas a seguir:

1. 5g de celulose imersa em 150mL de água acidificada com ácido acético até pH 3 e 2% em peso de metabissulfito.
2. 5,0g de celulose em 150mL de uma solução (1:1, v/v) de hipoclorito 12% e NaOH 5%.
3. 5,0g de celulose imersa em 150mL de uma solução contendo 20mL Peróxido de Hidrogênio 30%, 65mL ácido acético e 5mL de ácido sulfúrico 10%. Adaptado de SIMUNDI (2017)
4. 5,0 g de amostra em 150mL Peróxido a 30% exposto a radiação UV a 50°C por 4h.

Todas as amostras foram testadas em triplicata.

Após a devida preparação, as amostras foram direcionadas para uma chapa de aquecimento onde permaneceram sob agitação constante e temperatura de 55°C por diferentes tempos reacionais, os quais variaram em função da condição empregada e são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Características da etapa de branqueamento

Amostra	Massa (g)	Temperatura (°C)	Tempo de reação 1 ^a etapa (h)	Tempo de reação 2 ^a etapa(h)
1	5,0	55	3	-
2	5,0	55	2	1 hora
3	5,0	55	2	30 min
4	5,0	50	4	30 min

A evolução do branqueamento da fibra foi acompanhada temporalmente efetuando-se coletas das amostras em diferentes tempos e analisando o aspecto visual das mesmas. Concluída a primeira etapa; as amostras foram filtradas e lavadas com água e submetidas a uma segunda etapa destinada a remoção da coloração

amarelada. Esta segunda etapa foi conduzida com 150mL de uma solução de hipoclorito 12% (m/v) a 80°C e com agitação constante para todas as amostras. Foram avaliados diferentes tempos reacionais (Tabela 1). A diferenciação entre os tempos deve-se aos ensaios terem sido conduzidos sequencialmente, possibilitando alterações nos ensaios subseqüentes visando otimização do processo de branqueamento.

Recuperação da sílica

Para a obtenção de uma celulose com boa pureza é necessário uma etapa de extração da sílica, a qual se dá em meio alcalino e conduz a geração de um extrato alcalino com elevado teor de silício, considerado por muitos um efluente. Neste contexto, esta etapa tem como objetivo avaliar a recuperação deste silício, na forma de sílica amorfa, mediante acidificação do meio reacional a pH 3 com ácido acético glacial. Neste pH a sílica precipita e é facilmente recuperada por filtração seguido de secagem em estufa com recirculação de ar (FAMEN, Modelo 320-SE) a 90°C e posterior calcinação em Mufla (FORNOS LAVOISIER, MOD -4000) a 500°C, possibilitando a desintegração de toda matéria orgânica presente na amostra e sua purificação. A massa de sílica recuperada foi empregada como uma das respostas a ser acompanhada para verificar o efeito da concentração da solução de NaOH avaliada em sua extração.

Caracterização da amostra

Finalizadas as etapas de Otimização, extração, lavagens e branqueamento, fora realizado a caracterização da amostra obtida. Com a finalidade de avaliar a influência das variáveis (ação do reagente, tempo de reação e temperatura) na morfologia, estrutura molecular, comportamento, estabilidade no decorrer do processo. A seguir serão apresentados os métodos utilizados para efetuar esta análise.

Atividade de água

A determinação deste parâmetro deu-se com o auxílio do equipamento Novasina AG (CH-8853, Lachen Swetzerland) em que sensores associados a circuitos emitem um sinal elétrico e este por sua vez está relacionado à umidade relativa, ou seja, através de um sistema de controle de temperatura integrado este fornece leituras sobre a atividade de água de determinada amostra.

Umidade

Para esta abordagem utilizou-se o método de dessecação em estufa com recirculação de ar (FAMEN, Modelo 320-SE) a 90°C por 4h. Amostras de aproximadamente 3 a 4g da casca de arroz e da farinha oriunda da moagem da casca, foram separadas e dispostas em cadinhos previamente secos e pesados. Após a etapa de dessecação, novamente as amostras foram pesadas e a partir da massa seca, obtida pela subtração do peso do cadinho, foi efetuado o cálculo da umidade em (%) de forma comparativa com a massa úmida. A análise deu-se de acordo com a metodologia 012/IV descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005).

Curva de secagem

O acompanhamento da secagem dá-se através da cinética de secagem, onde efetua-se a coleta de pequenas amostras do material de tempos em tempos, aferindo sempre sua massa até peso constante. Realizou-se o acompanhamento da variação de massa através de pesagens a cada 5 minutos por 2 horas até peso constante à temperatura de 90°C.

Cinzas

A determinação de cinzas de uma amostra dá-se pela incineração do resíduo onde toda a matéria orgânica presente

na amostra é transformada em CO_2 e H_2O , restando apenas os compostos minerais utilizados para quantificação.

Para esta etapa de caracterização foram separadas amostras obtidas com diferentes concentrações de NaOH (0,1M; 0,5M e 1M) durante o processo de extração da celulose juntamente com uma amostra da casca de arroz triturada (farinha) sem nenhum tratamento prévio com reagente. A análise fora conduzida em triplicata.

Após serem pesadas (3 a 5g) as amostras foram dispostas em cadinhos de porcelana, que estavam acondicionado em dessecadores direcionados a mufla (FORNOS LAVOISIER, MOD -4000) a uma temperatura de 500°C por 5h, até queima total do material orgânico, finalizada a etapa de incineração, quando a mufla atingiu 105°C colocou-se os cadinhos no dessecador até atingir a temperatura ambiente onde efetuou-se novamente a leitura de peso para o cálculo de rendimento, conforme Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{(\text{Peso final da amostra} - \text{Peso do cadinho vazio}) \times 100}{\text{Peso inicial da amostra}} \quad (1)$$

Cor

O método empregado para determinação dos valores colorimétricos foi o CIELAB, amplamente utilizado na área de alimentos, onde no disco que contém as cores está localizado uma representação de eixos cartesianos a^* e b^* , o eixo das abscissas a^* apresenta valores que variam entre -60 representando a cor verde e +60 representando a cor vermelha, o eixo das ordenadas b^* , apresentam valores na faixa entre -60 para a cor azul e +60 para o amarelo, a origem do plano (0,0) por sua vez representa uma cor neutra (cinza), o L^* caracteriza a luminosidade e pode variar em uma faixa de (0 a 100) entre o preto e o branco (MOITA, 2004).

As análises colorimétricas foram realizadas com o auxílio de um colorímetro (Minolta, CR-400) previamente calibrado em

superfície branca. As amostras foram depositadas em placas de petri e efetuou-se a medição.

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras de celulose foram analisadas morfológicamente com o auxílio do microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, modelo EVO LS25, Alemanha) com tensão de 30 kV e ampliações de 300 vezes. Para tanto, o material é recoberto com 20nm de ouro por eletro-vaporização (QUORUM SC 7620, Reino Unido).

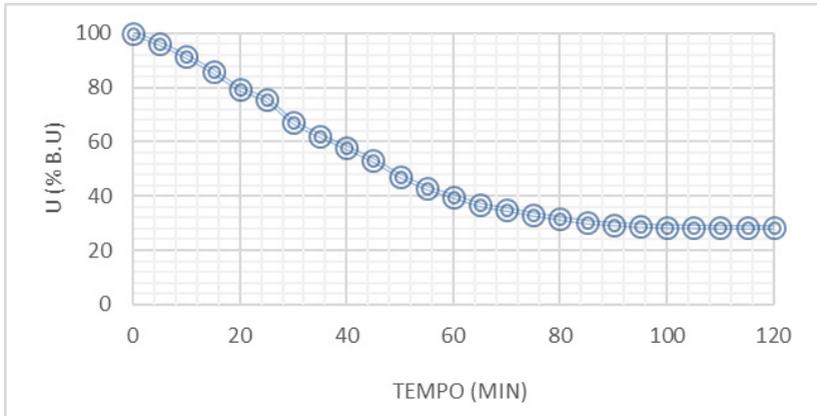
Resultados e discussões

Previamente aos ensaios de extração da celulose, a casca de arroz foi submetida a um pré-tratamento de lavagem com água para remoção de sujidades, seguido de secagem e redução do tamanho de partícula, o qual conduz a um aumento da área de contato, favorecendo assim o processo de extração. Buscando otimizar o tempo de secagem, como primeiro ensaio foi realizado um estudo da curva de secagem da casca em seu formato natural.

Curva de secagem

A curva de secagem é representada pelo percentual de Umidade (% b.u) em função do tempo, e nos fornece a velocidade com que uma amostra perde umidade e o tempo mínimo necessário para chegar a uma região de estabilidade, indicando que a amostra se encontra seca (CELESTINO, 2010; COUTO, 2015). A curva de secagem para a casca de arroz obtida as em estufa de recirculação de ar a 90 °C, é apresentada na Figura 1.

Figura 1- Curva de secagem da casca de arroz



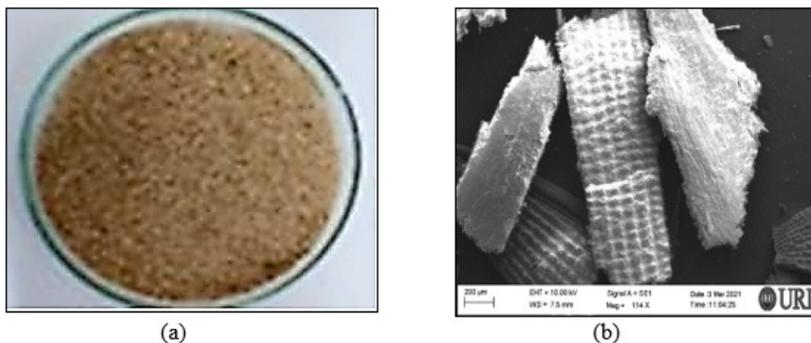
Fonte: Os autores (2021).

Pode se observar que a cinética de secagem indica uma redução linear de umidade com o tempo de exposição até os 80 minutos, na fase inicial da cinética a velocidade de secagem é constante, ou seja, a taxa de deslocamento interna de água no produto é equivalente a taxa de remoção na superfície (SILVA *et al.*, 2018). Atinge uma região de estabilidade entre 100 e 120 minutos de contato, o qual sugere que a amostra encontra-se seca, este resultado indica que não há mais água livre na amostra, iniciando assim um processo de difusão onde a perda de umidade passa a ser controlada de acordo com as características de cada material e não da ação da temperatura (SANTOS *et al.*, 2003).

Caracterização da Casca de Arroz triturada (farinha)

A casca de arroz empregada neste estudo, após triturada (Figura 2a), foi caracterizada por MEV (Figura 2b) e, em relação a sua atividade de água (A_w), umidade e teor de cinzas (Tabela 2).

Figura 2- a) Aspecto visual e (b) MEV da casca de arroz após trituração e seca



Fonte: Os autores (2021).

A amostra apresenta coloração marrom peculiar a casca de arroz. Em relação ao MEV observa-se uma estrutura rugosa e fibrilar intacta, sem danos físicos na mesma.

Tabela 2- Caracterização da casca de arroz integral e macerada na forma de farinha

Amostras	Atividade de Água (A_w)	Umidade (%)	Cinzas (%)
Farinha	$0,521 \pm 0,003$	$6,85 \pm 0,12$	$20,63 \pm 0,40$

Para a atividade de água (A_w) o valor de 0,521 é observado, quando comparado com a escala de classificação alimentar, se enquadra como um alimento com baixa atividade de água pois apresenta um valor de A_w inferior a 0,60 (ALVES, 2014). Esta característica é interessante, principalmente no que se refere ao armazenamento, pois uma baixa atividade de água, diminui a velocidade de crescimento microbiano e afeta de forma negativa a multiplicação de microrganismos PINTO *et al.*, (2018).

Em relação a umidade, o valor de 6,85% encontra-se dentro do estipulado pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1988), que preconiza para casca de arroz (integral ou moída) uma unidade de

até 10%. O valor observado é considerado baixo e desejável, uma vez que esta variável, quando presente em elevadas concentrações irá interferir negativamente no processo de armazenamento, favorecendo a proliferação de fungos e bolores, possível oxidação e rápida deterioração (CECHI, 2003).

O teor de cinza observado, de 20,6%, está coerente com a literatura (FERNANES, *et al.*, 2015); e foi vinculado, principalmente a sílica, cuja composição na casca de arroz pode oscilar entre 15 e 17% em massa (MARIN, 2015). A diferença observada esta vinculada a presença de outros compostos inorgânicos, como óxidos e sais. Após queima, sua cinza apresenta uma composição entre 80 a 90% de sílica (SiO_2), 5% de K_2O , 4% de P_2O_5 , 1 a 2% de CaO e pequenas quantidades de Mg, Fe e Na, além de não possuir nenhum teor nutricional (ARMESTO *et al.*, 2002).

Avaliação da Remoção de lignina e quebra da hemicelulose com H_2SO_4

Após a hidrólise ácida, a amostra foi lavada com água, seca em estufa de recirculação de ar a 90 °C por 2h e determinada a massa resultante, a qual é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3- Remoção de lignina e quebra da hemicelulose com H_2SO_4

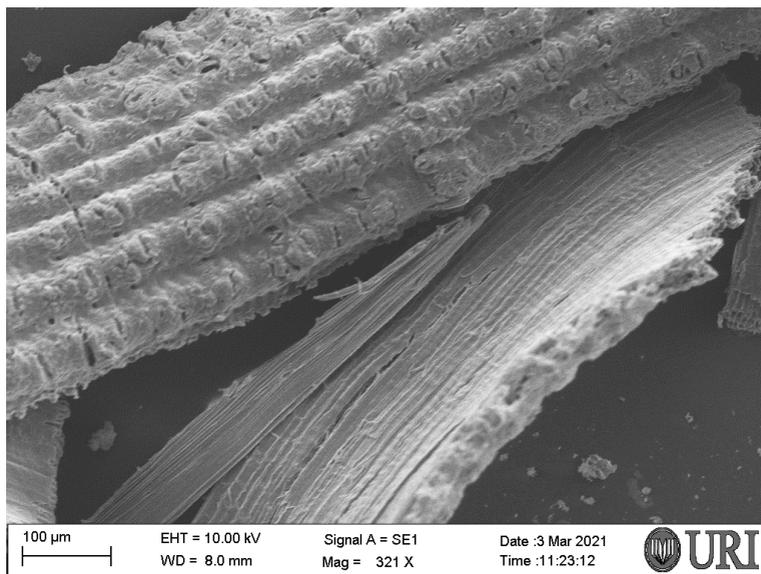
Massa de amostra (g)		Quantidade Extraída	
Inicial (g)	Final (g)	(g)	(%)
45	30,86 ± 0,24	14,21 ± 0,23	31,53 ± 0,51

O ataque ácido proporcionou uma redução em massa da casca de arroz, de 14,21g, que corresponde a 31,53 %. a qual foi vinculada a lignina, a redução está coerente com a composição média da casca de arroz, a qual apresenta valores aproximados de lignina entre 26 a 31% e de materiais solúveis em água entre 2 a 5% MARIN (2015).

Esta hipótese é corroborada pela MEV da amostra (Figura 3), que comparada a amostra natural (Figura 2b), apresenta quebras na parede estrutural da casca, estrutura irregular fibrosa e com ranhuras, sugerindo a remoção parcial da camada externa composta por materiais lignocelulósicos, pectinas, sílica e outras impurezas. Esta mesma característica foi observada por Oliveira *et al.*, (2017) ao comparar as celuloses antes e após etapa de branqueamento, a qual conduziu a uma alteração morfológica na estrutura fibrosa da casca. Johar e Ahamad (2012) ao investigar a ação dos tratamentos químicos usados para o branqueamento da celulose utilizando o MEV percebem uma superfície mais escarpada e irregular e atribuem essa característica a remoção de camadas superficiais que envolvem a fibra, além de ceras e impurezas.

O material seco resultante deste ensaio foi empregado para avaliar o efeito da concentração de NaOH na etapa de extração de sílica para obtenção da celulose purificada.

Figura 3- Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) da amostra após tratamento com H_2O_4 para remoção de lignina e quebra da hemicelulose

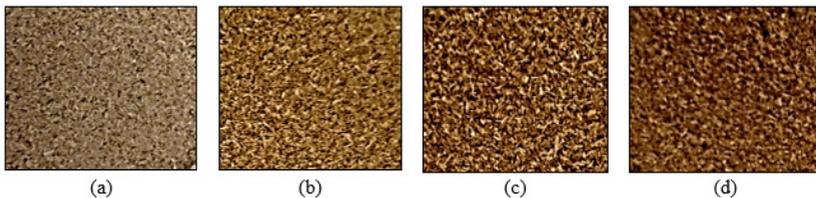


Fonte: Os autores (2021).

Avaliação da Concentração de NaOH na extração de sílica e obtenção de celulose

O efeito da concentração do NaOH na eficiência do processo de extração da sílica, etapa necessária para a obtenção da celulose foi conduzido empregando três concentrações distintas (0,1; 0,5 e 1,0 M). Após a etapa de extração a celulose, insolúvel, foi recuperada por filtração, lavada e seca em estufa de recirculação de ar a 90°C por 2h. Visualmente todas as amostras apresentaram similaridade entre elas, tanto no aspecto macro-estrutural, quanto na coloração caramelo, a qual se diferencia da coloração bege, da amostra precursora (Figura 4).

Figura 4- Aspecto visual das farinhas (a) antes e após tratamento alcalino com soluções de NaOH (b) 0,1 M, (c) 0,5 M e (d) 1,0 M



Fonte: Os autores (2021)

A quantidade de celulose (g e %) recuperada e seu teor de cinzas, bem como seu aspecto visual são apresentados na Tabela 4. Observa-se uma diminuição da quantidade de celulose recuperada, de 8,13g para 5,90g, com o aumento da concentração de NaOH, 0,1M para 0,5M. Quando a concentração de NaOH é aumentada par 1M, o resultado obtido ($5,29 \pm 0,28g$) não difere estatisticamente do ensaio conduzido com NaOH 0,5M. Esta tendência foi vinculada ao aumento na eficiência de extração da sílica proporcionada pela maior concentração do NaOH, o qual atua solubilizando a sílica e favorecendo sua lixiviação da estrutura da celulose.

Shimizu (2018) observa resultados semelhantes quando aplica condições alcalinas em diferentes concentrações (5, 10, 20 e 30 % NaOH m/m) para remoção de lignina e hemicelulose da

biomassa de cana-de-açúcar, obtendo em condições de álcali 5 % uma recuperação de 47,8 % de sua massa inicial, concentrações intermediárias de 10 e 20% resultaram em 34,4 e 20,4 % de massa recuperada e condições de maior concentração de NaOH resultaram em 29,6% de recuperação de massa. Uma observação importante é feita por Seben e Hoppe (2010) para o processo de polpeamento químico da casca de arroz, os quais observaram que as polpas com maior grau de deslignificação foram obtidas empregando valores intermediários de concentração de NaOH, a qual variou no estudo entre 0,7% a 3,5%, e temperatura.

Tabela 4- Valores de massa de Celulose seca recuperada e sua caracterização em relação ao teor de cinza e aspecto visual. Efeito da Concentração de NaOH

Condição	Celulose Recuperada		Teor de Cinzas
	Massa (g)	(%)	(%)
NaOH 0,1 M	8,13 ± 0,13 ^a	81,3	17,6
NaOH 0,5 M	5,90 ± 0,44 ^b	59,7	1,8
NaOH 1,0 M	5,29 ± 0,28 ^b	52,1	1,7

Massa empregada no ensaio/referência = 10 g

Corrobora com esta hipótese os valores referentes aos teores de cinza - cujo principal componente no caso da casca de arroz, com mais 80% é a sílica (ARMESTO *et al.*, 2002) - observado entre as amostras, com o ensaio conduzido com NaOH 0,1M, ou seja, com maior rendimento em celulose (81,3%) apresentando o maior teor de cinza (17,6%), \cong 10 vezes superior ao observado para as outras condições avaliadas, este resultado está condizente ao encontrado por Oliveira *et al.* (2015) de 16,62% ao analisar o teor de cinzas da casca de arroz moída. As outras condições avaliadas apresentaram valores para as cinzas de 1,7 e 1,8 %, valores coerentes aos encontrados na literatura, Dittgen *et al.*, (2015) discorre sobre um teor de cinzas para celulose com baixo teor de sílica e compostos lignocelulósicos de 3,5%, o mesmo fora verificado por Oliveira *et*

al., (2015) que encontra 1,9 % de cinzas em análise efetuada em celulose obtida após etapas de extração.

Acordando a estes resultados estão os valores de sílica recuperados (Tabela 5), cujas tendências variam inversamente ao teor de celulose recuperada e proporcionalmente com a concentração de NaOH, com os ensaios conduzidos com as soluções 0,5 e 1,0M, com teores de 15,9 e 20,4%, respectivamente, apresentando recuperação de sílica entre 6,6 e 8,5 vezes superiores a observada para o ensaio empregando NaOH 0,1M, com 2,4%.

Tabela 5- Valores de massa de Sílica seca recuperada após as etapas de precipitação e calcinação. Efeito da Concentração de NaOH

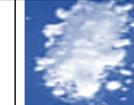
Condição	Sílica Recuperada				Teor de Cinzas da Si precipitada (%)
	Após precipitação		Após Calcinação		
	Massa (g)	(%)	Massa (g)	(%)	
NaOH 0,1 M	0,34 ± 0,09	3,4	0,24 ± 0,07	2,4	71,3
NaOH 0,5 M	2,34 ± 0,24	23,4	1,59 ± 0,11	15,9	68,3
NaOH 1,0 M	2,73 ± 0,18	27,3	2,04 ± 0,13	20,4	75,1

Massa empregada no ensaio/referência = 10 g

Após a precipitação mediante acidificação, as amostras apresentaram um aspecto visual com coloração bege (Quadro 1), cujas intensidades foram aumentando com a concentração de NaOH empregada na etapa de extração. A coloração bege, considerando que a sílica pura é branca, foi vinculada a extração de compostos orgânicos, que ocorre simultaneamente com a sílica, cuja presença tende a aumentar com a concentração, intensificando assim a coloração bege. Corrobora com esta hipótese o fato do percentual dos teores de cinza presentes nas amostras de sílica precipitada serem próximos (entre 68,3 e 75,1%), indicando que

o percentual de matéria orgânica extraída varia proporcionalmente como teor de sílica, ou seja, quanto mais sílica extraída, maior será a quantidade de matéria orgânica presente na sílica precipitada, o mesmo fora observado por Ferreira (2013) o qual atribui a maior carga orgânica presente na sílica a maior concentração de NaOH utilizada.

Quadro 1- Aspecto visual das sílicas obtidas empregando diferentes condições de extração

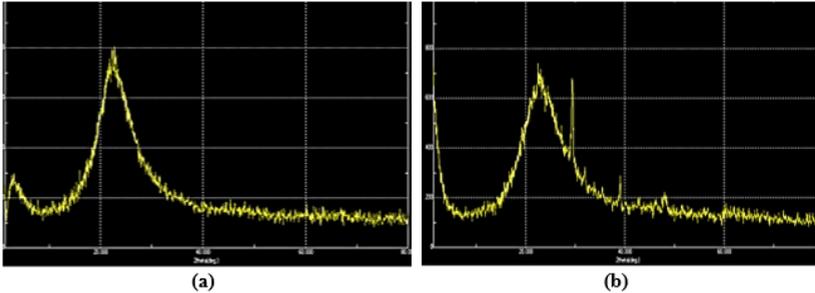
Etapa de Calcinação	Aspecto visual das sílicas			
	Comercial	0,1 M NaOH	0,5 M NaOH	1,0 M NaOH
Antes				
Após				

Fonte: Os autores (2021).

Após a etapa de calcinação todas as amostras apresentaram um aspecto visual com coloração branca, similar a sílica comercial pura (Quadro 1). Os espectros de Raios das três amostras foram idênticos entre si e similares ao da sílica comercial (Figura 5), sugerindo que o processo conduz a extração de uma sílica com elevada pureza; corrobora com conceitos da literatura, onde diz que calcinação a temperaturas abaixo de 800°C resulta em uma sílica amorfa com alta pureza (DELLA, *et al.* 2001).

A massa de sílica extraída com as soluções de NaOH 0,5 e 1,0 M, após a etapa de calcinação, foram de 15,9 e 20,4%, respectivamente, estando de acordo com literatura MARIM, (2015). Resultado semelhante foi encontrado por Silva Júnior (2009) onde após aplicar lixívia alcalina e etapa de calcinação obtém uma massa de sílica recuperada de 14% ou seja, 14g de massa/100g de casca de arroz.

Figura 5- Espectros de Raios x para as amostras de sílica: (a) comercial e (b) extraída com a solução de NaOH 0,5 M e calcinada



Branqueamento da celulose

Após definir a condição alcalina de extração (NaOH 0,5M) da sílica e purificação da celulose foi conduzido novos ensaios com esta condição e com a celulose extraída foram avaliadas 4 diferentes condições experimentais destinadas ao seu branqueamento. O aspecto visual da celulose obtida, bem como as condições aplicadas em cada ensaio, empregando sequencialmente a 1ª e 2ª etapa são apresentados no Quadro 2.

A primeira etapa dos ensaios de branqueamento, empregando 4 condições experimentais, conduziu á polpas de celulose com características distintas. A condição 1 não conduziu a alterações visuais de coloração da celulose, apresenta após a 1ª etapa uma coloração marrom caramelo (Figura 6). A não percepção de alvura no meio extrator sugere que o processo não foi eficiente, por isso a mesma não foi submetida a 2ª etapa de tratamento.

As demais condições (2, 3 e 4) apresentaram a alterações visuais similares, apresentando após a 1ª etapa do tratamento polpas com uma coloração amarela tendendo para o laranja (Quadro 2), similar a observada por Simundi (2017), além de gerar extratos coloridos, indicando um ataque químico a casca de arroz.

Estas três polpas foram submetidas sequencialmente a segunda etapa de tratamento, começando com a polpa

correspondente a condição 2, empregando para a mesma um tempo reacional de 1 hora. A celulose obtida para esta condição apresentou uma coloração com uma distribuição heterogênea, exibindo partes brancas e outras amareladas, além de um aparente baixo rendimento (Quadro 2). Análise posterior por microscopia eletrônica (Quadro 2) demonstrou que o processo conduziu a uma degradação a fibra, apresentando uma estrutura compacta e não fibrilar.

Figura 6- Amostra de celulose após tratamento com 150 mL de água acidificada com ácido acético até pH 3 e 2 % em peso de metabissulfito

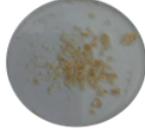
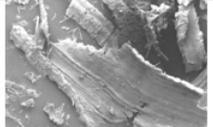


Fonte: Os autores (2021).

Neste sentido para as outras duas amostras, correspondentes as condições 3 e 4, a segunda etapa do processo de branqueamento foi conduzida empregando 30 minutos reacionais, ao invés de 1h. Visualmente ambas as amostras apresentaram melhores resultados em relação ao primeiro ensaio (amostra 2), exibindo ao final do processo uma coloração branca peculiar da celulose e fibras íntegras (MEV), além de um maior rendimento aparente em massa

(Quadro 2), tendência está confirmada pela análise gravimétrica, cujos resultados são apresentados na Tabela 6.

Quadro 2- Imagens da celulose recuperadas após a 1ª e 2ª etapas de branqueamento

Imagens após diferentes etapas e condições do processo de branqueamento/ Amostra			
Condições experimentais empregadas na 1ª etapa	(2) 150 mL de uma solução com hipoclorito de Sódio (NaClO) 12% e NaOH 5% (1:1)	(3) 150 mL de uma solução contendo 20 mL H ₂ O, 30% 65 mL H ₂ COOH e 5 mL de H ₂ SO ₄ 10%. Adaptado de SIMUNDI (2017)	(4) 150 mL H ₂ O, a 30% exposto a radiação UV a 50°C por 4 horas
Imagem após 1ª Etapa			
Imagem após 2ª Etapa			
MEV			

O efeito negativo do tempo de branqueamento, observado pelas imagens de MEV, com o ensaio conduzido com 1h de contato apresentando fibras completamente danificadas, indica a importância desta variável para o êxito do processo, devendo esta variável sempre ser avaliada, considerando a temperatura empregada no processo. Normalmente, maiores temperaturas requerem tempos de contato menores, uma vez que o aumento da temperatura potencializa a agressividade do processo. BRASILEIRO *et al.*, (2001) fizeram constatações similares, indicando que nas etapas de branqueamento os maiores tempos de reação, em geral, influenciam positivamente os resultados de deslignificação e negativamente os resultados de viscosidade; propriedade está diretamente relacionado com a estrutura do material, justificando assim a degradação da fibra observada para o ensaio com 1h de contato.

Tabela 6- Massa de celulose seca recuperada após a etapa de branqueamento, rendimento percentual (%) e resposta colorimétrica.

Amostra	Massa de Celulose recuperada		Respostas colorimétricas		
	(g)	(%)	L*	a*	b*
1	3,35	67	28,08 ± 0,01	7,56 ± 0,06	23,45 ± 0,11
2	0,34	6,9	37,44 ± 0,03	1,78 ± 0,06	11,79 ± 0,01
3	1,07	21,4	47,51 ± 0,06	0,25 ± 0,01	6,41 ± 0,04
4	2,69	53,8	51,21 ± 0,74	-0,13 ± 0,02	8,23 ± 0,25

Massa de amostra de partida/referência = 5,0 g

Entre os dois ensaios, para a 2ª etapa de branqueamento conduzida com 30 minutos de contato, a amostra referente a condição 4, destaca-se em relação a condição 3 principalmente na massa de celulose final recuperada, com 2,69 g, a qual além de corresponder a um rendimento de 53,8 % (m/m) foi \cong 2,5 vezes superior à observada para a condição 3, com 1,07 g (Tabela 6).

As cores observadas de forma visual na Figura e 3 e no Quadro 2, ou seja qualitativamente, para as amostras de celulose obtidas empregando diferentes condições de branqueamento foram analisadas colorimetricamente, ou seja, de forma quantitativa, cujos valores são apresentados na (Tabela 6). Para a celulose, cuja coloração natural é a branca, a resposta mais significativa é a luminosidade (L*) a qual pode variar em uma faixa de (0 a 100) entre o preto e o branco MOITA (2004).

Neste contexto, a tendência observada entre as amostras para a Luminosidade (L*) (Tabela 6), com o ensaio 1 apresentando o menor valor (28,08), ou seja, tendendo mais para o preto, e

o ensaio 4, com o maior valor (51,21), tendendo mais para o branco, esta coerente com a tendência observada visulamente (Quadro 2). O mesmo pode ser observado para a resposta b, cujos valores positivos (+) indicam uma tendência para o amarelo, a qual apresenta uma redução nos valores entre os ensaios 2 e 3, de 11,79 para 6,41, seguido de um leve aumento entre os ensaios 3 e 4, de 6,41 para 8,23, justificando o aspecto levemente mais amarelado observado para a amostra 4 em relação a amostra 3 (Quadro 2).

Considerações finais

De maneira geral os resultados obtidos com o presente estudo provam que a casca de arroz pode ser uma fonte alternativa para extração, tanto de celulose quanto de sílica, com propriedades que se adequam a uma ampla aplicação industrial, porém ainda exige pesquisa e melhoria nos métodos para sua obtenção.

Além disto observa-se um efeito da concentração do NaOH na etapa de extração de Sílica, dá condições reacional (1ª etapa) e do tempo de contato (2ª etapa), com a temperatura empregada, no processo destinado ao branqueamento, com o melhor resultado sendo obtido para uma concentração de NaOH de 0,5 mol/L, H₂O₂/UV e tempo de 30 minutos há 50 °C.

Referências

ALVES, S. B. **Estudo teórico e experimental do processo de secagem do abacate (*Persea Americana Mill*)**. 2014. 140 f. Tese Doutorado (Engenharia Mecânica) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

BELTRAMINO, F. *et al.* Exploring the effects of treatments with carbohydrases to obtain a high-cellulose content pulp from a non-wood alkaline pulp. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 302-312, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria MA/SNAD/SFA Nº

07, de 09/11/88 - publicada no **Diário Oficial da União** de 09 de novembro de 1988 - Seção I, página 21.968, 1988.

BRASILEIRO, L. B; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 819-829, 2001. DOI: 10.1590/S0100-40422001000600020

CALLISTER Jr, W.D.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC, 2021.

CANDINHO, C. da C. **Obtenção de celulose extraída de resíduos lignocelulósicos provenientes do estróbilo feminino da Araucária angustifolia via hidrólise ácida**. 2020. 77 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau. Blumenau – SC, 2020.

CASTRO, H. F de. **Papel e Celulose**. Apostila de Processos Químicos Industriais II. 2009. 30 f. Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de Lorena a – EEL. São Paulo, 2009.

CECHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. (Ficha catalográfica elaborada pelo sistema de bibliotecas da Unicamp), Campinas – SP, UNICAMP, 2003.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010.

CHANDRASEKHAR, S. *et al.* Processing, properties and applications of reactive sílica from rice husk and overview. **Journal of Materials Science**, n. 38, p. 3159-3168, 2003. DOI: 10.1023/A:1025157114800

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise mensal do mercado do arroz**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3573-conab-aponta-aumento-de-8-da-producao-brasileira-de-graos-chegando-a-278-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 23 ago. 2020.

COSMO, B. M. N.; GALERIANI, T. M. Determinação de Matéria Seca em Amostras de Beterraba, Capim Elefante e Farinhas de Peixe. **Revista Científica Semana Acadêmica**, v. 1, p. 1-23, 2017. Disponível em: <https://semanaacademica.com.br/artigo/determinacao-de-cinzas-em-amostras-de-beterraba-capim-elefante-e-farinha-de-peixe>. Acesso em: 06 mar. 2021.

COSTA, F. R. T. **Microscopia eletrônica de varredura: Potencialidades e aplicações**. 2016. 51 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2016.

COUTO, M. L. B. G. **Estudo do Processo de secagem de frutos do cerrado em secador de bandejas com circulação forçada de ar**. 2015. 67 f. Trabalho conclusão de curso (Graduação em Química Tecnológica). Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

CRUZ, L. P. R. **Obtenção de nanocelulose por hidrólise ácida e enzimática de fibras de algodão de resíduo de tecido tingido com corante índigo**. 2017. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

DAMASIO, R. A. P. **Caracterização e aplicações de celuloses nanofibrilada (CNF) e nanocristalina (CNC)**. 2015. 90 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência Florestal)- Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2015.

DELLA, V. P.; KHÛN, I.; HOTZA, D. Caracterização de cinza de casca de arroz para uso como matéria prima na fabricação de refratários de sílica. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 778-782, 2001. DOI:10.1590/S0100-40422001000600013.

DITTMEN, C. L. *et al.* **Obtenção de fibras de celulose a partir da casca de aveia**. XXIV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, 2015. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2015/CA_03138.pdf. Acesso em: 02 abr. 2021.

FERREIRA, R. C.; GOBO, J. C. C.; CUNHA, A. H. N.

Incorporação de casca de arroz e de braquiária e seus efeitos nas propriedades físicas e mecânicas de tijolos de solo-cimento. **Engenharia Agrícola**, v. 28, n. 1, p. 1-11, 2012.

FERREIRA, M. J. **Obtenção de silicato de sódio por lixivia alcalina a partir da casca de arroz (cinza da casca de arroz) para uso como defloculante**. 2013. 85 f. Dissertação (Pós – Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Florianópolis, 2013.

FOLETTTO, E. L. *et al.* Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz. *Quimica Nova*, v. 28, n. 6, p. 1055-1060, 2005. DOI:10.1590/S0100-40422005000600021.

FUJISAWA, S. *et al.* Preparation and characterization of TEMPO - oxidized cellulose nanofibril films with free carboxyl groups. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 579-583, 2011. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.12.029.

GOMES, L. S.; FURTADO, A. C. R.; SOUZA, M. C. A sílica e suas particularidades. **Revista Virtual de Química**, v 10, n. 4, p. 1018-1038, 2018. DOI:10.21577/1984-6835.20180072

GOMIDE, J. L.; VIVONE, R. R.; MARQUES, A. R. Utilização do processo soda/antraquinona para produção de celulose branqueável de Eucalyptus spp. **Congresso de Celulose e Papel da ABCP**, v. 20, São Paulo, 1987.

FERNANDES, I. J. *et al.* Caracterização do resíduo industrial casca de arroz com vistas a sua utilização como biomassa. 6º Fórum Internacional de Resíduos Sólidos. **Anais...** São José dos Campos, SP, 2017.

FOLETTTO, E. L. *et al.* Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz. *Quimica Nova*, v. 28, n. 6, p. 1055-1060, 2005. DOI:10.1590/S0100-40422005000600021.

HOFFMANN, J. V. J. **Tecnologia em materiais: Estudo sobre a obtenção de sílica a partir da casca de arroz**. 2019.

64 f. Trabalho Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Engenharia Civil). Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, SC, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, São Paulo: IMESP, 2005.

JOHAR, N. AHMAD, I. DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Elsevier**, v. 37, p. 93-99, 2012.

MARIN, D. C. *et al.* Revalorization of rice husk waste as a source of cellulose and silica. **Fibers and Polymers**, v. 16, n. 2, p. 285-293, 2015. DOI:10.1007/s12221-015-0285-5

MAYER, F. D.; HOFFMANN, R.; RUPPENTHAL, J. E. Gestão Energética, Econômica e Ambiental do Resíduo Casca de Arroz em Pequenas e Médias Agroindústrias de Arroz. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO DA UNESP, 13. Bauru, SP. **Anais eletrônicos**. Bauru: UNESP, 2006. Disponível em: https://simpep.feb.unesp.br/anais/anais_13/artigos/124.pdf. Acesso em: 23 ago. 2020.

MELLO FILHO, A. B.; VASCONCELOS, M. A. S. **Química de alimentos**. Caderno elaborado para a rede nacional pública de ensino - Escola Técnica Aberta do Brasil (e- TEC BRASIL) – (Disciplina ministrada no curso técnico de alimentos) - Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas – CODAI, Universidade Federal de Recife, Recife, 2011.

MOITA, A. W. **Análise de variância para dados de tonalidade de cor: um caso de dados circulares**. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz- Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

OLIVEIRA, C. B. de. **Efeito dos materiais de parede sobre a atividade antimicrobiana da nisina encapsulada em spray-dryer em relação ao Staphylococcus aureus**. 2015. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-

Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2015.

OLIVEIRA, J. P. *et al.* Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. **Food Chemistry**, v. 221, p. 153-160, 2017: DOI:10.1016/j.foodchem.2016.10.048.

PINTO, U. M.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M. **Deterioração microbiana dos alimentos**. Universidade de São Paulo, USP. São Paulo, SP, 2018. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/rtigoparaazeitesDeterioracaomicrobianadosalimentos11Set2018....pdf>. Acesso em: 02 maio 2021.

ROSA, S. M. L. *et al.* Chlorine- free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1131- 1138, 2012. DOI:10.1016/j.carbpol.2011.08.084.

SANTOS, G. R. V dos. JANKOWSKY, I. P. ANDRADE, A. Curva característica de secagem para madeira de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, n. 63, p. 214-220. 2003. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr63/cap18.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2021.

SEBEN, L. L.; HOPPE, D. A. Projeto de experimento para extração de cellulose através do polpeamento alcalino da casca de arroz e otimização das variáveis: Absorção de água e número kappa. **XXX Encontro Nacional de Engenharia da Produção**. São Carlos, SP, Brasil, 12 a 15 de outubro de 2010. Disponível em: http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2010_tn_stp_114_747_15406.pdf. Acesso em: 01 maio 2021.

SIMUNDI, F. S. M. **Extração de sílica e celulose a partir da casca de arroz**. 2017. 63 f. Dissertação (Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2017.

SHIMIZU, F. L. **Remoção de lignina e hemicelulose: influência na acessibilidade à celulose e sacarificação enzimática**. 2018. 73 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 2018.

SILVA JÚNIOR, A. C. **Progresso genético de melhoramento de arroz irrigado em Minas Gerais no período 1993/1994 a 2015/2016**. 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2017.

SILVA JÚNIOR, J. **Obtenção de xerogel de sílica a partir das cascas de arroz em uma aproximação Botton-up para produção de materiais em eletrônica**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2009.

TEIXEIRA, P. C. *et al.* **Manual de métodos de análise de solo**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Solos - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Embrapa, 2017.

USDA- United States Department of Agriculture. Rice Outlook : Rice Production Forecast for 2020/21 Lowered for China, Thailand, and Vietnam. **RCS-20H**, August 14, 2020 USDA, Economic Research Service. Disponível em: <https://www.ers.usda.gov/webdocs/outlooks/99152/rcs-20h.pdf?v=2530.6>. Acesso em: 07 set. 2020.

VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANTANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999.

ZEYMER, J. S. **Equilíbrio higroscópico e análise termodinâmica da sorção de água em grãos de arroz em casca**. 2017. 99 f. Dissertação (Pós – Graduação em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2017.



ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM FILÉS DE TILÁPIA

Viviane Roberta Martini¹, Marcieli Peruzzolo², Geciane Toniazio
Backes³

¹Acadêmica do Curso de Engenharia Alimentos (URI-Erechim) - vivi@hotmail.com

²Discente do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Engenharia de Alimentos (URI-Erechim) - marciperuzzolo@yahoo.com.br

³Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia de Alimentos (URI-Erechim) - gtoniazzo@uricer.edu.br

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) congeladas e refrigeradas, oriundas de diferentes estabelecimentos. As amostras de filé, resfriadas e congeladas, com peso médio de 120g, foram adquiridas no comércio local na cidade de Erechim, RS, e acondicionadas a 4 e 0°C, respectivamente, até o momento da análise. Realizaram-se 3 coletas, a cada 30 dias, no período de fevereiro a maio de 2021, em 3 supermercados e 2 peixarias. Foram determinadas as contagens de *Staphylococcus aureus*, presença de *Salmonella* spp. e número mais provável de *Escherichia coli*, em 21 amostras de tilápias congeladas e em 6 amostras de filés frescos (resfriados) para verificar se atendiam a Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019. Todas as amostras atenderam aos padrões microbiológicos da legislação, estando próprias para o consumo, demonstrando que foram utilizadas as boas práticas de fabricação no processamento e armazenamento.

Palavras-chave: Peixe. *Salmonella*. *Staphylococcus aureus*. *Oreochromis niloticus*. *Escherichia coli*.

Introdução

O consumo de alimentos mais saudáveis, como a carne de pescado, tem se destacado mundialmente, devido, principalmente, à sua elevada importância nutricional (SARTORI e AMÂNCIO, 2012; SANTOS *et al.*, 2019), tornando a aquicultura um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce no mundo (JUNIOR, 2011). Assim, a procura por este tipo de alimento, como alternativa em substituição a outras fontes de proteínas, promoveu a ampliação da produção, principalmente em países em desenvolvimento (SILVA *et al.*, 2008).

A tilápia é o pescado que lidera a produção aquícola brasileira, com mais de 132 mil toneladas produzidas por ano (MPA, 2010). Nas décadas mais recentes houve ampliação da produção de pescados cultivados, estabilização da pesca extrativa, acréscimo das importações, resultando em maior volume da oferta. Conforme dados divulgados pelo Anuário 2020 da Associação Brasileira de Piscicultura (Peixe BR), em 2019 foram produzidas 722.560 toneladas, com receita em média de R \$5,6 bilhões.

De maneira geral, o peixe hoje comercializado no Brasil, tanto oriundo da pesca quanto da aquicultura, concentra-se em mercados, feiras-livres e restaurantes, sendo oferecido de várias maneiras: cortado em postas, em filé, inteiro ou pré-processado, fresco ou congelado (LOPES, OLIVEIRA, RAMOS 2016). Assim, como todos os produtos comercializados *in natura*, os filés de tilápia, também apresentam risco de contaminação microbiológica, no entanto, o pescado está sujeito à uma contaminação adicional pelos microrganismos encontrados naturalmente na água e no ambiente. A presença desses microrganismos no produto final comprova falhas em alguma das etapas da cadeia produtiva, durante as diferentes etapas de captura, transporte ou distribuição. A contaminação com patógenos de reservatórios animal/humano, como *Salmonella ssp.* e *Escherichia coli*, pode ocorrer na pré ou pós-captura do pescado, enquanto a manipulação inadequada durante o preparo pode introduzir no alimento *Staphylococcus aureus* de origem humana,

dentre outros. Estes e outros microrganismos podem estar presentes no pescado principalmente devido à sua extensa cadeia produtiva no beneficiamento, conservação, distribuição, transporte e armazenamento (VALLANDRO *et al.*, 2011; BARBOSA *et al.*, 2020)

O número de casos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no âmbito do pescado é geralmente baixo quando comparado ao dos causados por aves, laticínios e outras carnes. Entretanto, a importância do pescado como veiculador de patógenos depende de fatores como a dieta e a forma de preparo para consumo (CASTRO, 2016).

Além disso, por ser um alimento de fácil decomposição, o pescado exige cuidado especial, notadamente os relacionados com a conservação pelo frio. Além do mais, o alimento deve ser sadio, sem causar danos à saúde do consumidor final. Este aspecto é uma condição essencial para a “boa qualidade” dos produtos da pesca. Infelizmente esses alimentos têm sido associados a doenças humanas e são veículo de transmissão de microrganismos patogênicos causadores de intoxicações, constituindo-se num problema de saúde pública (LORENZON *et al.*, 2010). Desta forma, os problemas de saúde ocasionados pelo consumo de pescado se devem, principalmente, à prática deficiente na produção, transporte e armazenamento, razão pela qual a segurança alimentar vem ganhando espaço e atenção global, devido à ocorrência de doenças transmitidas pelos alimentos.

Portanto, um manejo inadequado em qualquer etapa da cadeia de produção pode comprometer a qualidade do produto final, agregando microrganismos que podem representar riscos à saúde do consumidor. Assim, essa pesquisa teve por objetivo avaliar microbiologicamente filés de tilápia, congeladas e frescas (refrigeradas), comercializadas no varejo da cidade de Erechim, RS.

Metodologia

As amostras de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram coletadas em cinco locais de venda, sendo três supermercados e duas peixarias, situadas na cidade de Erechim, RS, totalizando 6 amostras de filé de tilápia fresca e 21 amostras congeladas. Em cada estabelecimento foram coletadas amostras de diferentes marcas sendo sete amostras congeladas e duas frescas. Os produtos foram transportados em bolsa térmica para o Laboratório de Análises Microbiológicas de Alimentos da Universidade Regional Integrada - URI Erechim. Realizou-se 3 coletas, a cada 30 dias, no período de fevereiro a maio de 2021. As amostras congeladas e refrigeradas (frescas) foram mantidas a 0 e 4°C, respectivamente, até o momento das análises. Para a realização das análises as amostras congeladas mantidas em geladeira a temperatura de 4°C, até o completo descongelamento. Destaca-se que todas as amostras estavam dentro do prazo de validade.

Para cada amostra procedente dos diferentes locais e datas avaliados neste estudo, foram feitas a determinação de *Staphylococcus aureus*, presença de *Salmonella* spp. e número mais provável de *Escherichia coli*, em atendimento a Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019).

Para a quantificação de *Staphylococcus aureus*, 25g de amostra foram adicionadas em 225 mL de água peptonada 0,1% (SILVA *et al.*, 2007), submetidas à homogeneização em Stomacher® (400 Circulator, Seward Limited UK). Diluições decimais foram preparadas em tubos contendo 9,0 mL de água peptonada 0,1% estéril. Das diluições seriadas, alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em ágar Baird-Parker (Kasvi), seguido de incubação em estufa a 35 a 37°C por 48 h. Após esse período, foram realizadas a identificação e a contagem das colônias que apresentavam as características típicas e atípicas de *Staphylococcus* spp. Em meio de cultivo ágar Baird-Parker, essas colônias apresentam-se negras, lustrosas, convexas, rodeadas por halo claro característico de *S. aureus* (SILVA *et al.*, 2007). Os resultados da contagem foram expressos em UFC/g.

Para a determinação do número mais provável (NMP) de *Escherichia coli* foi empregada a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos) utilizando Caldo Lauril Sulfato Triptose - LST (Kasvi) para o teste presuntivo e o Caldo *Escherichia coli* - EC (Kasvi), para o teste confirmativo (SILVA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007). Alíquotas de 1mL das amostras previamente diluídas (para contagem de *S. aureus*) foram adicionadas, em três tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo LST simples com tubos de Durham invertidos., para cada diluição. A incubação foi realizada de 35 a 37 °C durante 24 - 48 horas. Transcorrido o tempo verificou-se a formação de gás nos tubos de Durham, indicando a presença de coliformes. Os tubos positivos foram repicados com auxílio de uma alça de platina em tubos contendo caldo EC e incubados a 45,5°C por 24 horas, para confirmação do resultado. A presença de gás nos tubos de Durham em caldo EC indicam a presença de coliformes fecais, especificamente *E. coli*. A partir do número de tubos com gás e com o auxílio de uma tabela de Número Mais Provável (NMP) (SILVA *et al.*, 2007), obteve-se o número mais provável de coliformes fecais ou *E. coli* por grama da amostra (NMP/g).

A pesquisa de *Salmonella* sp. realizou-se em 4 etapas que consistiram de pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação através de provas bioquímicas e sorológicas. Para o pré-enriquecimento, 25g das amostras de filé de tilápia foram adicionadas em frascos contendo 225 mL caldo lactosado. Após homogeneização, foi incubado em estufa a 37 °C por 24 horas. O enriquecimento seletivo foi realizado transferindo alíquotas de 1 mL da cultura do pré-enriquecimento em 10 mL de caldo Selenito Cistina (SC) e em 10 mL de caldo Tetrionato (TT). A incubação foi realizada a 37 °C por 24 horas. Para o plaqueamento seletivo, com auxílio de alça de níquel-cromo, cada cultura dos meios TT e SC foram semeadas, pela técnica de estria em placas de petri contendo meio ágar Rambach (Merck) e a incubação foi realizada a 37 °C por 24 horas. Colônias típicas de presença de *Salmonella*

são vermelhas, e devem passar pelos testes bioquímicos (SILVA *et al.*, 2007).

Resultado e Discussão

As determinações microbiológicas foram realizadas visando avaliar as condições higiênico-sanitárias associadas aos procedimentos operacionais. A Tabela 1 apresenta os resultados das análises microbiológicas de *Salmonella* ssp. *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em filés de tilápias frescas e congeladas obtidas de diferentes estabelecimentos da cidade de Erechim, RS.

De acordo com a Tabela 1, para a determinação de *E. coli*, os resultados foram satisfatórios, indicando um baixo número de amostras contaminadas, representando pouco mais de 16% entre todas as coletas. Nas primeiras análises somente os Supermercados A e B com amostras congeladas apresentaram presença de *E. coli* com parâmetros $2,3 \times 10^{-1}$ NMP/g e as demais <3 NMP/g. Na segunda coleta somente a amostra de tilápia fresca da Peixaria E obteve indicativo de *E. coli*, também com valor de $2,3 \times 10^{-1}$ NMP/g. Já na terceira coleta, a peixaria D demonstrou indicativo de *E. coli* com valor de $2,3 \times 10^{-1}$ NMP/g. Sendo assim, estes produtos, da categoria de pescados (frescos, resfriados ou congelados), atendem a Resolução nº 60 de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019), que estabelece valores 5×10^2 NMP/g para produtos não consumidos crus e 10^2 NMP/g para produtos consumidos crus, indicando que todos os estabelecimentos trabalham com boas práticas de fabricação garantindo um produto de qualidade para o consumidor final.

Os coliformes fecais, principalmente a *E. coli*, são indicadores de contaminação fecal, que possibilita a presença de bactérias patogênicas transmitidas pelas fezes para a água e os alimentos. Portanto, os alimentos contaminados com coliformes fecais indicam que a higiene no processamento dos mesmos é inadequada. (ALVEZ *et al.*, 2018). A microbiota dos peixes recentemente capturados reflete a da água que habitavam, e quanto

mais poluída a água, mais variada é a microbiota (VASEMÄGI *et al.*, 2017). Assim, a deterioração do pescado instala-se logo após a morte e avança com o tempo, suas alterações mais comuns são: enzimáticas, físico-químicas e microbiológicas. Assim, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) as doenças transmitidas por alimentos são aquelas de natureza infecciosa ou tóxica causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados por agentes biológicos, químicos e físicos, representando um sério risco à saúde (BRASIL, 2010)

No entanto, pelos resultados obtidos das análises de *E. coli*, realizadas em filés de tilápia congeladas e refrigeradas (frescas), indicam que as represas onde foram coletados os peixes possuíam água de qualidade e manejo adequado para o cultivo das tilápias. Com estes resultados, também pode-se correlacionar à correta manipulação do produto, resultando em qualidade ao produto final.

Tabela 1. Identificação de *Salmonella* sp. e população de *Staphylococcus* coagulase positiva *E. coli* em filés de tilápias frescas e congeladas obtidas nos estabelecimentos da Erechim, RS.

Contagem de Microrganismos			
Amostras	<i>Salmonella</i> sp. (Ausência em 25g)	<i>Staphylococcus</i> coagulase po- sitiva (UFC/)	<i>E. coli</i> (NMP/g)
Primeira coleta			
Padrão (legisla- ção)	Ausência em 25 g	10 ³	Consumido cru 2x10 ²
			Não Consumido cru 10 ²
Supermercado A	Ausência	Ausência	2,3x10 ¹
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B	Ausência	Ausência	2,3x10 ¹

Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	1x10 ¹	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Peixaria D	-	-	-
Peixaria E	-	-	-

Segunda coleta

Supermercado A	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B**	-	-	-
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Peixaria D	Ausência	Ausência	<3
Peixaria E	Ausência	Ausência	2,3x10 ¹

Terceira coleta

Supermercado A	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B***	-	-	-
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado B	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Supermercado C	Ausência	Ausência	<3
Peixaria D	Ausência	Ausência	2,3x10 ¹
Peixaria E	Ausência	Ausência	<3

*Amostra 8 e 9 não foram encontradas nas peixarias da região na primeira coleta.

Amostra 2 não foi encontrada na segunda coleta.*Amostra 2 não foi encontrada na terceira coleta.

Em relação a presença de *Salmonella* sp., nenhuma das amostras congeladas ou frescas analisadas apresentaram contaminação, demonstrando que do ponto de vista sanitário, este alimento não representa risco, o que o qualifica como próprio para o consumo. O parâmetro preconizado pela normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019) é a ausência de *Salmonella* sp. em 25 gramas de pescado *in natura*. Sendo assim, com base na pesquisa do presente estudo, todos os supermercados e peixarias avaliados comercializavam o pescado em acordo com os parâmetros previstos pela legislação. A ausência de *Salmonella* sp. também foi verificada em estudo de Silva *et al.* (2008), que analisou 20 amostras de peixe cru comercializado em cinco feiras de quatro regiões da cidade de São Paulo. A contaminação desta bactéria em peixes está principalmente influenciada pela sua criação e pelo ambiente de sua industrialização, devido às inadequadas práticas de higiene (FERNANDES *et al.*, 2018).

As bactérias do gênero *Salmonella* sp. são microrganismos em forma de bastonetes, Gram positivos e não esporulados, causadores de graves intoxicações alimentares, e possui como habitat primário o trato intestinal dos animais e do ser humano (ALMEIDA DA SILVA *et al.*, 2020). Possui temperatura mínima de multiplicação de 5°C e temperatura ótima de aproximadamente 38°C, podendo ser destruídas a 60°C por 15 a 20 minutos. Possui dose infectante de 10^6 a 10^8 UFC/g, no entanto, já foram mencionados casos de surtos com menos de 10 células envolvendo queijo tipo cheddar e de 50 a 100 células em chocolate, por essa razão é aceito que 1 UFC/g possa acarretar surtos alimentares. (ALFAMA, 2018)

Sabe-se que o principal *habitat* da *Salmonella* ssp. é o trato intestinal de aves, répteis e seres humanos. Dessa forma, a contaminação do pescado por este patógeno pode ocorrer antes da colheita, durante a captura, transformação, distribuição e/ou armazenamento. Diante disto, a ausência desta bactéria nas amostras analisadas pode estar relacionada à baixa contaminação do pescado e ao seu armazenamento adequado. Destaca-se que boas condições higiênicas - sanitárias durante toda cadeia

produtiva são necessárias para garantir a qualidade (PACHECO *et al.*, 2004), porém os principais meios de contaminação ocorrem em peixes após a retirada da água, provenientes das contaminações cruzadas durante a descarga do produto. Sabe-se que após a captura, a microbiota inicial pode sofrer alterações em decorrência do transporte, manipulação, contato com o gelo, superfícies, equipamentos, ambiente de estocagem e modo de comercialização (JUNIOR, 2011).

A *Salmonella* entra no organismo por via oral, invade a mucosa intestinal, causando enterocolite aguda. Normalmente, a diarreia é controlada, sem presença de sangue nas fezes, porém, podem ocorrer em alguns casos clínicos. Em indivíduos desnutridos ou com deficiências no sistema imune, pode provocar infecções extremamente graves (BRASIL, 2011).

Ao avaliar *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de filé de tilápia congeladas e refrigeradas (frescas), verificou-se que apenas uma amostra coletada no Supermercado C, na primeira coleta, apresentou contaminação de 1×10^1 UFC/g. Sendo assim, todas as amostras se encontram dentro dos padrões estabelecidos pela normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019) que estabelece um produto próprio para o consumo com contagens de até 10^3 UFC/g. Esta análise é fundamental e a possibilidade de contaminação do pescado não pode ser desprezada devido à importância desses microrganismos para a saúde pública, por compor o grupo de espécies produtoras de toxinas termoestáveis (FERREIRA *et al.*, 2014).segundo Silva *et al.* (2008), baixas contagens de *Staphylococcus* spp. são esperadas para esses tipos de produto, por não serem considerados bons competidores frente a outras bactérias. Por esta razão, raramente causam intoxicação quando presente em alimentos crus nos quais a microbiota normal não tenha sido destruída.

Staphylococcus são bactérias pertencentes à família *Micrococcaceae*, possuem células esféricas (0,5 – 1,5 μ m), Gram-positivas, que podem ser encontradas isoladas, aos pares e em agrupamentos irregulares. São imóveis, não esporulados, anaeróbios

facultativos, quimiorganotróficos com metabolismo fermentativo e respiratório. A temperatura ótima de multiplicação é de 30 – 37°C (JUNIOR, 2011).

Essa bactéria é transmitida principalmente pela manipulação imprópria dos alimentos, podendo ser identificada em diferentes partes do corpo como microbiota da pele, fossas nasais, garganta e intestino, tornando o ser humano, uma das principais fontes de propagação para os produtos. Deste modo, falhas nas práticas de manipulação do pescado são importantes causas da transmissão desse microrganismo, uma vez que sua presença não pode ser identificada pelo consumidor, pois não causa alterações organolépticas dos produtos pescados(OLIVEIRA *et al.*, 2020)

Oliveira *et al.* (2020) analisaram um total de 10 amostras de *swab*, sendo 5 das mãos dos manipuladores e 5 das bancadas de exposição do produto da Feira de Panair. Os resultados obtidos após a realização das análises microbiológicas, confirmaram em sua maioria a contaminação por *Staphylococcus aureus*, por não estarem dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela legislação na Resolução RDC nº. 60/2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, nas amostras das mãos a presença de cepas de *Staphylococcus aureus* foi confirmada em 80% dos casos. Com esse resultado, observa-se o despreparo e/ou a desatenção dos manipuladores quanto à higienização, contribuindo assim para a contaminação do produto, visto que as mãos por apresentarem maior índice de umidade e servirem como veículo de trabalho, contribuem para a transmissão de patógenos.

As amostras de filé de tilápia analisados no presente estudo apresentaram satisfatoriamente qualidade microbiológica, uma vez que o pescado é um dos alimentos mais susceptíveis à deterioração, devido a inúmeros fatores como: elevada atividade de água (fator essencial para o desenvolvimento e sobrevivência de microrganismos), sua composição química, teor de gorduras (excelente para reações como oxidação), pH próximo ao da neutralidade, sendo o mais favorável para a maioria dos microrganismos e sua temperatura(TIGRE,2008). E a medida

que se reduz a temperatura, o desenvolvimento de microrganismos torna-se cada vez mais lento. Os mecanismos de preservação de peixes mais utilizados é o uso de gelo, refrigeração e congelamento, cujo objetivo principal é proporcionar baixas temperaturas para controlar a flora microbiana por meio da redução da taxa de crescimento de microrganismos (CASTILLO-JIMENEZ *et al.*, 2017)

Conclusões

Conclui-se que as amostras de filé de tilápia analisadas possuem qualidade microbiológica satisfatória demonstrando que estão aptas ao consumo mesmo após a estocagem em supermercados e peixarias, comprovada pelas análises microbiológicas.

Em todas as análises realizadas de pesquisa *Salmonella* ssp., contagem de *Staphylococcus aureus* e *E. coli* os valores obtidos foram ausentes e/ou menores do que os estabelecidos pela legislação. A isso estão relacionadas à qualidade da água de onde o peixe foi obtido e também a correta estocagem e manipulação dos filés no momento da venda.

A segurança do pescado, quanto ao padrão microbiológico, é de suma importância, visto que as doenças transmitidas por alimentos têm sempre ocorrido em decorrência da falta de cuidados e de controle desde a aquisição da matéria-prima até a manipulação e o processamento.

Referências

ALFAMA, E. R. G. **Identificação De Cenários De Temperaturas De Distribuição Em Restaurantes Industriais No Brasil E Modelagem Da Multiplicação De Patógenos Alimentares Em Preparações De Risco.** Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, RS, 2018. Disponível em <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/197067/001096537>>.

pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acessado em: 11 abr. 2021.

ALMEIDA DA SILVA, A.; OLIVEIRA DE AMORIM, B.; NASCIMENTO DE SOUZA, M.; BATISTA, C., A.; RITTER, D., O.; LANZARIN, M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída exposto à venda. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 10513-10525, mar. 2020. ISSN 2525-8761. DOI:10.34117/bjdv6n3-070

ALVEZ, S.G. S; ATAID, C.D.G; SILVA, J.X. Análise Microbiológica de coliformes totais e termotolerantes em água de bebedouros de um parque público de Brasília, Distrito Federal. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**.v. 7, n. 1, p. 12-7, 2018. Disponível em <<http://revistafacesa.senaaires.com.br/index.php/revisa/article/viewFile/298/208>> Acessado em: 15 mai. 2021.

BARBOSA, J.; PUTON, B. M. S.; FISCHER, B.; JUNGES, A.; PAROUL, N.; STEFFENS, C.; ZENI, J.; STEFFENS, J.; VALDUGA, E.; TONIAZZO B., G.; CANSIAN, R., L. Effect of Supercritical CO₂ on Physicochemical Characteristics and D-Value of *S. aureus* in Raw Salmon. **Industrial Biotechnology**, v. 16, p. 368-374, 2020. DOI: 10.1089/ind.2020.0024

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2019). **Resolução Instrução Normativa n 60, de 23 de Dezembro de 2019**. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 dez. 2010. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>> Acessado em: 13 jun. 2020

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella***. Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. Brasília, 2011. Disponível em <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_diagnostico_laboratorial_salmonella_spp.pdf> Acessado em: 1 de jun.2021

BRASIL. Ministério da Saúde. 2010. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2. ed. Brasília.

OLIVEIRA, N., M., C.; DIAS, F., C., P.; ROLIM, J., E., D.; SANTOS, E., F.; Análise microbiológica de *Staphylococcus aureus* na feira da Panair, Manaus - AM. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 47876-47885, jul. 2020. DOI:10.34117/bjdv6n7-434

CASTROS. S.V.; ALMEIDA NETO, J., A., TEODORO, J., W., S.; FIGUEIREDO FILHOL. A. S. **Aspectos higiênico-sanitários de Estabelecimentos comercializadores de sushi e Sashimi (temakeria) em TIMON-MA**. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Alimentação: a árvore que sustenta a vida - 24 a 27 de outubro de 2016 – FAURGS- GRAMADO –RS

CASTILLO-JIMENEZ, A. M.; MONTALVO-RODRÍGUEZ, C.; RAMIREZ-TORO, C.; BOLÍVAR-ESCOBAR, G. Control del deterioro microbiológico de filetes de tilapia mediante la aplicación de bacterias lácticas. **Orinoquia**.v.21, n. 2, p. 30-37, 2017. DOI: 10.22579 / 20112629.415

FERNANDES, D. V. G. S.; CASTRO, V. S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E. E. S. *Salmonella* spp. in the fish production chain: a review. **Ciência Rural**, v. 48, n. 8, p. 1-11, 2018. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180141>

FERREIRA E. M.; LOPES I. Da S.; PEREIRA D. de M.; RODRIGUES L. da C.; COSTA F N.; **Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação**. 2014. Disponível em < <https://www.scielo.br/j/aib/a/vQWmqvDy84TTKL7RWmN3Bnt/?format=pdf&lang=pt> > Acessado em 10 de jun.2021

HUSS, H. H. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. **Food Control**, v. 8, p. 91-98, 1997.

JUNIOR P. G. **Qualidade higiênica e sanitária de tilápias provenientes de cultivo, comercializadas no varejo.** Dissertação de mestrado Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal. 2011. Disponível em <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/86684/gattijunior_p_me_jabo.pdf?sequence=1> Acessado em: 15 jun.2021

LOPES, I. G.; OLIVEIRA, R. G.; RAMOS, F. M. Perfil do consumo de peixes pela população brasileira. **Macapá**. v. 6, n. 2, p. 62-65, 2016 DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n2p62-65

LORENZON, C.S.; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A.P.; PINTO, F.R.; SCHOLTEN, C.; HONDA, S.N.; AMARAL, L.A. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4 p. 617-624, 2010. Disponível em < <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p6172010> > Acessado em 15. mai 2021

PACHECO, T. A.; LEITE, R. G. M.; ALMEIDA, A. C.; SILVA, N. M. O.; FIORINI, J. E. Análise de coliformes e bactérias mesófilas em pescado de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116/117, p. 68-72, 2004. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SAL346.pdf>> Acessado 15 jun.2021

SANTOS, E. J. R. dos; GALENO, L. S.; BASTOS, L. da S.; COSTA, T. F.; CARVALHO, I. A.; COSTA, F. N. Qualidade Higiênico-sanitária De Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Comercializado Na Cidade De São Luís – MA. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. p. 20, p. 1-12, e-46537, 2019. DOI: 10.1590/1809-6891v20e-46537

SARTORI, A., G. O.; AMÂNCIO, R., D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012. DOI:10.20396/SAN.V19I2.8634613

SILVA, M.L.; MATTÉ, G.R.; MATTÉ, M.H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.67, n.3, p.208-214, 2008. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v67n3/a08v67n3.pdf> Acessado em: 12 jun.2021

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p

SILVA M.P.; CAVALLI D.R.; OLIVEIRA T.C.R.M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 352 – 359, 2006. DOI: 10.1590/S0101-20612006000200018

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa e Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. Rio de Janeiro, 1995.

TIGRE, D. **Deterioração de pescados e frutos do mar**. 02 de abril de 2008 Disponível em < <https://www.docsity.com/pt/deterioracao-de-pescados-e-frutos-do-mar-1/4701686/>>Acessado em:10 jun.2021

VALLANDRO, M. J.; CAMPOS, T de.; PAIM, D.; CARDOSO, M.; KINDLEIN, L. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis à base de salmão, preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.2, p. 144-150, 2011. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v70n2/v70n2a07.pdf>. Acesso: 17/06/2021.

VASEMÄGI, A.; VISSE, M.; VELSO, K. Efeito de fatores ambientais e uma doença parasitária emergente no microbioma intestinal de peixes Salmonídeos selvagens. **MSphere**, v. 2, n. 6, e00418-17. 2017. DOI: 10.1128/mSphere.00418-17



USO DE MEMBRANAS E PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS: UMA REVISÃO

Adriane Marisa Burchardt Schultz¹, Juliana Steffens²

¹Acadêmica do Curso de Engenharia Química (URI) – as_schultz@outlook.com

²Prof^a. Dr^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) - julisteffens@uricer.edu.br

Resumo: O desenvolvimento industrial está intrinsecamente concatenado aos impactos ambientais. As atividades executadas pelas indústrias de laticínios têm caráter potencialmente poluidor, sobretudo quando do descarte inapropriado de efluentes líquidos. Além da geração exorbitante de efluentes durante o processamento do leite, a composição destas águas residuárias compreende uma elevada concentração de matéria orgânica. O lançamento dos efluentes *in natura* em corpos hídricos ocasiona graves impactos aos ecossistemas e aos seres humanos. Para viabilizar a redução destes danos, a adoção de processos convencionais de tratamento de efluentes têm sido comumente implementados pelas indústrias laticinistas. Todavia, a eficiência destas técnicas desaponta, principalmente, no que tange à remoção da carga orgânica, revelando-se, portanto, imperativo, a introdução de inovações tecnológicas, como o emprego de membranas e a aplicação de Processos Oxidativos Avançados, pois demonstram resultados satisfatórios, condizentes à eficácia e viabilidade ambiental. Ao encontro destas perspectivas, a presente pesquisa tem o desígnio de efetuar uma revisão bibliográfica acerca dos tratamentos dispensados aos efluentes oriundos da indústria láctea, ressaltando a inserção dos Processos Oxidativos Avançados e das membranas, em virtude das repercussões promissoras apresentadas por estes métodos de tratamento.

Palavras-chave: Efluentes de laticínios. Membranas. Processos Oxidativos Avançados.

Considerações iniciais

Na sociedade contemporânea, o ritmo frenético de desenvolvimento econômico, produção e consumo, vêm esgotando as reservas naturais e colocando em xeque a existência da vida na Terra, uma vez que o cerne desta sistemática é o crescimento ilimitado e simultaneamente, o desprezo aos limites da natureza, sacrificando o chamado capital natural (RESENDE, 2013, p. 115). Neste toar, o meio ambiente está cada vez mais ameaçado pelo lixo nuclear e químico, pelos dejetos orgânicos e efluentes, dentre outras atividades, decorrentes, em primazia, da atuação do setor industrial, que culminam na contaminação do lençol freático; na escassez de água; na diminuição da área florestal; no clima com profundas alterações; no patrimônio genético degradado, entre outros efeitos deletérios (MILARÉ apud BRAUNER; JONH; MONTIPÓ, 2012, p. 99).

No contexto brasileiro, em regra, as áreas destinadas às indústrias encontram-se concatenadas à baixa preservação, haja vista que tais empreendimentos, a despeito de incorporarem padrões tecnológicos avançados para a base nacional, estão ultrapassados no que se refere à diligência com o meio ambiente (CIMA apud JURAS, 2015, p. 49). Tal situação se apresenta, por exemplo, nas indústrias de alimentos, as quais são responsáveis pela geração de efluentes de natureza complexa, suscitando, por conseguinte, empecilhos quanto à sustentabilidade ambiental e à conformidade regulatória (DIAS *et al.*, 2018). Um dos setores da indústria de alimentos que se destaca por seu caráter poluidor é a indústria de laticínios, cujos impactos consistem no lançamento inadequado dos efluentes líquidos; na geração de resíduos sólidos; e em emissões atmosféricas (POKRYWIECKI *et al.*, 2013).

Corroborando com este cenário, o elevado consumo de água durante o processamento do leite, o que torna o setor industrial de laticínios um dos principais geradores de efluentes potencialmente poluidores, uma vez que a água utilizada no processo industrial, exceto pelas perdas de volume por volatilização e pela quantidade

da mesma, incorporada aos produtos lácteos, é contaminada por diversos resíduos (GOMES *et al.*, 2017). Neste viés, os efluentes oriundos das indústrias em comento, constituem-se mormente, em águas residuárias de lavagem, compostas de ácidos e bases; sólidos suspensos; soro; e elevado teor de matéria orgânica, em virtude da significativa quantidade de proteínas, lipídios e carboidratos presentes no leite (OLIVEIRA, 2017).

Ademais, tendo em vista a relação entre o volume de leite processado e o volume de efluente gerado, ou seja, o coeficiente volumétrico de efluente líquido, se estima que, para o beneficiamento de cada litro de leite, são gerados 3,5 litros de efluentes (SARAIVA *et al.*, 2009; TEIXEIRA, 2020), sendo esta quantidade, substancialmente elevada, já que a produção de leite no Brasil consiste em 34,84 bilhões de litros por ano, consoante os dados obtidos na Pesquisa Pecuária Municipal, realizada pelo IBGE (2020) referente ao ano de 2019. Destarte, o volume exorbitante anual somado à carga de resíduos e contaminantes presentes nos efluentes de laticínios implica, em caso de ausência de tratamento e/ou descarte inapropriado, no comprometimento dos processos fotossintéticos naturais nos leitos dos rios, bem como, na depleção do oxigênio dissolvido, ocasionando diversos impactos nocivos, não apenas ao meio ambiente, como também à sociedade (PIOVESAN, 2017).

A despeito de existirem regulamentações e políticas de preservação ambiental, poucas indústrias de laticínios, especialmente as de pequeno e médio porte, realizam o tratamento de seus efluentes, ou então, se o executam, este é pouco eficaz, principalmente porque os contaminantes presentes são resistentes à degradação via tratamento físico-químico (BORTOTI *et al.*, 2016). Ante tal panorama, é imperativa a adoção de processos ambientalmente consentâneos pelas indústrias, tais como, viabilizar a recuperação e reutilização de subprodutos; alterar os procedimentos de tratamento de efluentes líquidos, no sentido de levar em consideração os avanços científicos, bem como introduzir as inovações tecnológicas em seus processos; e ainda, fomentar

um aumento da eficiência do processo e até mesmo a redução dos custos (ALVES, 2017).

Diversas são as alternativas que compreendem as técnicas inovadoras para diminuir os impactos causados pelos efluentes líquidos de laticínios, podendo-se mencionar a aplicação de membranas, como o processo de separação via ultrafiltração; e os Processos Oxidativos Avançados (POAs), à exemplo da fotocatalise heterogênea, que apresenta algumas vantagens, como a de não empregar reagentes químicos (DIAS *et al.*, 2018). Nesta perspectiva, a presente pesquisa intenta averiguar os métodos comumente utilizados para o tratamento de efluentes de laticínios, considerando ainda, as técnicas suprarreferidas, em razão dos seus resultados promissores e eficazes, quanto à viabilidade de redução dos danos ambientais atrelados aos efluentes líquidos.

Para a consecução de tal, adotou-se o método de revisão bibliográfica, vez que esta metodologia considera o levantamento de dados a partir de referenciais teóricos publicados, por intermédio da análise e discussão de diversas contribuições científicas, que trarão subsídios acerca de como e sob qual enfoque e/ou perspectiva foi tratada a temática apresentada na literatura científica. Para tanto, a revisão bibliográfica pode ser realizada, sobretudo em livros, periódicos, artigos de jornais e páginas da Web (PIZZANI *et al.*, 2012). Assim, atentando ao caráter bibliográfico, pôde-se desenvolver uma pesquisa bibliográfica acerca dos métodos de tratamento de efluentes de laticínios, com ênfase nas técnicas que empregam membranas e os Processos Oxidativos Avançados.

Referencial teórico

A demanda colossal de produtividade industrial tanto de bens, quanto de serviços, fomentada pelo sistema capitalista, se destina à uma sociedade de massa, cujos hábitos de consumo são exacerbados, de forma à ocasionar o esgotamento de recursos de água potável, na extinção de espécies, na destruição da camada de ozônio (CUNHA *et al.*, 2014) e na geração de quantidades

elevadas de resíduos e grandes volumes de efluentes, como ocorre nos processos industriais de laticínios, o que é impulsionado no Brasil, tendo em vista que a produção de leite no País, o coloca na quinta posição no *ranking* mundial (IBGE, 2020). Neste contexto, tem-se a necessidade de uma análise, de ora em diante, a respeito dos efluentes provenientes de indústrias de laticínios, bem como, os tratamentos aplicáveis aos mesmos, a fim de viabilizar a redução dos impactos socioambientais.

Efluentes líquidos de indústrias de laticínios

Com um papel de grande relevância à nível mundial, o complexo agroindustrial do leite reflete tanto na esfera econômica, quanto no âmbito social, uma vez que emprega muita mão de obra e gera renda. Todavia, as atividades industriais do setor leiteiro vêm despertando crescentes preocupações de entidades ambientalistas e cientistas, devido à geração de resíduos sólidos; emissões atmosféricas; e efluentes líquidos, passíveis de impactar gravemente o meio ambiente. Os resíduos sólidos compreendem os detritos oriundos dos escritórios, instalações sanitárias, laboratórios, refeitórios e ainda àqueles gerados diretamente pela produção, tais como as cinzas e fuligem de caldeiras. Já as emissões atmosféricas das indústrias leiteiras, originam-se a partir da queima de combustíveis para geração de vapor nas caldeiras (PEREIRA *et al.*, 2017).

E, no que tange aos efluentes líquidos, estes constituem os despejos líquidos provenientes das áreas de processamento industrial, incluindo os originados nos processos de produção, as águas de lavagem de operação de limpeza e outras fontes, que apresentem poluição por produtos utilizados ou produzidos no estabelecimento industrial (NBR, 1987). Nas indústrias de laticínios, os principais constituintes dos efluentes líquidos provêm dos grandes volumes de água utilizados em função das lavagens de máquinas, tubulações e pisos; águas de sistemas de resfriamento e geradores de vapor; esgotos sanitários (SOUSA, 2019); materiais sólidos flutuantes, sobretudo substâncias graxas; detergentes usados

nas operações de lavagem e sanitização; lubrificantes utilizados na manutenção de equipamentos; e poeira removida nas operações de lavagem de pisos (ANDRADE, 2011).

Além dos efluentes líquidos decorrentes dos processos de limpeza, as indústrias de laticínios geram efluentes que compreendem as águas usadas diretamente nas etapas do processo industrial ou incorporadas aos produtos; e quantidades variáveis de leite diluído. Vale sinalar que, consoante o produto final almejado, as indústrias de laticínios produzem uma variabilidade de águas residuárias, a exemplo do processamento do queijo, em que o principal resíduo líquido é o soro, cuja carga orgânica é cerca de cem vezes maior que a matéria orgânica presente no esgoto doméstico (MURARI *et al.*, 2013). Já na produção de manteiga, o efluente líquido predominante consiste no leiteiro, um subproduto com considerável carga orgânica; enquanto que na fabricação de iogurte, em razão das adições de polpas de frutas, essências, açúcar, leite em pó, entre outros, há a geração de águas residuárias com carga orgânica ainda mais significativa (SILVA, 2010).

Além das propriedades constituintes e a carga poluente dos efluentes de laticínios variarem em função dos produtos industrializados (resfriamento e ensacamento, fabricação de queijos, iogurtes, manteiga, requeijão, leite em pó, entre outros), a geração de efluentes líquidos é impactada por fatores como a capacidade de produção; “*layout*” industrial; tecnologia empregada na higienização das instalações; e a qualidade do leite utilizado (SILVA, 2010). Contudo, independente dos aspectos específicos apresentados em cada indústria laticinista, resta evidente que este setor constitui uma parcela relevante na indústria de alimentos, não apenas no aspecto econômico, como também por ser um dos mais poluentes (LOURES, 2011). Em virtude da sua contribuição material em termos de contaminação de águas receptoras, acarretado pela vasta geração de efluentes líquidos, os quais, por sua vez, representam a fonte de poluição mais relevante desta tipologia industrial (VOURCH *et al.*, 2008; ANDRADE, 2011).

Características dos efluentes de laticínios

Os efluentes líquidos advindos do processamento do leite, a despeito de possuírem alguns traços peculiares, também detêm características próprias, de natureza similar entre si, eis que retratam diretamente o efeito das perdas do leite e de seus derivados (MACHADO, 2011), consistentes precipuamente em elevados teores de sais e nutrientes dissolvidos, como nitrogênio, fósforo e potássio; e matéria orgânica, tais como óleos e gorduras, proteínas, lactose e ácido láctico (CENI, 2017). Esses efluentes apresentam elevada Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO). Nos efluentes lácteos também se evidenciam parâmetros variáveis, tais como os sólidos suspensos, sólidos sedimentáveis, temperatura, turbidez e potencial hidrogeniônico (pH), os quais, podem influenciar substancialmente as suas características qualitativas (ALVIM; MARQUES, 2020). Na Tabela 1, apresentam-se as principais características físico-químicas dos efluentes industriais de laticínios e seu amplo grau de variabilidade:

Tabela 1- Valores médios das principais características físico-químicas dos efluentes das indústrias de laticínios

Parâmetro	Faixa de Variação	
	1	2
Sólidos Suspensos	24-5700 mg. L ⁻¹	100-1000 mg. L ⁻¹
Sólidos Suspensos Totais	125-8500 mg. L ⁻¹	100-2000 mg. L ⁻¹
DQO	500-4500 mg. L ⁻¹	6000 mg. L ⁻¹
DBO _{5,20}	450-4790 mg. L ⁻¹	4000 mg. L ⁻¹
Proteína	210-560 mg. L ⁻¹	---
Gordura/Óleos e graxas	35-500 mg. L ⁻¹	95-550 mg. L ⁻¹
Carboidratos	252-931 mg. L ⁻¹	---
Amônia -N	10-100 mg. L ⁻¹	---
Nitrogênio	15-180 mg. L ⁻¹	116 mg. L ⁻¹
Fósforo	20-250 mg. L ⁻¹	0,1-46 mg. L ⁻¹

Sódio	60-807 mg. L ⁻¹	---
Cloretos	48-469 mg. L ⁻¹	---
Cálcio	57-112 mg. L ⁻¹	---
Magnésio	22-49 mg. L ⁻¹	---
Potássio	11-160 mg. L ⁻¹	---
pH	5,3-9,4	1-12
Temperatura	12-40 °C	20-30 °C

Fonte: MACHADO (2011).

Convém pontuar que as características físico-químicas dos efluentes líquidos originados nos laticínios são números aproximados. Logo, valores reais só podem ser obtidos através do monitoramento da própria indústria (SILVA, 2010) e por meio da avaliação do potencial tóxico destes efluentes, pois, apesar de não conterem, em regra, substâncias químicas tóxicas, possuem uma carga elevada de compostos orgânicos dissolvidos (SAMANAMUD, 2011). Para promover esta avaliação, é imprescindível considerar o parâmetro DBO_{5, 20'} quando se trata de matéria orgânica biodegradável (MACHADO, 2011), a fim de determinar os níveis iniciais e finais de oxigênio, quando da diluição e incubação de uma amostra do efluente por um período de 5 dias a 20 °C (SANTOS, 2018). Outro indicador da presença de matéria orgânica a ser ponderado na análise, diz respeito à DQO, a qual pode ser definida como sendo a quantidade de oxigênio necessária para a oxidação da matéria orgânica com um auxílio de um agente químico oxidante, à exemplo do dicromato de potássio, em meio ácido (SILVA, 2010).

A caracterização dos efluentes líquidos das indústrias laticinistas também deve abranger os traços perceptíveis apresentados pelos mesmos. Neste panorama, os efluentes em comento, possuem um odor característico, que é provocado por gases produzidos na decomposição da matéria orgânica, além de exibirem uma cor variável e turbidez, sendo esta última causada pelos sólidos em suspensão. A temperatura destes efluentes é outro parâmetro relevante, em virtude dos seus efeitos na vida aquática,

uma vez que o oxigênio é menos solúvel em água quente e havendo uma temperatura elevada, há a estimulação das atividades biológicas e, por conseguinte, ocorre o consumo de oxigênio (BRAILE; CAVALCANTI, 1993; SILVA, 2010). Soma-se a estes, o parâmetro condizente ao pH, que se apresenta amplamente variável, em razão do uso de grandes quantidades de sanitizantes e soluções ácidas e alcalinas no processo de higienização (BASKARAN PALMOWSKI; WATSON apud CENI, 2017).

Resta evidente a considerável diversidade nas características físico-químicas apresentadas pelos efluentes líquidos de laticínios, a qual, associada ao volume exorbitante gerado por este setor industrial, ocasiona graves impactos ao meio ambiente, afetando os ecossistemas e os seres humanos, quando do lançamento destes efluentes em corpos hídricos, sem o controle e tratamento adequados. Dentre os principais danos, convém destacar o aumento da matéria orgânica; a depleção do oxigênio; a eutrofização dos corpos hídricos receptores, devido a concentração excessiva de nutrientes, como nitrogênio e fósforo; a concentração de materiais tóxicos e íons de metais pesados; a mortandade da fauna e flora aquática; a geração de odor desagradável; o aumento da turbidez, de forma a dificultar a entrada de luz; o acúmulo de materiais refratários, óleos e materiais flutuantes; a degradação do solo, através do excesso de nutrientes com alta salinidade; a alteração das características químicas e físicas do solo; a contaminação das águas subterrâneas pelo processo de lixiviação; a proliferação de vetores; e diversas doenças (COSTA, 2017).

Destarte, os impactos são, além de graves, numerosos e não se restringem apenas aos cursos d'água e na vida aquática, mas refletem significativamente na sociedade em geral, fazendo-se, à vista disso, imprescindível considerar os sistemas de tratamento dos laticínios, ambientalmente satisfatórios, principalmente em pequenos e médios estabelecimentos, em que tal aspecto fica relegado à segundo plano, encontrando motivação apenas quando da atuação de órgãos de controle (SILVA; SIQUEIRA; NOGUEIRA, 2018). Nesta perspectiva, o planejamento de sistemas de disposição de

águas residuárias de laticínios, é indubitável, uma vez que indicará o método mais eficaz e adequado para realizar o tratamento e, por conseguinte, a minimização dos impactos decorrentes do despejo destes efluentes *in natura* ou sem o devido tratamento, em corpos hídricos, será viabilizada.

Sistemas de tratamento de efluentes de laticínios

Considerando a acentuada complexidade dos efluentes lácteos e a pluralidade dos compostos que podem ser encontrados nos mesmos, cada análise acerca da viabilidade de um sistema de tratamento deve ser realizada de maneira isolada, ou seja, os processos desenvolvidos devem ser direcionados à cada indústria de laticínios, em particular, já que não há procedimentos padronizados que possam ser aplicados no tratamento da vasta gama de efluentes de laticínios. De maneira geral, o emprego de um sistema de tratamento tem o intuito, não somente da remoção das substâncias contaminantes, mas sim, da sua completa mineralização, de modo a fomentar a redução da poluição ambiental e os impactos à esta atrelados (SAMANAMUD, 2011).

Nesta premissa, se faz necessário encontrar um método que seja apropriado ao tamanho do empreendimento e que enquadre aspectos como a disponibilidade hídrica; custos viáveis de investimentos e operacionais; uma classificação do corpo hídrico receptor; os impactos ambientais que decorrem do lançamento dos efluentes *in natura*; a finalidade do método de tratamento à ser empregado; o quão eficiente se apresenta tal técnica na remoção da carga orgânica (TEIXEIRA, 2011); e ainda, o cumprimento da legislação, vigente tanto no âmbito nacional, à exemplo da Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2011), a qual dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, quanto as normas estaduais, tal como a Resolução nº 355/2017, do Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA, 2017), que dispõe acerca dos critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras

que lancem seus efluentes em águas superficiais no estado do Rio Grande do Sul.

Com a escolha acertada do sistema de tratamento de efluentes, há a redução dos danos socioambientais, além da melhora na competitividade das indústrias, pois a partir da inserção de práticas que agridem menos ao ambiente, em seus processos, suas atuações ganham destaque, sobretudo como diferencial e pré-requisito de mercado. Ademais, é imprescindível que as indústrias de laticínios se atentem às inovações ambientais, a fim de garantir o desenvolvimento e, concomitantemente, preservar os recursos naturais às gerações futuras (PEREIRA *et al.*, 2017). Neste sentido, a introdução e aplicação de sistemas de tratamento dos efluentes nos processos de fabricação das indústrias leiteiras, quer sejam sistemas convencionais, quer sejam métodos aliados às tecnologias inovadoras, à exemplo do emprego dos Processos Oxidativos Avançados e da aplicação de membranas, lhes possibilita notoriedade em seu setor, uma vez que as questões ambientais, hodiernamente, são necessariamente requisitadas.

Método Convencional

O tratamento de efluentes industriais compreende processos necessários à remoção de impurezas geradas na fabricação de produtos de interesse (MESSIAS, 2015). No tocante aos efluentes oriundos de indústrias de laticínios, estes podem ser tratados por diferentes técnicas, mas o método comumente implementado é o tratamento convencional que, na maioria das vezes, emprega tecnologia simples e de fácil operação (POKRYWIECKI *et al.*, 2013). Tal método de tratamento constitui-se, usualmente, pela associação dos processos tradicionais que combinam tratamento físico (ou físico e químico) com tratamento biológico (KUSHWAHA *et al.*, 2010; CARMO, 2015). Para tanto, cabe pontuar que o tratamento dos efluentes lácteos deve seguir uma sequência de operações unitárias, que englobam basicamente três

subsistemas, quais sejam, pré-tratamento/tratamento primário, tratamento secundário e tratamento terciário (COSTA, 2017).

No que concerne à etapa de tratamento primário, a realização de um pré-tratamento se faz necessária, no intento de remover os contaminantes mais espessos presentes nos efluentes líquidos, haja vista as suas características físicas, como tamanho de particulados e diferença entre densidade de fases (JUSTINA, KEMPKA; SKORONSKI, 2017), consistentes em sólidos grosseiros, como resíduos de embalagens, fragmentos de pedras e coágulos de leite, os quais devem ser retirados para evitar obstruções e entupimentos ao longo do sistema de tratamento (COSTA, 2017). Para o êxito desta remoção, podem-se aplicar grades de barras, trituradores e peneiras (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 80). Ademais, equipamentos de flotação ou caixas de gordura podem ser empregados, com o propósito de separar as gorduras, em geral (SILVA, 2010).

Em referência à aplicação de grades, seu objetivo compreende a retenção do material sólido grosseiro para posterior remoção e disposição final. Já os trituradores têm a função de reduzir as dimensões dos sólidos grosseiros, ou até mesmo a sua desintegração completa. Enquanto que as peneiras, a despeito de possuírem finalidade similar à das grades, são também capazes de remover resíduos mais finos, o que aumenta a eficiência deste método de tratamento prévio (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 80). Logo, o pré-tratamento garante a proteção dos dispositivos de transporte das águas residuárias e das unidades de tratamento posteriores (CARMO, 2015), bem como facilita o transporte do material até a próxima etapa do processo de tratamento (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 80).

Após a execução do pré-tratamento, o procedimento primário, propriamente dito, pode ser aplicado, para efetuar a remoção de sólidos sedimentáveis e sólidos em suspensão, o que é primordial, pois evita que partículas não removidas prejudiquem o tratamento posterior, no sentido de causar danos aos equipamentos e reduzir o nível de eficiência do tratamento (CARMO, 2015).

O tratamento primário, também denominado processo físico-químico, é composto por duas etapas, a saber, coagulação/floculação e sedimentação. No que tange à coagulação, esta se dá por meio da adição de polímeros orgânicos naturais e sintéticos; sais de metais, como o cloreto férrico; e sais de metal pré-hidrolisados, à exemplo do cloreto de polialumínio e do cloreto de poliferro. Estes coagulantes viabilizam a desestabilização química de partículas coloidais. Em sequência, a floculação ocorre como resultado das colisões destas partículas, o que possibilita o aumento da dimensão das mesmas e, conseqüentemente, agrega-as, facilitando sua remoção através de procedimentos de separação (METCALF; EDDY, 2016, p. 446-447).

O processo de separação de partículas se dá por intermédio da sedimentação, em que ocorre a separação de sólido (lodo) e líquido (efluente bruto) (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 80). Nesta etapa, verifica-se o acúmulo de partículas menos densas na superfície, enquanto que no fundo da unidade, sucede-se o depósito das partículas mais densas, formando uma massa de lodo (CARMO, 2015). A finalidade basilar da sedimentação, em suma, consiste em produzir um efluente clarificado e gerar lodo, cuja concentração de sólidos é de fácil manuseio e tratamento. Para tanto, emprega-se, geralmente, a combinação de decantadores com floculadores, os quais são capazes de promover a remoção de 50 a 70% de sólidos suspensos e de 25 a 40% da DBO (METCALF; EDDY, 2016, p. 369-375).

Todavia, as etapas constituintes do estágio primário, em geral, apresentam um nível de tratamento insuficiente para permitir o lançamento dos efluentes em um corpo hídrico, eis que estes ainda abrigam no mínimo 60% da DBO do valor original. Portanto, via de regra, é imprescindível o emprego do tratamento secundário e, assim, promover a remoção de uma parte considerável do material orgânico em suspensão e dos sólidos dissolvidos (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 82-83), por meio da degradação biológica dos compostos carbonáceos, o que acarretará na decomposição de carboidratos, óleos e graxas,

proteínas, e até de gases, como o dióxido de carbono, a amônia e o metano. Esta decomposição é realizada por microrganismos, à exemplo das bactérias e dos fungos (DANIEL, 2008).

Nesta perspectiva, o tratamento secundário, por vezes designado como tratamento biológico, visa reproduzir os mecanismos de oxidação e estabilização da matéria orgânica que ocorrem na natureza em reatores controlados, propiciando a remoção ou a redução da concentração de compostos orgânicos e inorgânicos (METCALF; EDDY, 2016, p. 537), bem como, um efluente com aspecto mais claro e com carga microbiana atenuada. O tratamento biológico pode ser executado por meio de diversas técnicas, sendo comum, nas estações de tratamento de indústrias de laticínios, em escala real, a utilização do filtro anaeróbio, filtro biológico, lagoas de estabilização, lodos ativados convencionais e reator anaeróbio de fluxo ascendente (SILVA, 2010).

Os processos biológicos compreendem os sistemas aeróbios e os sistemas anaeróbios. No que concerne ao tratamento aeróbico, são utilizados microrganismos aeróbios para oxidar a matéria orgânica presente no efluente, empregando-se, sobretudo, o sistema de lodos ativados. Já os processos anaeróbicos ocorrem através de reatores biológicos, à exemplo do filtro anaeróbio, nos quais o esgoto é tratado na ausência de oxigênio livre, resultando na formação de biomassa anaeróbia e, como subproduto principal da degradação da matéria orgânica, se obtêm o biogás (MACHADO, 2011). Em virtude de não necessitar de aeração e, ainda, pela baixa quantidade de lodo gerado, reduzido consumo de energia, baixa demanda de área, além de potencial para geração de energia, o sistema anaeróbico apresenta vantagens sobre as vias aeróbias (SHETE; SHINKAR apud JUSTINA, KEMPKA; SKORONSKI, 2017). Todavia, sistemas de tratamento que apresentam uma etapa anaeróbia associada, sequencialmente, a uma etapa aeróbia, são os que obtêm resultados mais satisfatórios quanto à remoção de matéria orgânica (CENI, 2017).

De maneira geral, o tratamento secundário remove uma parte significativa do material orgânico em suspensão fina, não retirada

no tratamento primário, além de parte do material orgânico na forma de sólidos dissolvidos (CARMO, 2015). Porém, o efluente secundário detém constituintes remanescentes, os quais podem ser divididos em quatro categorias, a saber, material particulado ou coloidal, orgânico e inorgânico; compostos orgânicos dissolvidos; substâncias inorgânicas dissolvidas; e microrganismos (METCALF; EDDY, 2016, p. 1097). Destarte, torna-se necessário a execução do nível terciário para a manutenção da qualidade do corpo receptor, haja vista que o efluente do tratamento secundário ainda possui nutrientes e fósforo em quantidades, concentrações e formas que podem provocar problemas ao corpo d'água, como o fenômeno de eutrofização (DANIEL, 2008).

O estágio terciário, também chamado de pós-tratamento, é normalmente constituído de unidades de tratamento físico-químico, onde podem ser encontradas lagoas de maturação; ou ainda, etapas específicas que podem variar de acordo com o grau de depuração que a indústria deseja alcançar, ou quando as condições locais exigirem um grau de depuração excepcionalmente elevado (IBRAHIN; IBRAHIN; CANTUÁRIA, 2015, p. 84). Como operações e processos unitários empregados no estágio terciário, têm-se os sistemas de transferência de massa, à exemplo da filtração, da adsorção e da sedimentação, que se aplicam para a separação ou remoção de contaminantes, como sólidos em suspensão e compostos orgânicos; e os sistemas baseados em reações químicas ou biológicas, que podem empregar oxidantes químicos como o peróxido de hidrogênio, com o intuito de transformar os contaminantes residuais (METCALF; EDDY, 2016, p. 1099-1100).

Apesar do tratamento terciário ser de grande relevância, é menos utilizado pelas indústrias leiteiras, por ser considerado um tratamento dispendioso (MACHADO, 2011). Cabe ressaltar que, não apenas este estágio de tratamento possui limitações à sua aplicação, mas o método convencional de tratamento de efluentes lácteos em sua integralidade, apresenta vários óbices, à exemplo do que se dá em sua etapa primária, quando do uso de coagulantes à

base de sais de ferro e alumínio, os quais, estão atrelados à inúmeros problemas, sendo, portanto, contraindicados, tanto no que se refere às questões ambientais, quanto à saúde humana (CARMO, 2015). Ademais, a demanda elevada de área; além da eficiência limitada das técnicas convencionais, resulta, na maioria dos casos, em efluentes que não se enquadram nos padrões de lançamento exigidos pelos órgãos ambientais, bem como, desqualificam-se aos padrões de reúso (ANDRADE, 2011).

O modelo convencional de tratamento de efluentes é responsável pela geração de uma poluição secundária, na qual ocorre a inserção de compostos iônicos indesejados que, conseqüentemente, alteram o equilíbrio do meio ambiente em relação à biota do corpo receptor. Eis que surge a partir daí, a necessidade por incorporação, descentralização e automatização de novas tecnologias (PIOVESAN, 2017), no sentido de assegurar a qualidade e efetividade no tratamento dos efluentes, para conservar e proteger os recursos naturais ainda existentes. Neste contexto, as técnicas mais relevantes que estão entrelaçadas à diversas pesquisas científicas e inovações tecnológicas, consistem em Processos Oxidativos Avançados e utilização de membranas, as quais são tidas como alternativas muito promissoras no tratamento de efluentes de indústrias de laticínios, razão pela qual, de ora em diante, as torna a temática central desta pesquisa.

Uso de Membranas

Ações que se constituem em atuações preventivas, para o setor industrial de laticínios, são imprescindíveis no cenário atual, desde a instalação de um simples tanque para o recebimento do primeiro enxague, até a inserção de tecnologias emergentes, como os sistemas de separação por membranas, quer sejam de forma independente, quer sejam de modo associado à outros processos, pois estes se apresentam como uma opção relevante, sobretudo por possibilitar a recuperação de compostos presentes na corrente descartada, para um possível reúso destes, tal como ocorre com as

proteínas e o reciclo da água (DANIEL, 2008), o que se configura uma alternativa de redução da carga orgânica dos efluentes e serve como uma ferramenta na atenuação de custos. Neste âmbito, o concentrado obtido (carga orgânica) pela indústria de laticínios, pode ser reaproveitado, uma vez que a legislação vigente permite a adição de sólidos de origem láctea como ingrediente de vários produtos com baixa umidade, adicionados de sacarose, à exemplo do doce de leite e do leite condensado (BRUM; SANTOS JÚNIOR; BENEDETTI, 2009).

Entre as indústrias de alimentos, a de laticínios é à que apresenta maior correlação quanto à introdução dos processos de separação por membranas, visto que têm à sua disposição, conhecimentos acerca das características bioquímicas do leite e seus coprodutos e por apresentar uma poluição ambiental inaceitável (CORREIA; MAUBOIS; CARVALHO, 2012). Na indústria de laticínios, a aplicação de membranas também tem sido motivada pelas vantagens que as mesmas possuem em relação às operações clássicas, no sentido de possibilitar uma significativa redução da carga orgânica; além dos processos não envolverem mudança de fase, não necessitam de aditivos químicos, são simples em conceito e operação, são modulares e admitem ampliação de escala, requerem baixo consumo de energia, têm um uso racional de matérias-primas e recuperação de subprodutos (DRIOLI; ROMANO, 2001; BRUM; SANTOS JÚNIOR; BENEDETTI, 2009).

Dada sua importância, convém apresentar uma definição acerca do termo membrana, que pode ser estabelecida desta maneira: trata-se de uma barreira semipermeável seletiva que separa duas fases, restringindo de forma parcial ou total o transporte de uma ou várias espécies químicas (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; GAIOTO, 2019), ou seja, permite a passagem de certos constituintes presentes na água, enquanto retém outros (METCALF; EDDY, 2016, p. 1157). Esse transporte através da membrana é realizado pela ação de uma força motriz, constituída por diferentes tipos de gradientes, tais como a pressão, concentração, potencial elétrico e a pressão de vapor. Os gradientes de pressão e concentração são

os mais empregados, pois a maioria dos sistemas de separação por membranas são atérmicos, ou seja, não desprendem nem absorvem calor (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; GAIOTO, 2019).

Nos processos de separação por membranas, além de partículas e coloides, também é possível remover moléculas orgânicas e íons dissolvidos (METCALF; EDDY, 2016, p. 1157), sendo, para tanto, utilizadas membranas sintéticas, que imitam as características de seletividade das membranas naturais, no sentido de separar, concentrar ou purificar as substâncias presentes nos efluentes, tornando-os mais apropriados para o descarte. Ressalte-se que, não ocorre nenhuma transformação química durante este método de tratamento, apenas o material fica retido durante a filtração (GALVÃO, 2016). A separação por membranas ocorre através de cinco processos que incluem a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF), a nanofiltração (NF), a osmose reversa (OR) e a eletrodialise (ED) (METCALF; EDDY, 2016, p. 1157).

A diferença de cada um destes processos de separação vincula-se prioritariamente ao tamanho dos poros da membrana, que diz respeito à capacidade de separação, bem como, à força motriz empregada para impulsionar a separação dos contaminantes (GALVÃO, 2016). Neste viés, para a MF, o diâmetro do poro normalmente está compreendido entre 0,1 e 10 μm , o que corresponde a macroporos e, quanto à força motriz empregada, esta pode ser por diferença de pressão hidráulica ou por vácuo em tanques abertos. Já em relação à UF, atuam os mesoporos, com diâmetro que varia entre 1 a 100 kDa, sendo as forças motrizes as mesmas aplicadas à MF. Na separação via NF, as membranas possuem microporos com diâmetro maior que 100 a 1000 Da e, no tocante à força motriz, é usada a diferença de pressão hidráulica. Para a OR, o diâmetro dos poros é maior que 2 nanômetros, empregando-se, neste caso, membranas densas, enquanto a força motriz corresponde àquela aplicada na NF. E, por fim, na ED, a capacidade de separação é via troca iônica e a força motriz consiste na força eletromotriz (METCALF; EDDY, 2016, p. 1159).

Outro aspecto relevante concerne ao mecanismo de remoção adotado por cada processo de separação por membranas que, no caso da MF e da UF, é efetuado usualmente através da retenção das partículas, isto é, a exclusão por tamanho. Já na NF, além da retenção, emprega-se a solubilização seguida de difusão das moléculas de água e da difusão de soluto através das membranas e, posteriormente ocorre a exclusão. Para a OR, o mecanismo adotado engloba a solubilização, difusão e exclusão. Como os mecanismos da NF e da OR apresentam semelhanças, vale sinalar que a NF pode ser utilizada para a remoção de moléculas orgânicas com baixa massa molecular e íons bivalentes, com tamanho aproximado de 1 nanômetro, enquanto que a OR pode rejeitar íons monovalentes, cujo tamanho é de 1 nanômetro, aproximadamente. E, no tocante à ED, a troca iônica é o mecanismo que promove a separação das partículas (METCALF; EDDY, 2016, p. 1159-1161).

Uma escolha acertada do tipo de membrana a ser utilizada em determinado sistema de tratamento de efluentes demandará o exame destas características e, quando aplicadas na indústria laticinista, também deverão apresentar outras propriedades tais como, suportar altas vazões; possuírem elevada seletividade; e resistência às bactérias e agentes químicos. Tais atributos as tornam muito difundidas neste setor industrial, além de suscitar diversas pesquisas, à exemplo do estudo acerca do soro de leite de búfala, subproduto este, que apresenta teores médios de proteína, gordura e lactose acima das médias obtidas para o soro de leite de vaca; revelando o grande desperdício nutricional em função do descarte corrente deste no meio ambiente, além do rastro deletério de contaminação que causa, razões que fomentaram o emprego do processo de microfiltração por membrana cerâmica de alumina. Para o efluente analisado, a MF se mostrou eficiente, visto que reduziu a carga microbiana e se apresentou uma alternativa viável para aumentar a vida útil do soro de leite de búfala, ideal para fabricação de vários derivados lácteos (LIRA *et al.*, 2009) e, ainda, possibilitar o reúso de um subproduto rico em componentes como

a lactose, uma das principais responsáveis pela contaminação de mananciais (SERPA; PRIANO; REGINATTO, 2009).

O método baseado na UF também é indicado como uma alternativa promissora, em consonância com os dados obtidos por Brião *et al.* (2015), que demonstraram a retirada de nutrientes de efluentes lácteos, à exemplo da remoção da DQO acima de 70%; de proteínas, em cerca de 97%; e de óleos e graxas, acima de 90%. Compostos como lactose, cálcio e fosfato, de menores dimensões, também foram removidos, embora com menores rejeições. Os pesquisadores também puderam verificar que conforme se sucedia a formação de uma camada de macromoléculas, principalmente de proteínas, sobre a membrana, esta camada ia atuando como uma membrana secundária, auxiliando na retenção dos compostos poluentes. Neste sentido, após 70 minutos de ultrafiltração, as análises resultaram em 23%, 16% e 21% de proteínas, lactose e DQO, respectivamente, quando empregaram uma membrana tubular e, utilizando uma membrana espiral, estas porcentagens foram de 17% e 12% para proteína e DQO, respectivamente, enquanto que a concentração de lactose manteve-se em um mesmo patamar.

A NF é outro processo aplicável à indústria de laticínios, segundo se depreende do estudo realizado por Andrade (2011), no qual avaliou um sistema constituído pela associação de um biorreator com membrana de NF. O biorreator foi usado para gerar duas correntes de efluente tratado: uma, condizente ao permeado da NF, na qual obteve qualidade suficiente para a sua reutilização como água para geração de vapor em caldeiras, água para reposição em torres de resfriamento e água para lavagem de pisos e área externa; e a outra, relativa ao concentrado da NF, onde pôde constatar o enquadramento nos parâmetros da legislação brasileira referente ao lançamento de efluentes em corpos d'água. Ademais, ressaltou que o reúso dos efluentes tratados via NF aumenta os lucros da empresa, na medida que reduz os custos com compra e a dependência de água tratada, além da viabilidade ambiental do sistema analisado, relacionada à disposição de um efluente com melhor qualidade,

que acarreta menor degradação dos corpos hídricos e pela redução da captação de água, disponibilizando o volume economizado para fins mais nobres, como o abastecimento público.

Já a pesquisa elaborada por Balannec *et al.* (apud BALDASSO, 2008) baseou-se no emprego da OR em efluentes lácteos, apontando a redução da carga orgânica e a retenção de lactose, (98,2 a 99,9%). O tratamento mediante o uso da OR também foi objeto de análise de Brum *et al.* (2007), onde foi verificado que a composição do efluente concentrado se aproxima da composição do leite original, à medida que este é recirculado pelo tanque de alimentação, sendo o mesmo considerado apto para a utilização em processamentos de produtos de origem láctea, à exemplo do doce de leite. O concentrado final apresentou uma concentração de 6,9% de sólidos totais. Além disso, demonstraram a possibilidade de recuperar sólidos lácteos que se encontram em águas de primeiro enxágue da indústria em comento, por meio do processo de OR, o que diminui o potencial poluidor do efluente gerado.

Atentando-se à elevada geração de soro de leite pelas indústrias que fabricam queijo e caseína, bem como ao fato de que grande parte do mesmo é descartado como efluente em sistemas hídricos, pesquisas têm sido realizadas no intento de minimizar a carga poluente e de desmineralizar este soro para, posteriormente, utilizar proteínas e minerais na fortificação de alimentos e bebidas, o que pode ser alcançado por meio do emprego de ED, de acordo com Baldasso, Tessaro e Ruver (2009), os quais verificaram que as soluções de eletrodos preparadas com sulfato de potássio resultaram na desmineralização do permeado do soro, com remoção de sais superior a 90%. Soma-se a este estudo, a análise desenvolvida por Oberherr (2019) que utilizou membranas associadas, quais sejam, UF e ED, combinação esta, que se mostrou eficiente para remoção de íons de ácido lático e cálcio do soro do leite. Ainda, a pesquisadora pôde verificar que a turbidez inicial foi reduzida em 99,93%, enquanto que concentração de cálcio na solução de

permeado e a concentração de ácido láctico reduziram em 36% e 80%, respectivamente.

Ao encontro de tais perspectivas, as tecnologias de separação por membranas têm permitido não só a redução da carga orgânica dos efluentes líquidos e a diminuição do volume e da poluição gerada pela água usada durante o processamento do leite, mas também a reciclagem de uma parte significativa desta água e o reaproveitamento de nutrientes presentes em subprodutos lácteos (CORREIA; MAUBOIS; CARVALHO, 2012). Apesar destes aspectos, os processos que usam membranas têm encontrado restrições para a sua implementação nas indústrias, devido à fatores como a resistência à adoção de novas tecnologias e o custo significativo do seu emprego em grande escala (OBERHERR, 2019). A viabilidade econômica tem sido comprometida por alguns critérios relativos à formação de preços, como a baixa produção de membranas no País, o que implica na importação de alguns tipos de membranas, além do número limitado de indústrias que atuam no mercado aplicando este método, comumente, de pequeno porte (MIERZWA *et al.*, 2008).

Deste modo, a despeito da notável eficácia no tratamento de efluentes industriais lácteos, a implementação de processos de separação por membranas se depara, sobretudo, com o fator econômico, crucial e determinante na escolha dos métodos de tratamento de efluentes e é um obstáculo que necessita ser suplantado através de estímulos concernentes ao barateamento dos custos operacionais de produção de membranas no Brasil e a redução da carga tributária, bem como, o incentivo para o desenvolvimento de pesquisas científicas no sentido de contornar este aspecto. Cabe mencionar que outras alternativas para o tratamento de efluentes de indústrias de laticínios, quais sejam, os Processos Oxidativos Avançados (POAs), também têm sido enfatizadas em trabalhos científicos, motivando, a partir daí, a análise destas tecnologias.

Processos Oxidativos Avançados

A eficiência no tratamento de águas residuais é um requisito primordial e indispensável para a aplicação de técnicas remediadoras nas indústrias, sobretudo quando se trata de setores responsáveis pela geração de efluentes de composição complexa e notável carga poluente, como ocorre na indústria laticinista. Sob esta perspectiva, nas últimas décadas, os POAs têm se destacado, por se tratarem de métodos eficazes e promissores na redução dos impactos ambientais, além de apresentam vantagens no tratamento de efluentes mais complexos (DIAS *et al.*, 2018). A aplicabilidade dos POAs depende da geração de radicais livres reativos, sendo o mais importante o radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$), através do qual, atingem a degradação de espécies orgânicas, as quais se transformam, parcial ou totalmente, de poluentes recalcitrantes em espécies mais simples, como o dióxido de carbono, água, ânions inorgânicos ou substâncias menos tóxicas e de fácil degradação por tecnologias comuns (ARAÚJO *et al.*, 2016).

O tratamento de efluentes por intermédio dos POAs se deve essencialmente à participação do radical hidroxila no mecanismo de reação, dado que este é altamente reativo, não seletivo, responsável por iniciar reações em cadeia. Ele atua como iniciador dos processos de purificação nos tratamentos de águas contaminadas e, em virtude de apresentar potencial padrão de redução de 2,80 V, superior aos das demais espécies oxidantes, pode levar a mineralização de ampla faixa de espécies orgânicas, dependendo das condições operacionais (ARAÚJO *et al.*, 2016). O radical hidroxila promove a degradação de compostos orgânicos em um curto espaço de tempo, reagindo de 10^6 a 10^{12} vezes mais rápido que outros oxidantes como o ozônio molecular, além de ser um oxidante extremamente poderoso quando usado em meio aquoso, pois viabiliza a oxidação de poluentes tóxicos presentes nos efluentes (BENAZZI, 2013).

Em relação aos procedimentos físico-químicos, os POAs apresentam uma vantagem expressiva, onde os contaminantes

encontrados nas águas residuárias são destruídos quimicamente, em vez de sofrerem apenas uma mudança de fase como ocorre naqueles métodos, em que a disposição final das fases sólidas continua sendo um problema não contornado (LOURES, 2011). Destarte, ao aplicar-se os POAs, os compostos orgânicos presentes nos efluentes líquidos são degradados e não são concentrados em uma fase diferente, bem como, compostos que não são adsorvíveis ou que são parcialmente adsorvíveis podem ser destruídos pela reação com o radical hidroxila. Ainda, como não é gerada uma corrente de resíduos secundária, quando da aplicação dos POAs, não há custo adicional para a disposição ou para regenerar materiais/subprodutos (METCALF; EDDY, 2016, p. 493).

Se comparados às tecnologias convencionais de tratamento de efluentes, que utilizam espécies fortemente oxidantes e não alcançam a total oxidação, os POAs denotam vantagem, já que, geralmente atingem a mineralização completa dos poluentes. Além disso, os POAs podem ser empregados juntamente a outros métodos, desde o pré-tratamento até à etapa posterior ao tratamento convencional. Uma ampla gama de aplicações pode ser atribuída aos POAs, como no pré-tratamento de efluentes cuja taxa de toxicidade é consideravelmente alta e, devido à esta característica, inviabiliza o tratamento através dos métodos biológicos convencionais. Já para oxidar resíduos não biodegradados no processo biológico, os POAs podem ser utilizados como pós-tratamento (LOURES, 2011), bem como, para efluentes que, após o tratamento terciário, ainda apresentem compostos químicos orgânicos, sintéticos ou naturais, que devem ser removidos para proteger o meio ambiente (METCALF; EDDY, 2016, p. 493).

Os POAs são comumente classificados em sistemas homogêneos ou heterogêneos. No que tange aos sistemas homogêneos, os poluentes orgânicos podem ser degradados através de dois mecanismos, quais sejam, a fotólise direta com UV, onde a luz é a única fonte de degradação; e a geração do radical hidroxila, sendo este o responsável pela oxidação dos compostos orgânicos. Já nos sistemas heterogêneos, há o emprego de catalisadores,

consistentes em semicondutores, substâncias estas, que aumentam a velocidade da reação e têm a capacidade de intensificar a geração de radicais hidroxilas por diferentes mecanismos (BENAZZI, 2013). Na Tabela 2 são apresentados os sistemas típicos e os métodos correlatos aos POAs:

Tabela 2- Sistemas típicos e os métodos correlatos aos POAs

Processo	Sistema Homogêneo	Sistema Heterogêneo
Fotoquímico	O_3/UV	$TiO_2/O_2/UV$
	H_2O_2/UV	$TiO_2/H_2O_2/UV$
	$H_2O_2/O_3/UV$	
	Foto Fenton	
	Ultrassom (US)/UV	
	Fotocatálise	
	UV a vácuo	
	Microondas	
	Ozonização	Eletro-Fenton
	Fenton	DDB
Não Fotoquímico	Oxidação Eletroquímica	ADE
	Oxidação por água supercrítica	
	Ionização por irradiação	
	Oxidação ar-molhado	
	H_2O_2/US ; O_3/US ; Fenton/ US	

Fonte: BRUGNERA (2009).

Para a formação e otimização de radicais hidroxila, aplica-se aos sistemas típicos de POAs, oxidantes fortes, como o ozônio (O_3), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), reagente Fenton, fotocatalise com irradiação ultravioleta, além de semicondutores, tais como o óxido de titânio (TiO_2) e o óxido de zinco (ZnO) (ELAOUUD *et al.*, 2011; BEZERRIL, 2015). De maneira geral, tais oxidantes e/

ou semicondutores podem ser implementados de forma unitária no tratamento de efluentes industriais, como também são passíveis à associação, tanto a outros POAs, quanto ao método convencional, vez que existem efeitos de sinergia, ou seja, há uma melhora na eficiência, se comparada a mera soma de duas (ou mais) técnicas (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Pesquisas têm reportado o uso destas tecnologias em variados setores industriais, à exemplo das indústrias farmacêuticas, de beneficiamento de óleo, petroquímica, bem como no ramo de laticínios (LOURES, 2011), o qual, tem sido recorrente objeto de análise, em virtude dos resultados promissores dos POAs no tratamento dos efluentes lácteos, como constatou Mendes (2014) que, ao empregar o processo Foto-Fenton, alcançou uma redução de 51,5% em DQO e 40,3% em DBO. Soma-se a este trabalho, o de Loures (2011), que aliou o tratamento via Foto-Fenton ao sistema biológico convencional, obtendo reduções nas concentrações de DQO em 97,74% e de DBO₅ em 83%, resultados estes, que demonstram expressivo potencial de aplicação para o tratamento de laticínios em escala industrial.

Além de aplicar o processo Foto-Fenton, Souza (2018) empregou a técnica Fenton em amostras de efluentes brutos e tratados, provenientes de uma indústria de laticínios, verificando reduções em relação da DBO e da turbidez, na amostra *in natura*, de 84,2% e 98,6%, respectivamente, quando do uso do método Fenton, enquanto que para o Foto-Fenton, obteve uma redução de DBO de 93,4% e de turbidez, 99,5%. Segundo a pesquisadora, a técnica de Foto-Fenton se mostrou mais eficiente devido a presença de luz, que interfere diretamente no processo de degradação dos poluentes e ainda, por viabilizar uma maior decomposição do H₂O₂, gerando um número maior de radical hidroxila. Por outro lado, ao usar o efluente quimicamente tratado, o processo Fenton apresentou resultados mais satisfatórios para a redução da DBO e da turbidez, consistentes em 80,8% e 98,1%, já para o Foto-Fenton, a redução de DBO foi de 61,5% e a redução da turbidez resultou em 75,1%, o que pode ter sido influenciado pela dosagem

de reagentes; o tipo de catalisador, o tempo de reação, o pH do meio e a temperatura.

Dados relevantes e promissores também estão vinculados ao processo de catálise heterogênea de TiO_2/UV , para a degradação da matéria orgânica de efluentes lácteos, consoante se depreende do estudo realizado por Maculan *et al.* (2016), no qual demonstraram uma redução no teor da carga orgânica medida em DQO (66,5%) e DBO (66,1%), além disso, o tempo de exposição do reator à radiação UV-Solar foi de 2 horas, tempo este, considerado pequeno quando comparado àquele necessário em uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) convencional. O semicondutor TiO_2 também foi aplicado no processo de fotocatalise heterogênea ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2/\text{UV}$), onde, Dias *et al.* (2018) observaram a redução de cerca de 34% na matéria orgânica presente no efluente bruto analisado, sucedendo-se tal, em 20 minutos.

A ozonização catalítica é outro processo, dentre os sistemas de POAs, empregado ao tratamento de efluentes de laticínios, como na pesquisa feita por Messias (2015), que constatou a redução da DQO em torno de 70%, quando do uso exclusivo do processo. Já a aplicação do sistema híbrido, ozonização catalítica e método biológico com lodo ativado, resultou na redução da matéria orgânica, em 95,60% de DQO e 93,09% DBO₅, e a biodegradabilidade teve um aumento de 26%. Ante tal, verifica-se resultados relevantes em todos os métodos dos POAs supramencionados, revelando a importância da adoção destas tecnologias emergentes pelas indústrias laticinistas, a despeito de apresentarem limitações de cunho econômico consistentes na necessidade de grandes quantidades de produtos químicos para manter o pH adequado à reação, bem como, para neutralizar as soluções tratadas antes do descarte, que geram custos relativamente elevados. Entretanto, os dispêndios podem ser contornados através da redução da concentração do reagente; pela utilização de catalisadores de baixo custo; ou por meio da associação a outros POAs e à outras técnicas de tratamento, à exemplo do método biológico convencional (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Ainda, no que tange ao aspecto econômico, é fundamental a aplicação de técnicas não apenas eficientes, mas também que sejam economicamente viáveis e capazes de atenuar os danos causados pelo descarte dos efluentes industriais sem tratamento ou inadequadamente tratados. No que concerne aos POAs, em geral, estes se tornam mais atraentes quando a irradiação UV é empregada, pois a mesma melhora a eficiência de remoção em diferentes matrizes dos contaminantes, por outro lado, têm um elevado gasto energético, acarretando em custos excessivos. Os mecanismos para a redução do uso de energia e também a substituição de irradiação UV artificial consistem na obtenção de UV a partir de fontes naturais e limpas, como por exemplo, a energia solar, a qual, possui um potencial gerador muito significativo no Brasil, além disso, a aplicação de irradiação UV natural atua como um meio para mitigar os danos ambientais e atenuar os custos energéticos (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Vale apontar também que os POAs não podem ser utilizados indiscriminadamente no tratamento de qualquer tipo de resíduo (químico ou orgânico), dado que existem condições limitantes à sua aplicabilidade, sendo possível destacar que nem todos os processos estão disponíveis em escalas apropriadas; há formação de subprodutos de reação; e apresentam restrições de aplicação em condições de elevadas concentrações de poluentes (FREIRE *et al.*, 2000; BENAZZI, 2013). Tais fatores limitantes também desestimulam o emprego dos POAs em escala industrial, entretanto, pesquisas que se atentem a estes aspectos são imprescindíveis, a fim de encontrar soluções, de modo a viabilizar a aplicabilidade nos diversos setores industriais, inclusive na indústria laticinista. Neste panorama, verifica-se a necessidade contínua de desenvolvimento científico, tanto para os métodos condizentes aos POAs, quanto à aplicação industrial das membranas, já que os graves danos ambientais causados pelo descarte inapropriado dos efluentes oriundos de laticínios podem ser reduzidos através do emprego destas tecnologias.

Considerações finais

Em virtude dos aspectos discorridos, infere-se que as indústrias de laticínios apresentam um elevado grau de poluição, eis que geram resíduos sólidos, efluentes líquidos e emissões atmosféricas. Outro fator que corrobora com este cenário, é o demasiado consumo de água durante o processamento do leite, acarretando em um exorbitante volume de efluentes líquidos, constituídos por um alto teor de matéria orgânica, devido a quantidade de nutrientes presentes no leite. O lançamento dos efluentes líquidos *in natura* provenientes de laticínios, em corpos hídricos, implica em graves e numerosos impactos socioambientais, tais como a eutrofização dos corpos receptores, a mortandade da fauna e flora aquática, a alteração das características químicas e físicas do solo, a contaminação das águas subterrâneas e a proliferação de vetores.

A atenuação destes danos requer a implementação de sistemas de tratamentos de efluentes, tal como o método convencional, aplicado em três etapas, que englobam processos físico-químicos, biológicos e uma fase terciária. A despeito da possibilidade de redução da carga orgânica dos efluentes lácteos, o modelo convencional de tratamento não proporciona a integral retirada da mesma, além de demandar uma grande área para sua aplicação e gerar uma poluição secundária, tendo em vista o uso de coagulantes à base de sais de ferro e alumínio, os quais, estão atrelados à impactos ambientais e riscos à saúde humana.

Eclode daí a necessidade por incorporação e automatização de novas tecnologias, à exemplo das membranas e dos POAs, os quais são apontados como alternativas emergentes e promissoras. No tocante às membranas, estas atuam como uma barreira seletiva que permite a passagem de certos constituintes presentes na água, enquanto que restringem, de forma parcial ou total, o transporte de outra(s) espécie(s) química(s). Na indústria de laticínios, a aplicação das membranas mostra-se uma alternativa eficaz, não só por possibilitar a redução do volume e da poluição dos efluentes

líquidos gerados, mas também por permitir a reciclagem de uma parte significativa da água usada no beneficiamento do leite e o reaproveitamento de nutrientes presentes em subprodutos lácteos.

Já a aplicação dos POAs requer a geração de radicais livres reativos, como o radical hidroxila, através do qual, atingem a degradação de espécies orgânicas, no sentido de transformar, parcial ou totalmente, os poluentes em espécies mais simples, como dióxido de carbono, água e substâncias menos tóxicas e de fácil decomposição. Independente do sistema ser homogêneo ou heterogêneo, os POAs adotados no tratamento de efluentes de laticínios apresentam resultados satisfatórios, em relação à remoção da carga orgânica, sobretudo quando da aplicação conjunta ao método convencional em sua etapa biológica.

Todavia, a implementação, tanto das membranas, quanto dos POAs, pelas indústrias de laticínios, se depara com alguns obstáculos. As membranas têm seu uso reduzido devido à fatores como, a resistência à adoção de novas tecnologias e o custo significativo quando do seu emprego em larga escala. Por outro lado, os POAs, além das limitações de cunho econômico, apresentam outras restrições de aplicação, como nos casos em que há elevadas concentrações de poluentes e a indisponibilidade de escalas apropriadas. Estes aspectos limitantes requerem o desenvolvimento de pesquisas científicas, a fim de contorná-los e, assim, fomentar e viabilizar a aplicabilidade destas tecnologias na indústria laticinista, dado que se mostram profícuas e efetivas ante os graves danos ambientais correlatos ao descarte inadequado dos efluentes líquidos.

Referências

ALVES, W. S. Análise do tratamento de efluentes em uma indústria de produtos alimentícios: em estudo de caso. **Revista Colloquium Exactarum**, Goiânia, v. 4, n. 7, p. 49-62, 2017. DOI: 10.18677/Agrarian_Academy_2017a5.

ALVIM, C. S.; MARQUES, R. F. P. V. Avaliação da eficiência de remoção de poluentes de indústria de laticínio por meio de *Jartest*. **Revista Augustus**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 49, p. 209-223, 2020.

ANDRADE, L. H. **Tratamento de efluente de indústria de laticínios por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reúso**. 2011. 214 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

ARAÚJO, K. S.; ANTONELLI, R.; GAYDECZKA, B.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 11, n. 2, p. 387-401, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9800**: critérios para o lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário. Rio de Janeiro: ABNT, 1987.

BALDASSO, C. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 163 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; RUYER, G. S. Desmineralização do soro de leite através da eletrodialise. In: **VIII Oktoberforum** – Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ/UFRGS), Porto Alegre, 2009. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/31894/000783461.pdf?sequence=1>. Acesso em: 15 maio 2021.

BENAZZI, T. L. **Otimização de um sistema de eletrofloculação em fluxo contínuo para o tratamento de efluentes líquidos das indústrias de laticínios**. 2013. 119 f. Tese de Doutorado,

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013.

BEZERRIL, P. M. **Tratamento de efluente lácteo associando os métodos de aeração e eletroquímico empregando ADE e surfactante**. 2015. 61 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, 2015.

BORTOTI, A. A.; ROSA, M. F. R.; BARICCATTI, R. A.; LOBO, V. S. Avaliação do processo foto-Fenton na descoloração de um corante têxtil comercial. **Revista Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 81-90, 2016.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 1993.

BRASIL. Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA). **Resolução Consema Nº 355/2017**. Disponível em: <https://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201707/19110149-355-2017-criterios-e-padroes-de-emissao-de-efluentes-liquidos.pdf>. Acesso em: 29 maio 2021.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução Nº 430, de 13 de maio de 2011**. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 29 maio 2021.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa da pecuária municipal**. Disponível em: https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/b25372bebf621f8c789c4fda346d1a9.pdf. Acesso em: 11 maio 2021.

BRAUNER, M. C. C.; JONH, N. S.; MONTIPÓ, C. D. A inserção da tutela ambiental no ordenamento jurídico e o efetivo exercício na cidadania na proteção do meio ambiente. *In*: LUNELLI, C. A.; MARIN, J. D. [Orgs.]. **Ambiente, políticas**

públicas e jurisdição. Caxias do Sul, RS: Educus, p. 97-114, 2012.

BRIÃO, V.B.; TAVARES, C. R. G.; FAVARETTO, D. P. C.; HEMKEMEIER, M. Ultrafiltração de efluente modelo e efluente industrial de laticínios. **Revista CIATEC**, Passo Fundo, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2015. DOI: <http://seer.upf.br/index.php/ciatec/article/download/3367/3335/0>.

BRUGNERA, M. F. **Eletroanálise e oxidação fotoeletrocatalítica dos disruptores endócrinos bisfenol A e nonilfenol sobre eletrodo de nanotubos de Ti/TiO₂ autoorganizados.** 2009. 141 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

BRUM, L. F. W.; PIRES, C. A.; GALERA, D. B.; SIBEN, M. Z.; SCHULZ, J. G.; BRIÃO, V. B. Osmose inversa para a recuperação de sólidos do leite presentes em águas de primeiro enxágue. *In: V Simpósio de Alimentos para a Região Sul*, Passo Fundo, 2007.

BRUM, L. F. W.; SANTOS JÚNIOR, L. C. O.; BENEDETTI, S. Reaproveitamento de Água de Processo e Resíduos da Indústria de Laticínios. *In: 2nd International Workshop Advances in Cleaner Production*, São Paulo, 2009.

CARMO, M. G. A. **Emprego do pó da semente *in natura* de moringa (*Moringa oleifera* Lam) no tratamento de efluentes de laticínio.** 2015. 56 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2015.

CENI, G. **Estudo da eletrocoagulação aplicada associativamente com peróxido de hidrogênio no tratamento de efluentes líquidos de laticínios.** 2017, 84 f. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2017.

CORREIA, L. F. M.; MAUBOIS, J. L.; CARVALHO, A. F. Aplicações de tecnologias de membranas na indústria de laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 15, n. 90, p. 74-79, 2012.

COSTA, A. G. **Utilização de efluente de laticínios na produção de mandacaru sem espinho (*Cereus hildmannianus* K. Schum) no semiárido brasileiro**. 2017. 86 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água, Universidade Federal do Semi-árido, Mossoró, 2017.

CUNHA, B. P.; MORAES, A. P.; DINIZ, R. H. C.; CATÃO, S. L. C. Política nacional dos resíduos sólidos: análise jurídica a partir da histórica ecológica, da sustentabilidade, do consumo e da pobreza no Brasil. *In*: CUNHA, B. P.; AUGUSTIN, S. [Orgs.]. **Sustentabilidade ambiental: estudos jurídicos e sociais**. Caxias do Sul: Educus, p. 227-240, 2014.

DANIEL, D. D. **Avaliação de processos biológicos utilizados no tratamento de efluentes de laticínios**. 2008. 62 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008.

DIAS, F. F.; SILVA, C. V. A.; SANTOS, A. F. M. S.; ANDRADE, J. G. P.; ALBUQUERQUE, I. L. T. Tratamento de efluente da indústria de laticínios aplicando processo oxidativo avançado ($H_2O_2/TiO_2/UV$). **Scientific Journal of Environmental Sciences and Biotechnology**, Pernambuco, v. 4, n. 3, p. 10-15, 2018.

DRIOLI, E.; ROMANO, M. Progresso e novas perspectivas em operações integradas de membrana para o crescimento industrial sustentável. **Industrial Engineering Chemical Research**, v. 40, n. 5, p. 1277-1300, 2001.

ELAOUD, S. C.; PANIZZA, M.; CERISOLA, G.; MHIRI, T. Degradação eletroquímica do ácido sinapínico em um ânodo BDD. **Desalination**, v. 272, p. 148-153, 2011.

FREIRE S. R.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L.; DURAN, N.; PERALTA-ZAMORA, P., Novas tendências para o tratamento

de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Revista Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400013>.

GAIOTO, F. C. **Tratamento de efluentes da indústria química pela combinação de processos biológicos e físico-químicos visando ao reúso**. 2019. 155 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

GALVÃO, D. F. **Pós-tratamento de efluentes por processos de separação por membranas e reúso de água em uma indústria de laticínios**. 2016. 117 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.

GOMES, V. M.; MACENA, D. A.; HOSSAKA, A. B.; BEZERRA, A. L. M.; JÚNIOR SILVA, A. O. Avaliação do sistema de tratamento de efluentes gerados em indústria de laticínios. **Revista Colloquium Exactarum**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 29-37, 2017.

HABERT, A.C., BORGES, C.P., NOBREGA, R. **Processos de Separação por Membrana**. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

IBRAHIN, F. I. D.; IBRAHIN, F. J.; CANTUÁRIA, E. R. **Análise Ambiental: gerenciamento de resíduos e tratamento de efluentes**. São Paulo: Érica, 2015.

JURAS, I. A. G. M. Os impactos da indústria no meio ambiente. *In*: GANEM, R. S. [Org.]. **Políticas setoriais e meio ambiente**. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, p. 47-84, 2015.

JUSTINA M. D.; KEMPKA, A. P.; SKORONSKI, E. Tecnologias empregadas no tratamento de efluentes de laticínios do vale do Rio Braço do Norte-SC. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 10, n. 3, p. 809-824, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.17765/2176-9168.2017v10n3p809-824>.

KUSHWAHA, J. P.; SRIVASTAVA, V. C.; MALL, I. D.

Tratamento de águas residuárias de laticínios por carvão ativado comercial e cinza de bagaço: modelagem paramétrica, cinética e de equilíbrio e estudos de disposição. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 10, p. 3474-3483, 2010.

LIRA, H. L.; SILVA, M. C. D.; VASCONCELOS, M. R. S.; LIRA, H. L.; LOPEZ, A. M. Q. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 33-37, 2009.

LOURES, C. C. A. **Estudo da aplicação de UV/FENTON ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) no tratamento de efluentes de laticínio**. 2011. 229 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.

MACHADO, V. V. B. **Análise ecotoxicológica e química da estação de tratamento de efluentes de uma indústria de laticínios em Goiás**. 2011. 94 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

MACULAN, J. L.; LUZZA, M.; POKRYWIECKI, J. C.; DUSMANN, E.; TONIAL, I. B.; POKRYWIECKI, T. S. Aplicação de fotorradiação solar para tratamento de efluentes de laticínios. **Revista Tecnologia e Ambiente**, Criciúma, v. 22, n. 1, p. 24-33, 2016.

MENDES, P. R. A. **Integração de processos físico-químicos e oxidativos avançados no tratamento de efluentes da indústria de laticínios**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

MESSIAS, R. A. **Ozonização catalítica de efluente de laticínio em processo semi-batelada com reciclo**. 2015. 219 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

METCALF; EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de**

recursos. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MIERZWA, J. C.; SILVA, M. C. C.; RODRIGUES, L. D. B.; HESPANHOL, I. Tratamento de água para abastecimento público por ultrafiltração: avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com carvão ativado. **Revista Engenharia Ambiental e Sanitária**, v. 13, n. 1, p. 78-87, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522008000100011>.

MURARI, C. S.; MORAES, D. C.; BUENO, G. F.; BIANCHI, V. L. D. Avaliação da redução na poluição dos laticínios, a partir da fermentação do soro de leite em etanol pela levedura *Kluyveromyces Marxianus*. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 393, p. 42-50, 2013.

OBERHERR, R. **Aplicação das tecnologias conjugadas de ultrafiltração e eletrodialise ao soro de leite proveniente da indústria láctea para posterior reuso.** 2019. 102 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais Sustentáveis, Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, 2019.

OLIVEIRA, D. M. C. **Sistema alaga construído como pós-tratamento do flotor de indústria de laticínios.** 2017. 105 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

PEREIRA, M. M. O.; BARBOSA, B. B. C. C.; ANTUNES, L. G. R.; FERREIRA, M. C.; ANTONIALI, L. M. Como tem-se dado a inovação ambiental em laticínios? Uma análise a partir da percepção de gestores. *In: Anais* do XIX Encontro Internacional sobre Gestão Empresarial e Meio Ambiente, São Paulo, 2017. Disponível em: <http://engemausp.submissao.com.br/19/anais/arquivos/360.pdf>. Acesso em: 27 maio 2021.

PIOVESAN, M. **Tratamento de efluentes industriais utilizando eletrofloculação com eletrodos de alumínio e ferro.** 2017. 90 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em

Ciências Ambientais. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

PIZZANI, L.; SILVA, R. C.; BELLO, S. F.; HAYASHI, M. C. P. I. A arte da pesquisa bibliográfica na busca do conhecimento. **Revista Digital de Biblioteconomia e Ciência da Informação**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 53-66, 2012.

POKRYWIECKI, T. S.; GUMY, M. P.; TONIAL, I. B.; POKRYWIECKI, J. C. Avaliação do processo de tratamento de efluentes de laticínios. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 155-161, 2013.

RESENDE, A. C. L. A responsabilidade socioambiental das empresas da construção civil à luz do direito fundamental ao desenvolvimento sustentável e seus reflexos nos empreendimentos imobiliários. *In*: DEL'OLMO, F. S.; CERVI, T. M. D. [Orgs.]. **Direito e justiça: reflexões sócio jurídicas**. Santo Ângelo: EDIURI, p. 111-128, 2013.

SAMANAMUD, G. R. L. **Estudo da aplicação de ZnO fotoirradiado com luz solar no tratamento de efluentes de laticínios**. 2011. 161 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.

SANTOS, E. B. **Relações hidroquímicas e avaliação de entradas antrópicas na qualidade das águas superficiais do Ribeirão Guaçu e afluentes, São Roque, SP**. 2018. 162 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2018.

SARAIVA, C. B.; MENDONÇA, R. C. S.; SANTOS, A. L. S.; PEREIRA, D. A. Consumo de água e geração de efluentes em uma indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 64, n. 367, p. 10-18, 2009.

SERPA, L.; PRIANO, W. L.; REGINATTO, V. Destino ambientalmente correto a rejeitos de queijaria e análise de viabilidade econômica. *In*: **2nd International Workshop Advances**

in Cleaner Production, São Paulo, 2009.

SILVA, L. V. C. **Tratamento aeróbico de efluente sintético de laticínio usando reatores inoculados com fungos *Aspergillus niger* NA 400**. 2010. 116 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Gestão Ambiental, Instituto Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

SILVA, R. R.; SIQUEIRA, E. Q.; NOGUEIRA, I. S. Impactos ambientais de efluentes de laticínios em cursos d'água na Bacia do Rio Pomba. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 217-228, 2018. DOI: 10.1590/S1413-41522018138062.

SOUSA, W. D. **Filtro anaeróbico tipo Cynamon adaptado para tratamento de efluentes da indústria de laticínios**. 2019. 42 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2019.

SOUZA, J. M. C. **Tratamento alternativo de efluentes de uma indústria de laticínios**. 2018. 44 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado, Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2018.

TEIXEIRA, C. O. **Efluentes de laticínios, enquadramento legal e a representação dos técnicos e gerentes**. 2011. 71 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

TEIXEIRA, P. T. R. **Aspectos ambientais e agronômicos da disposição de efluente de laticínios no solo**. 2020. 58 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Urutaí, 2020.

VOURCH, M.; BALANNEC, B.; CHAUFER, B.; DORANGE, G. Tratamento de águas residuais da indústria de laticínios por osmose reversa para reuso de água. **Dessalinização**, v. 219, p. 190-202, 2008.



POTENCIALIDADES DE APLICAÇÃO DO SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA NA PANIFICAÇÃO

Carine Dorigon¹, Eunice Valduga²

¹Graduanda em Engenharia de Alimentos (URI Erechim) –
dorigoncarine@hotmail.com

²Prof^a. Dr^a. do Departamento de Engenharias e Ciência da
Computação (URI Erechim) – veunice@uricer.edu.br

Resumo: A produção de cervejas gera uma quantidade considerável de subprodutos, como o bagaço de malte, que é resultante da etapa do preparo do mosto (mosturação). Este apresenta elevados teores de fibras, proteínas, compostos bioativos (polifenóis) e sua capacidade tecnológica está ligada a seus componentes. O aproveitamento do bagaço de malte na elaboração de farinha integral é uma alternativa para evitar desperdícios e diminuir impactos ambientais, possibilitando o desenvolvimento de novos produtos, como biscoitos, pães, bolos, *cookies* e massas alimentícias. Desta forma, o bagaço de malte deve ser explorado cada vez mais, devido às características nutricionais e oferta abundante da indústria cervejeira.

Palavras-chave: Bagaço de malte, farinha integral, propriedades funcionais.

Introdução

A indústria cervejeira, ao longo de seu processamento, gera grandes quantidades de resíduos. O principal e abundante é o bagaço de malte, ou BSG (sigla do inglês “brewer’s spent grain”), gerado na etapa de mosturação, correspondendo a 85% de todos os resíduos gerados. Como ilustração, na fabricação de 100 litros de cerveja são gerados 20 kg do bagaço com 70 a 80% de umidade, isso equivale a uma produção média de 2,82 milhões

de toneladas do material por ano no Brasil, ou, em média de 0,71 milhões de toneladas do resíduo seco, se for considerada a produção total de cerveja em 2016 (MASSARDI; MASSINI; SILVA; 2020). A maior parte deste montante é destinada à alimentação animal (bovinos, suínos, aves e caprinos) (MELLO *et al.*, 2016). Seu uso como alimento, é melhorado significativamente quando o resíduo é seco, o que diminui seu volume e gera menor custo de transporte e armazenamento (SANTOS *et al.*, 2002).

O resíduo da cerveja apresenta elevados teores de fibras e proteínas em sua composição e sua capacidade tecnológica está ligada a seus principais componentes (MELLO *et al.*, 2013). Sua composição química pode variar de acordo com o tipo de cevada utilizada, seu tempo de colheita, as condições de malteação e mosturação (SANTOS *et al.*, 2003).

A substituição parcial da farinha de trigo em produtos de panificação por farinhas produzidas a partir de subprodutos agroindustriais apresenta grande importância do ponto de vista econômico, ambiental e nutricional. A fabricação de uma farinha produzida através do bagaço de malte pode ser utilizada no processo de panificação ou como complemento alimentar de outros alimentos (PANZARINI *et al.*, 2014).

À vista disso, este capítulo versa sobre aspectos relativos à produção de malte, subprodutos gerados pela indústria cervejeira, destacando o bagaço de malte e sua potencialidade de aplicação em produtos de panificação.

A cevada na produção de malte

No mundo, 68% da cevada produzida é destinada à alimentação animal, como forragem ou na fabricação de rações. No Brasil, a malteação tem sido a principal aplicação econômica da cevada, já que o país dispõe de outras opções mais vantajosas para a alimentação animal. A safra brasileira de cevada está estimada em 416 mil toneladas, as cultivares de cevada da Embrapa, presentes

em 70% da área de cultivo, favoreceram o bom desempenho das lavouras com sanidade e produtividade (EMBRAPA, 2020).

Entretanto, em função do clima subtropical adverso à produção de cereais de inverno no Brasil, as frustrações de safra também são recorrentes na cevada. O principal desafio é a chuva na colheita, que afeta o teor de germinação dos grãos da cevada cervejeira, desqualificando o produto para a indústria de malte. Nestas condições, os grãos são destinados à alimentação animal, remunerados com, no máximo, 50% do valor da cevada com padrão cervejeiro. No mundo, 2/3 da cevada produzida tem como destino a alimentação animal (MINELLA, 2018).

A cevada malteada, ou malte, é uma das principais matérias primas usadas na fabricação de cerveja (PADIA, 2018), nativa de climas temperados, cujos grãos são muito similares aos do trigo (BEZERRA *et al.*, 2020). De acordo com a Instrução Normativa N°11, de 13 de março de 2013 (BRASIL, 2013), malte de cevada ou cevada malteada é o produto resultante da germinação forçada e controlada, sob condições especiais de umidade e temperatura da cevada do gênero *Hordeum spp.* e posterior secagem.

A malteação é o processo que transforma o amido em açúcares como maltose e glicose na primeira etapa de elaboração da bebida e tem como principal objetivo obter enzimas que provocam modificações nas substâncias armazenadas no grão (FERREIRA, 2017). O termo técnico malte define a matéria-prima resultada da germinação, sob condições controladas, de qualquer cereal (VENTURINI, 2016), e é a principal fonte de açúcar utilizada para produção de álcool e gás carbônico pela ação da levedura (BEZERRA *et al.*, 2020). Na maceração, a cevada é colocada em água por 48h, à temperatura entre 5 e 18°C, até alcançar entre 42 e 48% de umidade para induzir a germinação dos grãos. A germinação ocorre sob fluxo de ar úmido em condições controladas de temperatura (15 a 21°C), sendo formadas e ativadas as principais enzimas do malte, tais como amilases, proteases e glucanases. Posteriormente, a semente germinada, malte de cevada, é submetida à secagem em

temperatura entre 40 a 60°C até obter um teor de umidade de 4 a 5% para assim evitar contaminações (COSTA, 2019).

Bagaço de malte

Na produção de cerveja, de todos os resíduos gerados, 85% deles correspondem ao bagaço de malte (MARIA *et al.*, 2019) que ganha destaque por ser o principal subproduto deste processamento, ainda tem-se a levedura residual e o *trub* quente (NOCENTE *et al.*, 2019). O bagaço de malte provém da obtenção do mosto cervejeiro pela fervura do malte e após filtração, sendo caracterizado por alta carga poluidora se descartado de maneira incorreta pela indústria cervejeira.

Este subproduto se encontra disponível o ano inteiro em grandes quantidades e a um baixo custo. É destinado normalmente para ração animal, porém devido a sua composição nutricional é uma boa opção na alimentação humana, podendo substituir parcialmente a farinha de trigo ou como complemento alimentar (RECH; ZORZAN, 2017).

A composição química do bagaço de malte pode variar de acordo com o tipo de cereal (cevada, trigo e outros) utilizado, seu tempo de colheita, as condições de malteação e mosturação a que este subproduto foi submetido (MELO; MANFIO; DA ROSA, 2016).

O bagaço de malte apresenta aparência pastosa e granulometria grossa (FERREIRA, 2017), é rico em fibras (70%) e proteínas (20%), contém cerca de 80% de umidade. Da composição de fibras, as insolúveis se destacam pelas propriedades importantes na inibição do LDL-colesterol, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, também auxilia no aumento do bolo fecal, reduzem o tempo de trânsito gastrointestinal e têm efeito direto na melhoria de casos de constipação intestinal (NELSON, 2001). As fibras quando utilizadas nas quantidades adequadas são

de grande importância para os seres humanos, pois auxiliam no bem estar tanto psicológico quanto físico.

Em relação a outros componentes, o bagaço de malte apresenta seu perfil lipídico composto majoritariamente de ácidos graxos insaturados, além de compostos bioativos como os flavonoides e o ácido fenólico (GLÜBER; GURAK, 2020), possuindo desta maneira atividade antioxidante. Apresenta ainda vitamina E, vitaminas do complexo B, hemicelulose (20 a 25%), celulose (12 a 25%), além de lignina (12 a 28%) e cinzas em menores proporções (2 a 5%). Os monossacarídeos, que podem ser encontrados, são xilose, glucose e arabinose, assim como traços de ramnose e galactose (ARNAUT, 2019).

Os polissacarídeos no bagaço de malte são representados por celulose (formada por unidades repetitivas de β -d-glucopirranose) e hemicelulose (heteropolímero formado por açúcares não celulósicos tais como manose, xilose, galactose e arabinose) e compreendem quase 45% do peso seco total (RAVINDRAN *et al.*, 2018).

Uma proporção significativa de arabinoxilano extraível em água que entra no intestino grosso pode atuar como um prebiótico, sendo fermentado pela microbiota do intestino. De acordo com a Comissão da União Europeia a lignina é incluída como componente da fibra alimentar quando permanece intimamente associada aos polissacarídeos das plantas originais. Outra fibra importante presente é β -glucano (LYNCH; STEFFEN; ARENDT, 2016), que é um polissacarídeo de fibra solúvel e de cadeia longa com monômeros de D-glicose conectados por meio de ligações β - glicosídicas (1,3) e (1,4) encontradas, principalmente, no endosperma do núcleo. Muitos grãos de cereais contêm β -glucano, mas quantidades significativas são encontradas na cevada (2 a 20%) e na aveia (3 a 8%), o que supostamente proporciona os benefícios à saúde associados a ambos os grãos (MAHESHWARI; SOWRIRAJAN; JOSEPH, 2017).

Antioxidantes naturais são encontrados no bagaço de malte, segundo Mussato (2014) estes representam uma alternativa barata

aos antioxidantes sintéticos. Os Flavonóides, como uma classe de compostos fenólicos, também estão presentes no bagaço de malte (FARCAS *et al.*, 2015). Uma vez que a maioria dos compostos fenólicos do grão de cevada está contida na casca e os ácidos hidroxicinâmicos se acumulam nas paredes celulares, o bagaço de malte é uma fonte potencialmente valiosa de ácidos fenólicos (MUSSATO, 2014). O ácido ferúlico e o p-cumárico são os ácidos fenólicos mais abundantes estando presentes em concentrações que variam de 1860 a 1948 mg/g e de 565 a 794 mg/g, respectivamente, sendo os próximos mais expressivos os ácidos cafeico e síringico (MCCARTHY *et al.*, 2013).

Das proteínas, as mais abundantes são hordeínas, glutelinas, globulinas e albuminas. Os aminoácidos essenciais representam cerca de 30% do total de proteínas, sendo a lisina o mais abundante. Os sais minerais mais comuns são o silício, fósforo, cálcio e magnésio (LYNCH *et al.*, 2016).

Devido ao elevado teor de umidade, significativo valor nutricional e presença de açúcares fermentescíveis residuais, o bagaço de malte é muito instável e suscetível à contaminação microbiana, principalmente por fungos filamentosos, devendo ser eliminado da cervejaria prontamente (PADIA, 2018) ou ser submetido à secagem, visando a sua conservação e direcionando a aplicação industrial.

Panificação no Brasil

No Brasil, o setor de panificação tem se fortalecido cada vez mais. Com a implantação de novas tecnologias, técnicas de preparo e execução e investimentos em cursos de aperfeiçoamento, os profissionais do setor têm conseguido resultados crescentes para a economia (ABIP, 2020).

A panificação está entre os maiores segmentos da indústria do Brasil, segundo dados do Programa de Desenvolvimento da Alimentação, Confeitaria e Panificação – PROPAN (2019) estima-

se que o Brasil possui 70 mil panificadoras e 750 indústrias de pães, gerando cerca de 800 mil empregos diretos e faturando acima de R\$ 58 bilhões por ano.

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria – ABIP (2018), as padarias artesanais são responsáveis por 79% da produção de produtos de panificação, as padarias industriais por 14% e as de supermercados pelos 7% restantes.

A panificação utiliza diversos cereais, mas se baseia quase totalmente na farinha de trigo (ARNAUT, 2019). A Abitriço (2020) aponta que a demanda do trigo no país é de 12 milhões de toneladas quando o país produz em torno de 6 milhões de toneladas por ano, esse seria o então principal motivo das importações do trigo.

A Abitriço (2020) aponta ainda que o grão produzido aqui no Brasil tem menos concentração de glúten do que o produzido em solo Argentino (Argentina é o principal fornecedor de trigo), por exemplo, o que significa que mesmo que o Brasil produzisse mais de 11 milhões de toneladas por ano ainda assim teria de importar o produto.

A panificação tem conseguido se reinventar constantemente, vivendo momentos de transformação de comportamentos para alcançar novos e mais clientes com o desenvolvimento de produtos inovadores e atraentes. Os produtos de panificação vêm sendo amplamente utilizados como veículo para adição de farinhas obtidas de subprodutos (ARNAUT, 2019). A introdução do bagaço cervejeiro na alimentação humana, como alternativa de reutilizá-lo, é também uma opção de enriquecimento da alimentação, visto que este carrega consigo uma rica quantidade de nutrientes (BASSO; LAVICH, 2016).

Potencial utilização do bagaço de malte na panificação

As mudanças nos hábitos de consumo das populações vêm criando tendências dentro da indústria de alimentos. A utilização de ingredientes obtidos de subprodutos da indústria vem sendo cada vez mais incentivada por conta de seu potencial nutricional, ganho econômico e como forma de evitar as barreiras encontradas para a realização do descarte adequado (TONON, 2019).

De acordo com Padia (2018), a busca por matérias-primas capazes de enriquecer produtos industrializados com proteínas e fibras associado às restrições econômicas e exigências comerciais não param de crescer, além da necessidade de consumo e hábitos alimentares mais específicos, o bagaço de malte aparece como um material com grande potencial para a produção de novos alimentos com essas características.

Atualmente a indústria vem buscando desenvolver alimentos diferenciados e inovadores para atender os consumidores cada vez mais exigentes de forma a aprimorar a produção sem agredir o meio ambiente que também vem ganhando atenção por parte das indústrias. Dessa maneira, com preocupação quanto ao futuro das novas gerações, o termo sustentabilidade vem crescendo com o intuito de realizar ações para atender os consumidores da melhor forma possível e cuidar do meio ambiente.

Segundo Rigo *et al.* (2017), a inovação de produtos com qualidade sensorial e nutricional que apresentem benefícios associados à saúde tem sido de suma importância para a sobrevivência das indústrias alimentícias no Brasil, onde desenvolvem novos produtos, visando atender a demanda dos consumidores por alimentos que promovam saúde, bem-estar e a prevenção do risco de doenças.

A utilização de farinhas mistas para elaboração de novos produtos na área de panificação, com utilização de componentes que incrementem os teores de fibras e/ou proteínas, ou possua algum componente funcional no produto final tem sido alvo de

investigação de alguns pesquisadores (MORGUETE *et al.*, 2011; KETENIOUDAKI *et. al.*, 2015).

Neste contexto, os principais componentes do bagaço de malte, que são de interesse em relação aos potenciais benefícios para a saúde, são os componentes de fibra alimentar (por exemplo, Arabinoxilano, β -glucanos) e fenólicos (por exemplo, ácido hidroxicinâmico). A fração proteica também é interessante devido ao seu conteúdo relativamente elevado de aminoácidos essenciais, como a lisina, em comparação com outros produtos de cereais (LYNCH; STEFFEN; ARENDT, 2016).

Os subprodutos ricos em fibras e compostos bioativos são muito interessantes para os processadores de alimentos, especialmente porque os consumidores preferem suplementos naturais, temendo que os ingredientes sintéticos possam ser a fonte de toxicidade. Estes subprodutos podem ser incorporados em produtos alimentares como em substituição parcial de farinha, gordura ou açúcar, como potenciadores da retenção de água e óleo e para melhorar a emulsão ou estabilizações oxidativas. No entanto, a porcentagem de fibra que pode ser adicionada é limitada, pois pode causar alterações indesejáveis na cor e na textura dos alimentos (ELLEUCH *et al.*, 2011).

A aplicação do bagaço de malte na alimentação humana já possui diversos estudos. Praticamente todos seguem o processo de secagem do produto e posterior moagem, não apenas para redução de granulometria, mas também para melhorar a aceitação do produto por parte dos consumidores (ARNAUT, 2019). A utilização da farinha de bagaço de malte como substituto parcial da farinha de trigo torna-se promissor para grupos de consumidores com carências nutricionais, pois a farinha apresenta maiores teores de cinzas, proteínas, lipídios, fibras e compostos fenólicos, em comparação à farinha de trigo (COSTA, 2019; BEZERRA *et al.*, 2020) e pode ser utilizado em diversos produtos como em biscoitos, pães, bolos, *cookies*, *grissinis* e massas alimentícias.

O trabalho de Cappa; Alamprese (2017) demonstrou que, utilizando ovo em pó é possível valorizar o bagaço de malte na produção de uma massa de ovos frescos de valor agregado que pode ser reivindicada como “fonte de fibra”. Nocente *et al.* (2019) utilizaram do bagaço de malte para enriquecer a semolina e desenvolver massas secas de macarrão com um potencial nutricional melhor. Estes pesquisadores adicionaram 5, 10 e 20% de bagaço de malte à sêmola de trigo. O macarrão enriquecido mostrou aumento de até 135% na fibra, 85% em β -glucana e 19% em capacidade antioxidante total e não houve diferença significativa nas propriedades sensoriais da massa cozida (COSTA, 2019).

Alguns estudos evidenciam a potencialidade de utilização dos resíduos da indústria cervejeira em formulações de bolos e/ou *cup cake*. Panzarini *et al.* (2014) elaboraram bolo de mel enriquecido com fibras do bagaço da indústria cervejeira, os autores obtiveram resultados satisfatórios quanto à aceitabilidade do produto. Giuliani *et al.* (2019) enriqueceram formulação de bolo com fibras utilizando 25, 50 e 75% de bagaço de malte, sendo a formulação com 50% de bagaço de malte foi a que apresentou maior índice de aceitação (90%).

Rech; Zorzan (2017) aproveitaram a farinhas de bagaço de malte de cevada e a levedura residual cervejeira na elaboração de *cup cake*, sendo que a formulação com 84% farinha de trigo, 8% farinha de bagaço de malte e 8% farinha de levedura residual foi à preferida pelos consumidores, sendo alimento classificado com alto conteúdo de fibras (19,2%) e teor de proteína de 5,43%.

Monteiro (2019) a partir da farinha do bagaço de malte desenvolveu três formulações de bolos de chocolate com 25, 50 e 100% da farinha do subproduto, sendo que formulações não foram significativas para fibras, com teores de 15,40, 12,49 e 10,17%, respectivamente. Para as proteínas a formulação com 100% apresentou maior valor com 12,17%. Na avaliação sensorial houve aceitação pelos provadores, sendo que a formulação com 25% foi classificada como “gostei muito” e com 50 e 100%, como “gostei moderadamente” e “ligeiramente”, respectivamente.

O bagaço de malte, também, já foi utilizado em formulações de diferentes biscoitos. Rigo *et al.* (2017) evidenciaram que biscoitos tipo *cookie* foram melhores aceitos nos atributos de textura e aceitação global do que a formulação padrão, sugeriram assim a viabilidade de produção destes biscoitos com 10, 20 e 30% da farinha em substituição parcial à farinha de trigo, com qualidade sensorial e nutricional.

Segundo Weege *et al.* (2017), ao adicionarem 14% de bagaço de malte em formulação de *cookie*, verificaram incremento no teor de proteínas (7,75%) e polifenóis (0,28mg/kg), este associado a ação antioxidante. Em outro estudo, Wust (2018) elaborou formulações de *cookies* com 100% farinha de trigo, 25 (F2), 50 (F3), 75 (F4) e 100% de farinha de bagaço de malte (F5), sendo que a adição de farinha de bagaço de malte nos *cookies* aumentou os teores de cinzas (1,21% - F2; 2,09% - F5), fibras (6,45% - F2; 10,58% - F5), proteínas (9,571% - F2; 11,619% - F5) e firmeza (78,35 N - F2; 168,81N - F5) dos biscoitos, conforme aumentou a proporção da farinha de malte, sendo que a formulação com 100% de farinha de bagaço de malte foi a que apresentou menor volume específico (1,93 mL/g). Daniel *et al.* (2018), também, elaboraram e avaliaram sensorialmente biscoito tipo *cookie* com subproduto e verificaram que os resultados apresentaram boa aceitabilidade e intenção de compra nas formulações com bagaço de malte. Já Ferreira (2017) elaborou biscoitos com 10, 30 e 50% de bagaço de malte, sendo que o produto com melhor aceitação (81%) foi o biscoito com 10% de bagaço de malte.

Recentemente, Glüger; Gurak (2020) empregaram 25 e 50% de farinha de bagaço de malte em substituição à farinha de trigo em formulações de biscoito e verificaram aumento no teor de cinzas, proteínas e lipídios e diminuição do teor de umidade, carboidratos e, também, uma alteração sensorial no produto a medida que aumentava-se a concentração de bagaço de malte, sendo que com 25% obteve maior aceitabilidade (>70%) quando comparada aos biscoitos com 50%.

Além disso, o bagaço de malte pode ser usado como ingrediente na formulação de lanches extrusados e barra de cereal, e desta forma gerando produtos ricos em antioxidantes, fibras e com baixos índices glicêmicos (REIS; ABU GHANNAM, 2014). Ktenioudaki *et al.* (2013) ao formularem *snacks* com farinha de bagaço de malte, verificaram alteração do perfil de odor no produto, porém os resultados sensoriais indicaram que os lanches contendo 10% eram altamente aceitáveis e ressaltavam a possibilidade de usá-lo como ingrediente de panificação. Capelezzo *et al.* (2020) elaboraram uma barra de cereal adicionando resíduo do processo de produção de cerveja e a formulação contém bagaço de malte da cerveja tipo Pilsen desidratado (30,0%), coco ralado (8,7%), uva passa (12,6%), melado (17,1%), pasta de amendoim (14,9%) e castanha-do-Pará (16,7%), apresentou características promissoras, como o alto teor de proteínas (6,60%) e baixo teor de carboidratos (54,89%), quando comparado com barras cereais comerciais.

Recentemente Farago *et al.* (2021) desenvolveram barras de cereais formuladas com bagaço de malte e maçã desidratada (5 a 30%) e *Spirulina platensis* (2,5%), nos quais avaliaram características nutricionais, atividade antioxidante e efeito antiglicêmico. Através da análise da composição proximal, propriedades físicas e sensoriais, verificaram que a adição de farinha de bagaço de malte (1,44 e 1,09 mm) proporcionaram aumento na concentração de fibras alimentares totais, proteínas e cinzas nas barras de cereais. O índice de aceitabilidade foi superior a 70% para as formulações que continham maior percentual de maçã desidratada. A formulação com *S. platensis* apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos (124,28 mg GAE/100g), quando comparada com barra de cereal comercial, além de 22.47 g/100g de fibras alimentares, os quais auxiliaram na redução da resposta glicêmica.

O bagaço de malte apresenta potencialidade de aplicação na formulação de pães, substituindo-se parcialmente a farinha de trigo. Mattos (2010) investigou a fabricação de pão de forma empregando 30% de bagaço de malte úmido em sua formulação, cuja análise sensorial do pão produzido com o bagaço apresentou

índice de aceitação maior do que 80% e um teor de fibras de 4,51%. Em outro estudo de aceitabilidade sensorial de pão de forma, Santos *et al.* (2015), substituíram parcialmente a farinha de trigo por bagaço de malte (20, 30 e 40%) e gérmen de trigo, sendo que as formulações apresentaram índices de aceitabilidade superior a 70% e quanto à intenção de compra, a formulação com 30% apresentou 77,96% nas respostas “provavelmente compraria” e “certamente compraria”.

Arnaut (2019) desenvolveu pães enriquecidos com diferentes proporções de farinha de bagaço de malte de 5, 10 e 15%. A interseção entre sabores e texturas sugere que a melhor aceitação se dará com um pão formulado com bagaço de malte adicionado entre 5 e 10% do peso de farinha de trigo. Já, Kuiavski *et al.* (2020), em estudo similar concluíram que houve uma maior aceitação do pão com acréscimo de 20% do bagaço de malte.

Tombini *et al.* (2020) formularam pães integrais com 30% de farinha de bagaço de malte do tipo Porter e Pilsen e verificaram valores importantes nutricionalmente, com atenção para fibras, que variou de 2,15 a 2,20% para Porter e Pilsen e proteínas, de 9,31 a 11%, respectivamente. Na análise sensorial não houve diferença estatística na avaliação da aceitabilidade, sendo que os pães obtiveram notas médias acima de 6 (gostei ligeiramente) e a intenção de compra demonstrou que 37% dos julgadores comprariam ambos os produtos elaborados.

Frente ao exposto, é notável que o bagaço de malte está ganhando importância industrial, na formulação de novos produtos de valor agregado e com funcionalidade, e desta forma valorizando o subproduto e tornando-se benéfico do ponto de vista econômico, ambiental e nutricional.

Considerações finais

A utilização do bagaço em produtos da alimentação humana tem despertado interesse de pesquisadores e principalmente do setor

de panificação, podendo ser utilizado para substituir parcialmente a farinha de trigo ou como complemento alimentar, na elaboração de biscoitos, pães, bolos, *cookies*, *grissinis*, *snack* extrusado, barra de cereal, massas alimentícias e outros.

A transformação do bagaço de malte em ingrediente alimentar na elaboração de uma farinha com características funcionais representa uma boa estratégia, principalmente para microcervejarias. Além de evitar o desperdício dos nutrientes contidos no bagaço de malte, é uma alternativa viável para valorização do subproduto cervejeiro, de destino adequado para o mesmo e desta forma evitando danos ao meio ambiente.

Referências

ABIP. Indicadores da Panificação e Confeitaria Brasileira.

Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria – ABIP, 2020. Disponível em: <https://www.abip.org.br>. Acesso em: 26 de mar. 2021.

ABITRIGO. Exportação de farinha de trigo. Exportação de trigo. Importação de farinha de trigo. Importação de trigo.

Associação Brasileira da Indústria do Trigo – ABITRIGO, 2020. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br>. Acesso em: 26 de mar. 2020.

ARNAUT, A. N. Desenvolvimento e avaliação de pão de fermentação natural enriquecido com farinha de bagaço de malte. **Relatório de Estágio Supervisionado** (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

BASSO, B. P.; LAVINCH, C. Produtos de panificação elaborados com bagaço cervejeiro. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 254 - 255, p. 128-133, 2016.

BEZERRA, J. R. M. V.; RIGO, M.; TEIXEIRA, Â. M.; KUIAVSKI, M. P. Elaboração de pães com adição de farinha do bagaço de malte. **Brazilian Journal Development**, v. 6, n. 7, p. 53208-53221, 2020.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 11**, de 13 de março de 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&data=14/03/2013&pagina=5>. Acesso em: 16 jun. 2021.

CAPELEZZO, L; DALL AGNOL, J.; TOMBINI, C.; GODOY, J. S.; ONOFRE, S. B.; MACHADO-JUNIOR, F. R. S.; DE MELLO, J. M. M.; DALCANTON. F. Elaboração e avaliação físico-química de uma barra de cereal utilizando resíduo cervejeiro. **Brazilian Journal of health Review**, v. 3, n. 3, p. 5107-5121, 2020.

CAPPA, C.; ALAMPRESE, C. Brewer's spent grain valorization in fiber-enriched fresh egg pasta production: Modelling and optimization study. **Food Science and Technology**, v. 82, p. 464-470, 2017.

COSTA, G. M.; LOUZADA, M. H.; QUEIROZ, I. C.; SILVA, V. R. O. Elaboração e caracterização físico-química de farinha de bagaço de malte. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 1, n. 2, p. 11- 25, 2019.

DANIEL, A. P.; ALVES, A. F.; GIULIANI, C. S.; CIROLINI, A.; ROSA, V.P. Biscoitos tipo *cookies* elaborados com subprodutos de cerveja artesanal. In: **6º Simpósio de Segurança Alimentar**. FAURGS. Gramado. Disponível em: http://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/192_arqnovoo.pdf. Acesso em: 02 abr. 2020.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; ESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fiber and fiber-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 411-421, 2011.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** – Embrapa, 2020. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 27 mar. 2020.

FARAGO, C. V.; MELO, G. B. de.; ESCHER, G. B.; MARCON, M. V.; GRANATO, D.; DANESI, E. D. G. Cereal bars made from brewers' spent grain, apple and *Spirulina platensis*: antioxidant activity and antihyperglycaemic effects. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e23910514997, 2021. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14997>. Acesso em: 11 jun. 2021.

FARCAS, A. C.; SONIA, A.; SOCACI, S. A.; DULF, F. V., TOFANA, M.; MUDURA, E.; DIACONEASA, Z. Volatile profile, fatty acids composition and total phenolics content of brewers' spent grain by-product with potential use in the development of new functional foods. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 34-42, 2015.

FERREIRA, M. S. B. Elaboração de biscoito integral empregando resíduo da indústria cervejeira na formulação. 2017. 58 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Santa Catarina, 2017.

GIULIANI, C. dos S; ALVES, A. F.; CIROLINI, A.; ROSA, da V. P. Elaboração de bolo enriquecido com fibras a partir da utilização de resíduo de cervejaria. **Brazilian Journal Development**, v. 5, n. 9, p. 15301-15316, 2019.

GLÜGER, D. H.; GURAK, D. P. Desenvolvimento de biscoitos salgados com o uso de subprodutos da indústria de cerveja. **Segurança Alimentar**, v. 27, p. 1-12, e.020023, 2020.

KTENIOUDAKI, A.; ALVAREZ-JUBETE, L.; SMYTH, T.S.; KILCAWLEY, K.; RAI, D. K.; GALLAGHER, E. Application of bioprocessing techniques (sourdough fermentation and technological aids) for brewer's spent grain breads. **Food Research International**, v. 73, p. 107-116, 2015.

KTENIOUDAKI, A.; CROFTON, E.; SCANNELL, A. G.; HANNON, J. A.; KILCAWLEY, K. N.; GALLAGHER, E. Sensory properties and aromatic composition of baked snacks containing brewer's spent grain. **Journal of Cereal Science**, v. 57, p. 384-390, 2013.

LYNCH, K. M.; STEFFEN, E. J.; ARENDT, E. K.; Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. **Journal of The Institute of Brewing**, v. 122, n. 4, p. 553-568, 2016.

MAHESHWARI, G.; SOWRIRAJAN, S.; JOSEPH, B. Extraction and isolation of β -glucan from grain sources – A review. **Journal of Food Science**, v. 82, p. 1535–1545, 2017.

MANFIO, M.; MELO, Â. A.; ROSA, da C. S. Composição e propriedades tecnológicas da farinha do resíduo da fermentação da cerveja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 18, n. 1, p. 91-95, 2016.

MARIA, C. P.; QUAST, L. B.; QUAST, E. Valorização de subproduto da produção artesanal de cerveja. **In: X Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica**. Universidade Federal da Fronteira Sul. 2019.

MASSARDI, M. M.; MASSINI, R. M. M.; SILVA, D. J. Caracterização química do bagaço de malte e avaliação do seu potencial para obtenção de produto com valor agregado. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 6, n. 1, p. 0083-0091, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/ojs/jcec>. Acesso em: 12 maio 2021.

MATTOS, C. Desenvolvimento de um pão fonte de fibras a partir do bagaço de malte. 2010. 40 f. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2010. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MCCARTHY, A. L.; O'CALLAGHAN, Y.; PIGGOTT, C.; FITZGERALD, R.; O'BRIEN, N. Brewers' spent grain; bioactivity of phenolic component, its role in animal nutrition and potential for incorporation in functional foods: A review. **Proceedings of The Nutrition Society**, v. 72, p. 117–125, 2013.

MELLO L. R. P. F.; VERGÍLIO, R. M.; MALI, S. Caracterização

Química e Funcional do Resíduo Fibroso da Indústria Cervejeira. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3, p. 191-194, 2013.

MINELLA, E. **Cevada brasileira: situação e perspectivas**. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co23.htm. Acesso em: 11 jun. 2021.

MONTEIRO, G. L. Avaliação físico-química e sensorial de bolo de chocolate enriquecido com resíduos do malte da indústria cervejeira. 2019. 58 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2019.

MORGUETE, E. M.; BEZERRA, J. R. M. V.; CORDOVA, K. R. V.; RIGO. Elaboração de pães com adição de farelo de soja. **Ambiência** (UNICENTRO), v. 7, N. 3, p. 481-488, 2011.

MUSSATTO, S.I., Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 7, p. 1264-1275, 2014.

NELSON, A. L. **Higher fiber ingredients; Eagan press handbook series**. St. Paul: Eagan Press, 2001.

NOCENTE, F.; TADDEI, F.; GALASSI, E., GAZZA, L. Upcycling of brewers spent grain by production of dry pasta with higher nutritional potential. **Food Science and Tecnology**, v. 114, p. 108421, 2019.

PADIA, M. L. B. Cookie funcional com bagaço de malte uma nova proposta quando comparado ao industrializado. 2018. 62 f. **Monografia** (Graduação) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Unijuí, Ijuí, 2018.

PANZARINI, N. H.; RABBERS, A.; TRINDADE, J. L. F. da; MATOS, E. A. S. A. de; CANTERI, M. H. G.; BITTENCOURT, J. V. M. Elaboração de Bolo de Mel Enriquecido com Fibras do Bagaço da Indústria Cervejeira. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1154-1164, 2014.

PROPAN. Programa de Desenvolvimento da Alimentação, Confeitaria e Panificação – PROPAN. **Indicadores: Desempenho das Panificadoras e Confeitarias Brasileiras.** Disponível em: <http://www.propan.com.br>. Acesso em: 2 abr. 2021.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; ABU-GHANNAM, N.; JAISWAL, A.K. A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 272-279, 2018.

RECH, K. P.; ZORZAN, V. Aproveitamento de resíduos da indústria cervejeira na elaboração de cupcake. 2017. 44 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Francisco Beltrão, 2017.

REIS, S. F.; ABU-GHANNAM, N. Antioxidant capacity, arabinoxylans content and *in vitro* glycaemic index of cereal-based snacks incorporated with brewer's spent grain. **Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 269-277, 2014.

SANTOS, A.S.; MEZZOMO, A.; TELES, C.D. Desenvolvimento de pão de forma com bagaço de malte e gérmen de trigo. In: **Simpósio de Segurança Alimentar Alimentação e Saúde**, Bento Gonçalves, 2015.

SANTOS, M.; JIMÉNEZ, J. J.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; DEL NOZAL, M. J. Variability of brewer's spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, p. 17-21, 2002.

TOMBINI, C.; AGNOL, J. D.; CAPELEZZO, L.; GODOY, J. S.; MACHADO JUNIOR, F. R. da S.; LAJÚS, C. R.; MELLO, J. M. M. de.; DALCANTON, F. Development, physico-chemical characterization and sensory analysis of whole grain breads added from Pilsen and Porter style brewing residue. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e499119274, 2020. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/9274>. Acesso em: 11 jun. 2021.

TONON, G. C. Desenvolvimento e avaliação sensorial de cookie integral adicionado de farinha de uva e óleo de semente de uva. 2019. 39 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Campo Mourão, 2019.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2016.

WEEGE, K. A.; WARMLING, B. R.; SOUZA, C. K.; CARVALHO, L. F. Desenvolvimento e Características Nutricionais de Cookie de Canela com Adição de Bagaço de Malte Tipo Weizen. **Revista Processos Químicos**, v. 11, n. 22, p. 35-40, 2017. DOI: <https://doi.org/10.19142/rpq.v11i22.404>

WUST, D. M. Elaboração e caracterização de biscoito tipo cookie com bagaço de malte proveniente da elaboração de cerveja artesanal. 2018. 27 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação) – Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados, 2018.

NANOSENSORES E BIOSENSORES PARA DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM ÁGUA: UMA REVISÃO

Jovani Secretti¹, Clarice Steffens²

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Química (URI) - jovanisecretti@gmail.com

²Profª. Drª. do Curso de Engenharia Química (URI) - clarices@uricer.edu.br

Resumo: Este artigo fornece uma revisão dos trabalhos mais recentes em nanosensores e biosensores usados para detecção de traços de contaminantes ambientais como os metais pesados. O foco do mesmo está nas aplicações dos dispositivos na detecção dos contaminantes em matrizes de água, fazendo uma abordagem dos diferentes nanosensores e biosensores, apresentando suas classificações, funcionalização e principais aplicações para detecção de diferentes metais pesados. Sendo uma forma alternativa e simples de sensoriamento de contaminantes, e mais econômica quando comparado à métodos tradicionais, podendo atingir limites de detecção na faixa de partes por trilhão.

Palavras-chave: Nanosensores. Grafeno. Contaminantes ambientais. Água de rio.

Introdução

O planeta terra está encoberto com 71% de água, o que equivale à 1,4 bilhões de km³. No entanto, apenas 0,3%, ou seja, 105 mil km³ corresponde à água potável presente em rios e lagos, sendo está utilizada para o consumo humano e de animais (GRABOSKI *et al.*, 2020; MUENCHEN *et al.*, 2016). Diante destes dados, fica a preocupação do uso consciente e em manter a potabilidade da água aplicando e desenvolvendo métodos de tratamento e detecção de poluentes tanto da água

para o consumo humano quanto para os efluentes gerados pelas indústrias, área urbanas e rurais.

Os maiores contaminantes presentes em recursos hídricos são os metais pesados como: Pb, As, Cd, Hg, Cr, Ni, Fe, entre outros. A contaminação se deve principalmente com a liberação de efluentes sem tratamento ou com tratamento deficiente por parte das indústrias e prestadoras de serviços, muitas vezes por não haver um controle e monitoramento da qualidade da água antes de ser drenada para córregos ou rios. Os métodos de detecção de metais pesados são caros e necessitam de equipamentos sofisticados para fazer análises qualitativas e quantitativas dos metais presentes na amostra. Os equipamentos para este fim, geralmente estão presentes em laboratórios de empresas especializadas ou universidades, compreendendo métodos por espectrometria de absorção atômica com chama (*FAAS - do inglês Flame Atomic Absorption Spectrometry*), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (*GF AAS - do inglês Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (*ICP-AES - do inglês Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry*) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (*ICP-MS - do inglês Inductively coupled plasma mass spectrometry*) (HALKARE *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019).

Métodos alternativos estão sendo desenvolvidos e empregados por pesquisadores para fazer detecção dos metais pesados, utilizando nanosensores e nanobiosensores de cantileveres fabricados de silício ou nitretos de silício revestidos com uma fina camada de um elemento sensível, o qual vai interagir com o meio provocando uma deflexão ou vibração no cantilever, a qual será detectada e medida, apresentando um resultado que poderá ser convertido, baseado em parâmetros, em um dado experimental (RIGO *et al.*, 2019, 2020).

Neste sentido, este estudo busca apresentar biosensores e nanosensores com diferentes camadas sensoras aplicados na detecção de metais pesados em amostras de água, sendo uma

alternativa aos métodos tradicionais supracitados. A fim de ser um método de análise alternativo e simples que poderá ser empregado por empresas para fazer o monitoramento do efluente gerado, tendo assim um controle mais eficiente para evitar a contaminação de água com metais pesados.

Referencial teórico

Contaminação da água por metais pesados

A contaminação da água por metais pesados é um problema grave e que necessita de monitoramento e tratamento dos recursos hídricos. Mesmo encontrando apenas traços destes metais, o efeito de muitos deles é tóxico e causa graves problemas à saúde dos seres humanos e dos animais. Segundo estudos realizados por Sankhla *et al.* (2016), a intoxicação por metais pesados pode causar danos ao sistema nervoso central, cardiovascular, gastrointestinal, pulmões, rins, fígado, glândulas endócrinas e ossos. A contaminação de águas superficiais por metais pesados ocorre no meio ambiente pelos processos naturais, atividades industriais, especialmente das áreas de galvanoplastia, fundição de metal e química, além de águas residuais domésticas e agrícolas não tratadas adequadamente.

Os metais pesados são conhecidos por sua meia vida prolongada, não biodegradabilidade e seu potencial de acumulação em diferentes partes do organismo humano (WAHEED; MANSHA; ULLAH, 2018). O controle de possíveis substâncias na água requer monitoramento eficaz para manter ou restaurar o bom estado químico e ecológico.

Legislações e níveis permitidos

Os valores de potabilidade e limites máximos permitidos para emissão de metais pesados em efluentes são controlados por órgãos ambientais. No Brasil, pela resolução do CONAMA nº 397 de 3 de abril de 2008, pela Portaria nº 518 de 25 de março

de 2004 e da Portaria no 2.914 de 12 de dezembro de 2011, ambas do Ministério da Saúde e a nível mundial pela Organização Mundial de Saúde (*WHO do inglês World Health Organization*) e a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (*EPA inglês United States Environmental Protection Agency*). Esses padrões variam de acordo com a classe e o tipo de água. Na Tabela 1 estão apresentados os valores máximos dos principais metais pesados em águas potáveis de acordo com a Resolução CONAMA nº 397 e WHO e EPA.

Tabela 1 - Padrões de Lançamentos de Efluentes conforme Resolução CONAMA nº 397, de 3 de abril de 2008; Resolução nº 357 de 17 de março de 2005; Organização Mundial da Saúde de 2011 e Agência de Proteção Ambiental dos EUA de 2018.

Organi- zação	Amostra	Limites recomendados para metais pesados (ppm)					
		Hg	Cd	Pb	Cr (hexavalente)	TI	Ni
WHO	Água potável	0,001	0,003	0,01	0,05	NG	0,02
	água residual (efluentes)	0,006	0,005	0,01	0,1	NG	0,07
US EPA	Água potável	0,002	0,005	0,05	0,1	0,013	0,02
	Padrões de qualidade da água de superfície	0,002	0,009	8,5	0,08	6,3	8,3
CONAMA	Água potável	0,0002	0,005	0,01	0,05	-	0,025
	água residual (efluentes)	0,01	0,2	0,5	0,1	-	2

Fonte: Geneva (2011); Estados Unidos (2018); Brasil (2005, 2008).

Metais pesados e suas características gerais

Os metais pesados são todos os metais que possuem uma densidade superior a 5 g/cm³, exceto Al, Na, Ca, Mg e K,

e representam uma ameaça ao meio ambiente mesmo em baixas concentrações, pois não são biodegradáveis. Por isso são tidos como vilões quando se trata de poluição ambiental. Os metais mais críticos que afetam o sistema de águas superficiais são Cd, Cr, Hg, Pb, As e Sb (GUMPUPU *et al.*, 2015).

Os metais e íons metálicos podem ser divididos em três grupos de acordo com sua toxicidade. O primeiro grupo compreende os metais que são tóxicos em concentrações extremamente baixas, como o Pb, Cd e Hg. O segundo grupo é composto pelos metais menos tóxicos, ou seja, são tóxicos apenas em concentrações maiores, são As, Bi, In, Sb e Tl. O terceiro grupo inclui os metais de importância essencial, como Cu, Zn, Co, Se e Fe, que são necessários para diferentes processos químicos e bioquímicos no corpo humano e são tóxicos apenas acima de uma determinada concentração (ODOBASIC, 2012).

Os efeitos tóxicos dos metais pesados podem ser o resultado de mudanças em vários processos fisiológicos no nível celular ou molecular, causado pela inativação da enzima. Também pode ocorrer como resultado do bloqueio de grupos funcionais de moléculas metabolicamente importantes ou por substituição de elementos essenciais e perturbação da integridade da membrana. Uma consequência bastante frequente do envenenamento por metais pesados, é a produção de espécies reativas de oxigênio devido à interferência com as atividades de transporte de elétrons, especialmente a membrana do cloroplasto (PAGLIANO *et al.*, 2006). Este aumento nas espécies reativas de oxigênio expõe as células ao estresse oxidativo, que leva à peroxidação de lipídios, dano biológico de macromoléculas, deterioração da membrana e divisão do DNA (QUARTACCI; COSI; NAVARI, 2001).

Os metais pesados podem penetrar no organismo na forma elementar, na forma de sal ou como compostos organometálicos, em que o processo de absorção, distribuição, deposição e eliminação depende da forma em que o metal está presente. Os metais são muito tóxicos porque estão na forma iônica ou dentro do composto,

solúveis em água e facilmente absorvidos por organismos vivos (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

A mobilidade dos metais pesados na água é particularmente afetada pelo pH da água, pela presença de formas hidratadas de Mn e Fe, pela concentração de carbonatos e fosfatos, bem como pelo conteúdo de matéria orgânica. Além disso, se o meio for muito ácido e com potencial redox aumentado, ocorre a mobilização de Cu e Pb e, nas condições de redução, os hidróxidos Mn e Fe são imobilizados (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

Na Tabela 2 estão apresentados os metais com sua faixa de toxicidade de acordo com a OMS e o Bureau padrão Indiano (BIS), bem como efeitos no organismo. As principais fontes dessas exposições são produtos cosméticos, automotivos, efluentes liberados de galvanoplastia e de várias outras indústrias.

Tabela 2 - Faixa de toxicidade dos metais pesados de acordo com a OMS e o Bureau padrão Indiano (BIS) e seus efeitos no organismo.

Metal	Limites da OMS (mg/L)	Limites do BIS (mg/L)	Fontes comuns	Efeitos
Pb	0,05	0,05	Tubos de PVC em saneamento, agricultura, tintas com chumbo, joalheria, chumbo de baterias, lancheiras, etc.	Penetra através da barreira hematoencefálica (BBB) e está provando ser um fator de risco para a doença de Alzheimer e demência senil. Também leva a doenças neurodegenerativas, danos nos rins, diminuição do crescimento ósseo, problemas comportamentais, ataxia, hiperirritabilidade e estupor.
Cd	0,005	0,01	Tintas, pigmentos, galvanizados, peças, baterias, plásticos, borracha sintética, fotográfica e processo de gravação, fotocondutores e células fotovoltaicas.	Toxicidade renal, hipertensão, perda de peso, fadiga, anemia microcítica hipocrômica, linfocitose, fibrose pulmonar, aterosclerose, neuropatia periférica, câncer de pulmão, osteomalácia, osteoporose e hiperuricemia.

Hg	0,001	0,001	Combustão de carvão, incineração de resíduos sólidos urbanos e emissões vulcânicas.	Desenvolvimento neurológico prejudicado, efeitos no sistema digestivo, sistema imunológico, pulmões, rins, pele e olhos, minamata, acrodinia, aumenta a salivação, hipotonia, hipertensão.
As	0,05	0,05	Postes de eletricidade de madeira que são tratados com conservantes à base de arsênio, pesticidas, fertilizantes, liberação de efluentes não tratados, oxidação da pirita e arseno pirita.	Causa efeitos no sistema nervoso central, periférico, doenças cardiovasculares, pulmonares, gastrointestinal, geniturinário, hematopoiéticas, dermatológicas, fetais e teratogênicas, anorexia, pigmentação marrom, hiperpigmentação, edema e câncer de pele.
Cr	0,05	0,05	Indústria de couro, curtumes e indústrias de cromagem.	Toxicidade reprodutiva, embriotoxicidade, teratogenicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade, câncer de pulmão, dermatite, úlceras de pele, perfuração de septo e dermatite de contato irritante.
Ag	0,1	0,1	Refinamento de Cu, Au, Ni, Zn, joalheria e indústrias de galvanoplastia.	Argiria, gastroenterite, distúrbios neuronais, fadiga mental, reumatismo, nó da cartilagem, efeitos citopatológicos em fibroblasto, queratinócitos e mastócitos.
Zn	5	5	Solda, cosméticos e pigmentos.	Distúrbios respiratórios, febre do fumo do metal, leucócitos bronquiolares, distúrbio neuronal, riscos de câncer de próstata, degeneração macular e impotência.
Cu	1,3	1,3	Fertilizantes, curtimento e células fotovoltaicas.	Hiperatividade de Adreno-corticol, alergias, anemia, alopecia, artrite, autismo, fibrose cística, diabetes, hemorragia e distúrbios renais.

Fonte: (GUMPU *et al*, 2015).

Métodos de análise tradicionais para detecção de metais pesados

Várias técnicas para detecção de metais pesados são empregadas, como espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), que apresenta capacidade multielementar e determina com boa sensibilidade elementos

refratários, e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado ou ICP-MS, que é uma técnica para a determinação de elementos em nível de traços e para análises isotópicas. Também são utilizadas técnicas monoelementares como a FAAS, que é uma técnica de fácil operação e com um custo relativamente reduzido em comparação com as técnicas anteriormente citadas, onde a célula de atomização é a chama, porém possui uma baixa sensibilidade, principalmente para os elementos mais refratários, tratando-se de uma técnica ideal para análise elementar em níveis de mg/L (HARRIS, 2005; RIGO *et al.* 2019). A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite ou GF AAS (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*), difere da FAAS principalmente em relação ao sistema de introdução de amostras e à célula de atomização que, ao invés de uma chama, consiste em um tubo de grafite. A GF AAS apresenta limites de detecção da ordem de $\mu\text{g/L}$ e, além da seletividade, apresenta vantagens em relação à FAAS pelo reduzido volume de amostra requerido e também pelo baixo consumo de gases (argônio) (SETTLE, 1997).

As técnicas de ICP OES, FAAS e GF AAS possuem procedimentos bem estabelecidos e bastante utilizados em laboratórios de pesquisa, desenvolvimento e prestação de serviços. No entanto, as técnicas de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), a espectrometria de emissão com plasma induzido por laser ou LIBS (do inglês *Laser Induced Breakdown Spectrometry*), a fluorescência de Raios-X ou XRF (do inglês *x-ray Fluorescence*) e a análise por ativação com nêutrons ou NAA (do inglês *Neutron Activation Analysis*) também são utilizadas, porém em menor escala, devido a diferentes fatores como complexidade da técnica, custo operacional, limite de detecção, etc (CADORE; MATOSO; SANTOS, 2008).

Além destas técnicas possuem diferentes procedimentos para a análise dos metais, elas também se diferenciam pelo nível de detecção, que é particular de cada técnica e também pode variar conforme a marca e modelo do equipamento (RIGO *et al.* 2019).

Tipos e classificação dos nanosensores e biosensores

Os nanosensores são dispositivos de detecção com pelo menos uma de suas dimensões de detecção não sendo maior que 100 nm. Sendo utilizados no campo da nanotecnologia como instrumentos para monitorar fenômenos físicos e químicos em níveis de traços (LIM; RAMAKRISHNA, 2006).

A classificação dos nanosensores está descrita em três grandes grupos, tais como: nanosensores ópticos, nanosensores eletromagnéticos e nanosensores mecânicos e/ou vibracionais.

Os nanosensores ópticos pertencem ao grupo de sensores químicos que usam radiação eletromagnética para gerar um sinal analítico em um elemento de transdução. A interação da amostra com a radiação leva à alteração de um determinado parâmetro óptico, que pode ser correlacionado com a concentração do analito. O princípio de funcionamento é baseado em mudanças nas propriedades ópticas (absorção, transmissão, emissão, etc) (GRABOSKI *et al.*, 2020).

Os nanosensores eletromagnéticos se apresentam em dois tipos baseados em seus mecanismos físicos: Detecção por medição de corrente elétrica e detecção por medição de magnetismo. No caso da detecção por corrente elétrica, esta é realizada por inibição ou aumento da corrente elétrica. A detecção por magnetismo é baseada na magnetorresistência, onde a resistência elétrica de um metal ou semicondutor muda (aumenta ou diminui) como resultado da aplicação de um campo magnético (LIM; RAMAKRISHNA, 2006).

Os nanosensores mecânicos e/ou vibracionais são capazes de detectar deslocamentos, forças e mudanças de massa extremamente pequenos.

Cantileveres consistem em um dispositivo que pode atuar como um sensor físico, químico ou biológico, detectando mudanças na deflexão ou frequência vibracional.

Segundo Ballen *et al.* (2021a), o cantilever consiste de

uma haste fina e flexível e em sua parte inferior contêm uma agulha piramidal, cujo raio do vértice final da ponta apresenta uma dimensão de alguns nanômetros. Os cantileveres podem ser constituídos de uma ou mais hastes de silício ou de nitreto de silício que apresentam em média um comprimento entre 100 a 500 μm , espessura entre 0,5 a 5 μm e a ponta tem que terminar em um conjunto de átomos, para alcançar resolução atômica. Podem ter formato “V” (triangular) ou “T” (retangular). Além disto, a fabricação dos cantileveres consistem de tecnologias de processamento de filmes finos bem estabelecidos que fornecem alto rendimento e boa reprodutibilidade (CARRASCOSA *et al.*, 2006; FERREIRA; YAMANAKA, 2006). Os nanosensores de cantileveres podem ser operados em diversos modos, sendo os principais o estático e dinâmico (WANG; NIE, 2019). No modo dinâmico, a superfície do cantilever é funcionalizada em ambos os lados, e o resultado da adsorção do analito é a alteração da massa, o que induz a uma diminuição na frequência de ressonância. O cantilever comporta-se como um oscilador harmônico, ou seja, como um sistema oscilador massa-mola ideal (TAMAYO *et al.*, 2013). O modo estático usa a mudança da deflexão física do cantilever. No modo de deflexão, a diferença entre a superfície funcionalizada (lado ativo) e a superfície que não está funcionalizada (lado passivo) provoca uma mudança na tensão superficial, causando a deflexão do cantilever (BUENO *et al.*, 2017).

Nesta técnica, um diodo de laser é focado na extremidade do cantilever livre e o feixe de laser refletido é monitorado usando um fotodetector sensível à posição. Quando expostas a moléculas alvo, ligações específicas de receptor-alvo no cantilever causam variação nos estados de energia da superfície (tensão superficial) do cantilever que são anulados por uma deflexão do cantilever. Dependendo do tipo de espécie-alvo, o cantilever se dobra para cima ou para baixo (LI; LEE, 2012). A adsorção molecular em um lado de um cantilever resulta em flexão do cantilever devido à indução de forças de adsorção. A flexão ascendente é devida à geração de tensão compressiva, ou seja, diminuição da energia superficial, enquanto a flexão descendente é

atribuída à tensão elástica, ou seja, aumento da energia superficial (MATHEW; RAVI SANKAR, 2018).

Os biosensores são dispositivos sensoriais analíticos que combinam técnicas de detecção físico-químicas (NAJEEB et al., 2017). Sua atuação é baseada no contato direto de dois elementos: biológico e físico-químico, cuja forte ligação é obtida por métodos físicos ou químicos de imobilização. O elemento biológico atua como receptor (bioreceptor), ou seja, para o reconhecimento de determinado analito do meio de interesse, com base na interação do analito e do bioreceptor. O transdutor físico-químico converte a resposta que ocorre como resultado da interação analito-bioreceptor em sua interface em um sinal mensurável que pode ser processado e exibido na forma de valores legíveis. Para a operação adequada do biossensor, o composto biológico deve ser imobilizado na vizinhança do transdutor, e a imobilização pode ser feita por aprisionamento físico ou fixação química. Apenas pequenas quantidades de moléculas bioreceptoras são necessárias, e elas serão usadas repetidamente para medições (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

A classificação dos biosensores é de acordo com diferentes abordagens, onde ambas são comumente utilizadas. A primeira se dá pelo tipo de elemento de bioreconhecimento (biocomponente, bioreceptor) e o segundo pelo tipo de sistema de transdução no biossensor. A classificação por tipo de transdutor se dá pelo princípio usado em sistemas de transdução, podendo ser biosensores eletroquímicos, ópticos, piezoelétricos e térmicos (BALLEN *et al.*, 2021b).

Os biosensores eletroquímicos foram os primeiros biosensores propostos e comercializados. O princípio básico de funcionamento desta classe é que a interação entre a biomolécula (bioreceptor) e o analito alvo resulta de uma reação química que produz ou consome íons ou elétrons, e por sua vez, altera as propriedades elétricas da solução do analito, como a corrente elétrica ou potencial. O transdutor detecta essas mudanças produzindo um sinal eletroquímico que é correlacionado com a quantidade

de analito presente na solução da amostra. Os biosensores eletroquímicos ainda são classificados pelo tipo de sinal medido, podendo ser potenciométricos, amperométricos, condutométricos e biosensores baseados em transistores de efeito de campo seletivo de íons (ISFETs) (WANG *et al.*, 2008).

Os biosensores ópticos possuem transdutor que detecta mudanças ópticas na luz de entrada resultante da interação do bioreceptor e o analito alvo, e a amplitude destas mudanças está em correlação com a concentração do analito presente na amostra analisada. Os biosensores ópticos possuem a vantagem de possuir insensibilidade à interferência eletromagnética, pequena instrumentação, simplicidade e não invasividade da medição, permitindo aplicação *in vivo* por se tratar de biosensores não elétricos. Quanto à classificação óptica podem ser intrínsecos e extrínsecos. A forma de detecção é classificada em biosensores baseados em absorção, biosensores de ressonância de plasma de superfície (SPR), biosensores ópticos baseados em fluorescência e biosensores baseados em luminescência, este último se dividindo em quimioluminescentes e bioluminescentes (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

Os biosensores piezoelétricos são dispositivos nos quais o elemento de bioreconhecimento é integrado à um material piezoelétrico usado como transdutor. Entre os vários tipos de materiais naturais e sintéticos que apresentam efeito piezoelétrico, os cristais de quartzo são os mais utilizados, em função de sua disponibilidade, resistência à altas temperaturas e estabilidade química em solução aquosa. O princípio de funcionamento se dá pela capacidade do material piezoelétrico em gerar potencial elétrico quando deformado sob o estresse mecânico aplicado, e vice-versa, de se deformar elasticamente quando exposto a um campo elétrico (POHANKA, 2017).

Os biosensores térmicos, também chamados de calorimétricos ou termométricos, possuem transdutores que detectam interações entre bioreceptores e o analito, resultando em uma alteração de temperatura, que está relacionada com a concentração do analito. São utilizados como transdutores térmicos termistores e termopilhas.

Os biosensores térmicos possuem a vantagem de detecção sem a necessidade de rotulagem de reagentes, não exigindo recalibração frequente e sem perturbações por propriedades eletroquímicas e ópticas da amostra. É frequente o uso de biosensores térmicos baseados em enzimas, devido à natureza exotérmica das reações catalisadas por elas (WANG *et al.*, 2008).

A segunda classificação dos biosensores é pelo tipo de biocomponente / bioreceptor, onde os mesmos são responsáveis pela detecção e interação com o analito. O receptor é responsável pelo reconhecimento seletivo e sensível do analito, e a energia liberada durante a interação do analito e do receptor é convertida em um sinal elétrico mensurável. Enzimas e anticorpos são os elementos biológicos mais utilizados. Os biosensores podem ser divididos em duas principais categorias: sensores biocatalíticos e de afinidade com base na interação entre o material biológico e o analito. Os biocatalíticos, também conhecidos como sensores de metabolismo, possuem um componente biológico que catalisa a conversão química do analito com o qual ele interage e detecta a magnitude das mudanças resultantes, como formação do produto, desaparecimento do reagente ou inibição da reação, que estão correlacionados com a concentração do analito. Os biosensores de afinidade são baseados na interação seletiva entre o analito e o componente biológico por meio de sua ligação irreversível, resultando em uma alteração físico-química detectada pelo conversor (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

Os biosensores baseados em enzimas devido a sua capacidade de catalisar as reações químicas. Sua função é transformar o substrato em um produto. As enzimas são altamente seletivas para o substrato específico. O mecanismo de detecção é baseado na ativação e inibição da atividade como resposta causada por metais pesados. Normalmente o íon reage com o grupo tiol presente nas estruturas enzimáticas resultando em alterações conformacionais afetando a atividade catalítica. Enzimas como glicose oxidase, urease, glutathione S-transferase, fosfatase, fosfatase alcalina, lactato desidrogenase, fosfatase ácida e invertase tem sido utilizadas para

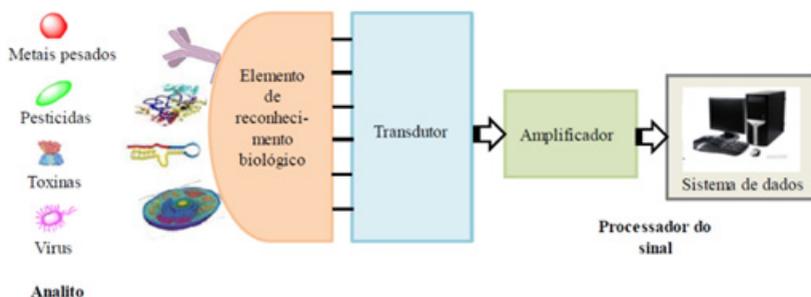
detectar metais pesados como Cd, Pb, Cu, Mg, Zn, entre outros (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

Os biosensores baseados em proteínas, podem ter fitoquelatinas ou metalotioneínas, como componentes biológicos quando imobilizadas na superfície do transdutor. A interação de proteínas e metais no biosensor é realizada através da formação de complexos, e a técnica de detecção não requer marcação. As mudanças resultantes na camada de proteína são detectadas medindo a capacidade elétrica ou impedância pelo transdutor relevante (ODOBASIC'; SESTAN; BEGIC', 2019).

Os biosensores baseado em células inteiras utilizam microrganismos, células vegetais, algas, fungos, protozoários, entre outros como camada sensora. Geralmente são mais baratos do que os biosensores baseados em enzimas, pelo fato das células inteiras serem mais fáceis de cultivar, isolar e purificar. São mais tolerantes às mudanças de pH, temperatura ou força iônica, mas apresentam desvantagem por serem suscetíveis à interferência de contaminantes que não são analito alvo, além de apresentarem resposta relativamente lenta em comparação a outros tipos de biosensores (GRABOSKI *et al.*, 2020).

Na Figura 1, está representado esquematicamente como é feita a leitura de um contaminante a partir da exposição do mesmo à um biosensor.

Figura 1 - Representação esquemática de um biosensor exposto a contaminantes.



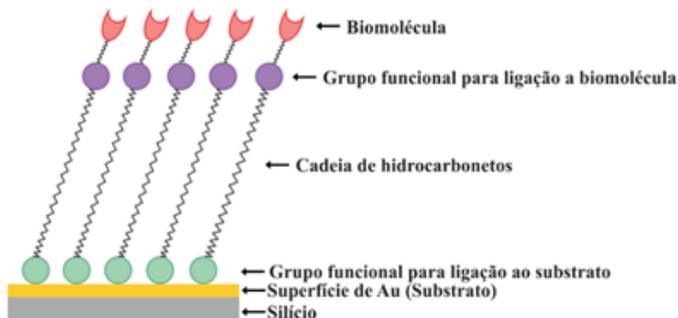
Fonte: Adaptado de LONG, ZHU, SHI (2013).

Nanocamadas sensoras

Os principais aspectos do desenvolvimento de um nanosensor é a escolha do nanomaterial ou da biomolécula para a modificação da superfície (funcionalização), que precisa fornecer boas características envolvendo estabilidade, área de superfície e alta sensibilidade. Segundo estudos realizados por Rigo *et al.*, (2019; 2020), os cantileveres para funcionar como nanosensores necessitam ser recobertos com uma camada sensitiva, a qual deve ser específica e capaz de reconhecer moléculas de interesse. A adsorção dessas moléculas no cantilever causa uma tensão superficial, resultando na curvatura do cantilever (deflexão) (VLADKOVA *et al.*, 2009; SHARMA *et al.*, 2010).

A funcionalização consiste em ligar quimicamente à superfície do cantilever a uma camada de moléculas ou biomoléculas, cujos grupos funcionais reajam com o material de interesse, de forma a imobilizá-lo na superfície. Dentre as técnicas que podem ser utilizadas para a funcionalização, encontra-se a de monocamadas automontadas (SAM - do inglês *Self-Assembled Monolayers*), caracterizada pela formação espontânea de camadas ordenadas e organizadas sobre uma superfície sólida, por meio de interação entre grupos químicos (AWASTHI *et al.*, 2016). Na Figura 2 pode ser observada esta formação das monocamadas automontadas.

Figura 2 - Representação da técnica de monocamadas automontadas.



Fonte: RIGO *et al.*, (2019).

Vários nanomateriais têm sido desenvolvidos e aplicados como camadas sensoras. Os nanomateriais à base de carbono como os fulerenos, nanotubo, nanofibras, nanofios e derivados de grafeno têm sido considerados como materiais promissores devido a sua relação custo-eficácia e sua grande área de superficial (SAINI; BAGRI; BAJPAI, 2017; KURBANOGLU; OZKAN, 2018; ARDUINI *et al.*, 2020).

O grafeno possui um átomo de espessura, com uma distância carbono-carbono de 0,142 nm. Pode ser derivado de grafite naturalmente abundante o que o torna de baixo custo, é obtido pelo uso de diferentes técnicas sintéticas, como esfoliação em fase líquida de grafite, deposição de vapor químico, abordagem de automontagem e redução química de óxido de grafite. A atração pela sua utilização deve-se às suas performances elétricas e propriedades superiores únicas, tais como boa estabilidade química, elevada área de superfície, boa condutividade térmica e condutividade elétrica, alta mobilidade de carga e transmitância óptica (KIM *et al.*, 2011; MAO; PU; CHEN, 2012).

O óxido de grafeno (OG) consiste em grupos oxigenados densamente misturados, como hidroxila e epóxido (principalmente na superfície basal) e carboxila (principalmente nas bordas da folha). Estas porções oxigenadas fornecem vias para a funcionalização covalente de superfície.

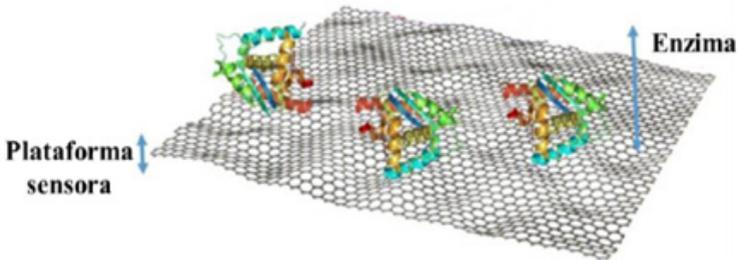
O OG pode ser sintetizado em grandes quantidades por oxidação de pós de grafite usando oxidantes fortes como H₂SO₄, HNO₃, KMnO₄, KClO₃, NaClO₂ com folhas individuais obtidas por esfoliação suave subsequente (KIM *et al.*, 2011). Os métodos mais usados para sintetizar óxido de grafeno a partir de grafite, são o de Hummer e Offeman (HUMMERS; OFFEMAN, 1958), Staudenmaier (LOMEDA *et al.*, 2008) e Brodie (JEONG *et al.*, 2008).

Até o momento a técnica mais comum utilizada para imobilização de enzima em derivados de grafeno, como o óxido de grafeno é a ligação inespecífica da enzima por adsorção, pois essa

técnica de imobilização é livre de produtos químicos e direta (PEÑA-BAHAMONDE *et al.*, 2018). Normalmente, o procedimento consiste na simples deposição da enzima sobre o óxido de grafeno (KARIMI *et al.*, 2015), como pode ser observado na Figura 3.

O óxido de grafeno também possui grupos carboxílicos em sua superfície que podem interagir fortemente por interações eletrostáticas com as moléculas da enzima, levando a conjugados muito estáveis (BOLIBOK *et al.*, 2017). Dessa forma, o óxido de grafeno demonstra ser um material bastante promissor na área de imobilização enzimática e aplicação em nanobiosensores utilizados na detecção de metais pesados em água (BALLEN *et al.*, 2020).

Figura 3 - Representação esquemática de imobilização de enzimas sobre óxido de grafeno.



Fonte: Adaptado de PEÑA-BAHAMONDE *et al.*, (2018).

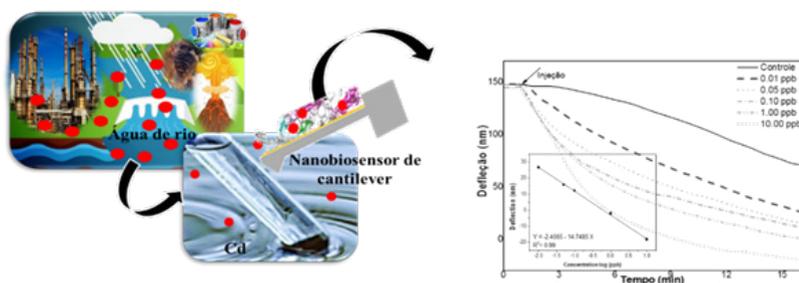
Aplicações de nanosensores e biosensores para detecção de metais pesados em água

Os nanosensores de cantileveres podem ter muitas aplicações, entre elas a detecção de íons metálicos (metais pesados), e também é possível detectar alterações em propriedades físicas nos meios circundantes, tais como gás ou líquido, ou de camadas depositadas sobre a superfície (LANG; HEGNER; GERBER, 2010; STEFFENS *et al.*, 2014).

Em trabalho realizado por Ballen *et al.*, (2021a), foi utilizado nanosensor funcionalizado com óxido de grafeno para detecção de

Cd em amostras de água de rio, obtendo bons resultados com limite de detecção na ordem de ppt quando comparado com métodos tradicionais de análise. O nanosensor apresentou uma mudança de deflexão em contato com o metal pesado devido a adsorção do mesmo na camada sensora (Figura 4).

Figura 4 - Aplicação do nanobiosensor de cantilever utilizado na detecção de Cd em amostras reais de água de rio.



Fonte: BALEN *et al.*, (2021).

Na pesquisa realizada por Cherian *et al.*, (2003), foi utilizado nanossensores de cantilever funcionalizados com proteína AgNt84-6 para detecção de íons metálicos Hg^{2+} e Zn^{2+} , onde a mesma foi aplicada no lado revestido com ouro do cantilever de nitreto de silício por meio de grupos ligantes. Após a exposição à soluções contendo $HgCl_2$ e $ZnCl_2$ nas concentrações de 0,1 mM os microcantileveres sofreram flexão correspondente. Os dados da curvatura do microcantilever foi comparado com os dados da eletroforese realizada em géis SDS-PAGE contendo íons metálicos que mostraram interação com íons Hg^{2+} e Zn^{2+} . Demonstrando assim, que a dobra obtida no microcantilever pode ser usada para discriminar íons metálicos que se ligam à proteína AgNt84-6 em tempo real.

Uma técnica para detecção de íons de Ca^{2+} utilizando microcantilever modificado quimicamente com monocamadas automontadas seletivas de íons é apresentada por Ji e Thundat (2001), onde o cantilever sofre flexão devido à adsorção seletivas

de íons Ca^{2+} . As deflexões do cantilever foram medidas por microscopia de força atômica, monitorando a posição do feixe de laser refletido do cantilever em um detector sensível à posição de quatro quadrantes. Foram obtidos resultados satisfatórios, com seletividade na faixa de 10^{-9} M, comprovando que podem ser utilizados para detecção de traços de íons Ca^{2+} em solução.

No estudo realizado por Kamaruddin *et al.*, (2014), foi demonstrado o efeito da estrutura bimetálica no desempenho de um sensor de ressonância de plasma de superfície com quitosana-óxido de grafeno para detecção de íons Pb^{2+} em concentrações diferentes. Sendo que a parte superior consiste em cromo, prata-ouro e quitosana-óxido de grafeno, sendo que a estrutura bimetálica com camada de prata menor apresentou maior sensibilidade. Os resultados apresentados comprovaram que o sensor quitosana-óxido de grafeno possui bom desempenho na detecção de íons Pb^{2+} , conseguindo detectar de 0,001 a 5 ppm.

Velanki *et al.*, (2007) demonstrou a viabilidade de detectar íons divalentes Cd (II) usando sensores de microcantilever modificado por anticorpos PI/2A81G5, onde foram obtidos limites de detecção de 10^{-9} M. Rotake; Darji; Kale (2020) utilizaram um sensor piezoresistivo baseado em microcantilever para detecção ultrasensível e seletiva de íons Cd (II) em águas subterrâneas. A funcionalização foi feita com cisteamina com DL-gliceraldeído reticulado (DL-GC), obtendo limites de detecção na faixa de 0,56 ng/mL.

Na Tabela 3 está apresentado um resumo das últimas aplicações dos nanosensores e nanobiosensores para detecção de metais pesados em águas utilizando grafeno como camada sensora.

Tabela 3 - Nanosensores e nanobiosensores funcionalizados com grafeno aplicado na detecção de metais pesados em água.

Nanosensores e nanobiosensores	Funcionalização	Metais	Amostra	Limite de detecção (ppb)	Referência
Cantilever	Híbrido OG / urease	Cd	Água de rio	0,018	Ballen <i>et al.</i> , (2021b)
Cantilever	OG	Cd	Água ultrapura	0,028	Ballen <i>et al.</i> , (2021a)
Cantilever	Fosfatase alcalina	Pb	Água de rio	0,32	Rigo <i>et al.</i> , (2020)
		Ni		0,87	
		Cd		0,33	
		Zn		0,48	
		Co		0,42	
Al	0,39				
Imunosensor	Fe ₃ O ₄ -GO	Pb (II)	Água de lagoa	10	Sun <i>et al.</i> , (2018)
Eletroquímico	OG	Cd	Água potável	1.0	Xuan <i>et al.</i> , (2016)
		Pb		0.4	
Eletroquímico	OG reduzido modificado com nanopartículas de antimônio	Cd ²⁺ Pb ²⁺ Cu ²⁺ Hg ²⁺	Água natural	5,09 3,42 2,16 0,96	Silva e Cesarino (2020)
Eletroquímico	OG reduzido modificado com bismuto	Cd Pb	Leite	0.5 0,8	Ping <i>et al.</i> , (2014)
Eletroquímico	SnO ₂ e OG reduzido	Cd(II) Pb(II) Cu(II) Mg(II)	Água potável	0,011 0,038 0,014 0,0068	Wei <i>et al.</i> , (2012)
Amperométrico	SnO ₂ e OG reduzido	As(III) Cd(II)	Água de rio	2,25- 59,94 2,24- 78,69	Gumpu <i>et al.</i> , (2018)

Fonte: O autor (2021).

Portanto, o desenvolvimento de nanosensores e nanobiosensores para monitoramento desses metais pesados em água se mostram como uma boa ferramenta analítica por apresentarem várias vantagens, incluindo alta sensibilidade, seletividade e portabilidade. Dessa forma, se mostram como uma alternativa promissora para a sociedade para monitoramento e detecção precoce traços de metais em corpos d'água.

Considerações finais

Baseados nos estudos da literatura, pode ser observado que a nanotecnologia é um campo promissor e que tem contribuído significativamente para os métodos de detecção e monitoramento de poluentes ambientais em corpos de água. Podendo ser desenvolvido nanosensores e nanobiosensores específicos para os poluentes que se deseja detectar, sendo necessário a funcionalização correta do sensor de cantilever para o analito a ser analisado. Estudos aqui apresentados comprovaram a eficácia dos sensores sendo detectados diferentes metais pesados com limites de detecção na faixa de partes por trilhão, o que é bem satisfatório e serve como uma forma alternativa para o monitoramento dos corpos hídricos.

Referências

ALI, J. *et al.* Biosensors: Their Fundamentals, Designs, Types and Most Recent Impactful Applications: A Review. **Journal of Biosensors & Bioelectronics**, v. 8, n. 1, 2017. DOI: 10.4172/2155-6210.1000235.

ALLAN, I. J. *et al.* A “toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union’s Water Framework Directive. **Talanta**, v. 69, p. 302-322, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.043>.

ARDUINI, F. *et al.* Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (bio)sensor design.

Biosensors and Bioelectronics, v. 156, n.15, p. 112033, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112033>.

AWASTHI, A. P. *et al.* Nanoscale mechanical tailoring of interfaces using self-assembled monolayers. **Mechanics of Materials**, v. 98, p. 71–80, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.mechmat.2016.04.003>.

BAGRI, R. K L. P.; BAJPAI, A. K. Smart nanosensors for pesticide detection. *In*: GRUMEZESCU, A.N. **New Pesticides and Soil Sensors**. London: Elsevier. v.10, p. 519–559, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00015-1>.

BALLEN, S.C., STEFFENS, J., STEFFENS, C. Stability characteristics of cantilever nanobiosensors with simple and complex molecules for determination of cadmium. **Sensors and Actuators A: Physical**, v.324, n.15, p. 112686, 2021 a. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2021.112686>.

BALLEN, S.C., OSTROWSKI, G.M., STEFFENS, J., STEFFENS, C. Graphene Oxide/Urease Nanobiosensor Applied for Cadmium Detection in River Water. **IEEE Sensors**, v.21, n. 8, p. 9626-9633, 2021 b. DOI: 10.1109/JSEN.2021.3056042.

BRASIL, CONAMA. **Resolução n 357 de 17 de março de 2005**, CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), p. 58–63, 2005.

BRASIL, CONAMA, **Resolução, nº 397, de 3 de abril de 2008**, Publicada no DOU nº 66, de 7 de abril de 2008, Seção 1, p. 68-69.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria n 518 em 25 de março de 2004**, Ministério Da Saúde, 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria no 2.914 de 12 de dezembro de 2011**, Ministério da Saúde, Diário Oficial Da União, 2011, p. 1–16.

BUENO, C. C. *et al.* Nanosensors. *In*: OLIVEIRA, O. N. *et al.* **Nanoscience and its Applications**. Oxford: Elsevier, 2017. p.

121–153.

CADORE, S.; MATOSO, É.; SANTOS, M. C. A. Espectrometria atômica e a determinação de elementos metálicos em material polimérico. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1533-1542, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000600044>.

CARRASCOSA, L. G. *et al.* Nanomechanical biosensors: a new sensing tool. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 196–206, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.09.006>.

CHERIAN, S.; GUPTA, R. K.; MULLIN, B. C.; THUNDAT, T. Detection of heavy metal ions using protein-functionalized microcantilever sensors. **Biosensors & Bioelectronics**, v.19, n. 5, p.411-416, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(03\)00226-4](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(03)00226-4).

FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. Microscopia de força atômica aplicada em imunoenaios. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 137–142, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100024>.

GRABOSKI, A.M. *et al.* Nanosensors for water quality control. *In: AMRANE, A. et al. Nanotechnology in the Beverage Industry - Fundamentals and Applications*. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 115-128.

GUMPU M.B. *et al.* A review on detection of heavy metal ions in water - An electrochemical approach. **Sensors and Actuators B. Chemical**, v. 213, p.515-533, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.122>.

GUMPU, M. B. *et al.* Amperometric determination of As(III) and Cd(II) using a platinum electrode modified with acetylcholinesterase, ruthenium(II)-tris(bipyridine) and graphene oxide. **Microchimica Acta**, v.185, n.6, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2822-6>.

HALKARE, P. *et al.* Bacteria functionalized gold nanoparticle matrix based fiber-optic sensor for monitoring heavy metal

pollution in water. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 281, p. 643–651, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.119>.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**, 5ª ed., Rio de Janeiro: LTC, 2005.

JI, H-F.; THUNDAT, T. In situ detection of calcium ions with chemically modified microcantilevers. **Biosensors & Bioelectronics**, p. 337-343, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00270-6](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00270-6).

KAMARUDDIN, N. H. et al. Effect of bi-metallic structure on the performance of chitosan-graphene oxide surface plasmon resonance sensor. **IEEE 5th International Conference on Photonics (ICP)**, 7002350, 2014. DOI: 10.1109/ICP.2014.7002350.

KIM, H. *et al.* Graphene/polyethylene nanocomposites: Effect of polyethylene functionalization and blending methods. **Polymer**, v. 52, n. 8, p. 1837–1846, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2011.02.017>.

KURBANOGLU, S.; OZKAN, S. A. Electrochemical carbon based nanosensors: A promising tool in pharmaceutical and biomedical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 439–457, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.06.062>.

LANG, H. P.; HEGNER, M.; GERBER, C. Nanomechanical Cantilever Array Sensors. *In*: BHUSHAN, B. **Springer Handbook of Nanotechnology**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010. p. 427–452.

LI, X.; LEE, D.-W. Integrated microcantilevers for high-resolution sensing and probing. **Measurement Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 022001, 2012. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/23/2/022001>.

LIU, X.; YAO, Y.; YING, Y.; PING, J. Recent advances in nanomaterial-enabled screen-printed electrochemical sensors for heavy metal detection. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 115,

p. 187-202, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.021>.

LONG, F.; ZHU, A.; SHI, H. Recent Advances in Optical Biosensors for Environmental Monitoring and Early Warning. **Sensors**, v. 13, p. 13928-13948, 2013. <https://doi.org/10.3390/s131013928>.

MAO, S.; PU, H.; CHEN, J. Graphene oxide and its reduction: modeling and experimental progress. **RSC Advances**, v. 2, n. 7, p. 2643, 2012. <https://doi.org/10.1039/C2RA00663D>.

MATHEW, R.; RAVI SANKAR, A. A Review on Surface Stress-Based Miniaturized Piezoresistive SU-8 Polymeric Cantilever Sensors. **Nano-Micro Letters**, v. 10, n. 2, p. 35, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40820-018-0189-1>.

MUENCHEN, D. K. *et al.* Pesticide Detection in Soil Using Biosensors and Nanobiosensors. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 6, n. 6, p. 1659–1675, 2016.

ODOBASIC, A. Determination and Speciation of Trace Heavy Metals in Natural Water by DPASV. *In*: VOUDOURIS, K; VOUTSA, D. **Water Quality Monitoring and Assessment**. Rijeka: IteChopen. p. 429-456, 2012.

ODOBASIC, A; SESTAN, I; BEGIC, S. Biosensors for Determination of Heavy Metals in Waters. *In*: RINKEN, T; KIVIRAND, K. **Biosensors for Environmental Monitoring**. Tuzla: IteChopen. 2019. p. 1-18, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.84139>.

PAGLIANO C. *et al.* Evidence for PSII donor-side damage and photoinhibition induced by cadmium treatment on rice (*Oryza sativa L.*). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 84, p.70-78, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2006.01.012>.

POHANKA, M. The piezoelectric biosensors: Principles and applications, a review. **International Journal of Electrochemical Science**, v.12, p. 496-506, 2017. doi: 10.20964/2017.01.44.

PING, J. *et al.* Development of an electrochemically reduced graphene oxide modified disposable bismuth film electrode and its application for stripping analysis of heavy metals in milk. **Food Chemistry**, v.151, p. 65–71. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.026>.

QUARTACCI, M,F.; COSI, E.; NAVARI-IZZO, F. Lipids and NADPH-dependent superoxide production in plasma membrane vesicles from roots of wheat grown under copper deficiency and excess. **Journal of Experimental Botany**, v.152, p.67-75, 2001. <https://doi.org/10.1093/jxb/52.354.77>.

RIGO, A. A. *et al.* Heavy metals detection in river water with cantilever nanobiosensors. **Journal of Environmental Science and Health, Part B . Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 55. p. 239-249, 2020. <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1685318>.

RIGO, A. A. *et al.* Detection of lead in river water samples applying cantilever nanobiosensor. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n.4, p.186-195, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04562-6>.

ROTAKE, D.; DARJI, A.; KALE, N. Ultrasensitive detection of cadmium ions using a microcantilever-based piezoresistive sensor for groundwater. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v.11,p. 1242–1253, 2020. <https://doi.org/10.3762/bjnano.11.108>.

SANKHLA, M. S. *et al.* Heavy Metals Contamination in Water and their Hazardous Effect on Human Health-A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 10, p. 759-766, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.510.082>.

SETTLE, F. **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. Prentice Hall PTR: New Jersey, 1997. DOI: 10.1109/MEI.1998.730821.

SHARMA, P. *et al.* Fluoroimmunoassay based on suppression of fluorescence self-quenching for ultra-sensitive detection of

herbicide diuron. **Analytica Chimica Acta**, v. 676, n. 1–2, p. 87–92, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.07.042>.

SILVA, M. K. L.; CESARINO, I. Electrochemical sensor based on Sb nanoparticles/reduced graphene oxide for heavy metal Determination. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1-15. 2020. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1763973>.

STEFFENS, C. *et al.* Atomic force microscope microcantilevers used as sensors for monitoring humidity. **Microelectronic Engineering**, v. 113, p. 80–85, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2013.07.015>.

SUN, M. *et al.* Heavy metal adsorption onto graphene oxide, amino group on magnetic nanoadsorbents and application for detection of Pb (II) by strip sensor. **Food and Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p.1053-1073, 2018. <https://doi.org/10.1080/09540105.2018.1509946>.

TAMAYO, J. *et al.* Biosensors based on nanomechanical systems. **Chemical Society Review**, v. 42, n. 3, p. 1287–1311, 2013. <https://doi.org/10.1039/C2CS35293A>.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **US EPA**. Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. p. 2–6, 2018.

VELANKI, S. *et al.* Detection of Cd (II) using antibody-modified microcantilever sensors. **Ultramicroscopy**, v.107, n. 12, p. 1123–1128. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2007.01.011>.

VERIATO, M. K. L. Água: Escassez, crise e perspectivas para 2050. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 5, p. 17 - 22, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v10i5.3869>.

VLADKOVA, R. *et al.* Assessment of chlorophyll fluorescence and photosynthetic oxygen evolution parameters in development of biosensors for detection of binding herbicides. **Comptes rendus de Académie bulgare des Sciences**, v. 62, n. 3, p. 355–

360, 2009.

XUAN, X. *et al.* A Fully Integrated and Miniaturized Heavy-metal-detection Sensor Based on Micro-patterned Reduced Graphene Oxide. **Scientific reports**, v. 6, n.1, p. 33125, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep33125>.

WANG, Y. et al. Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. **Sensors**, v. 8, n. 4, p. 2043–2081, 2008. <https://doi.org/10.3390/s8042043>.

WAHEED, A.; MANSHA, M.; ULLAH, N. Nanomaterials-based electrochemical detection of heavy metals in water: Current status, challenges and future direction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 105, p. 37–51, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.012>.

WANG, J.; NIE, S. Application of atomic force microscopy in microscopic analysis of polysaccharide. **Trends in Food Science & Technology**, v. 87, p. 35–46, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.005>.

WEI, Y. *et al.* SnO₂/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite for the Simultaneous Electrochemical Detection of Cadmium (II), Lead (II), Copper (II), and Mercury (II): An Interesting Favorable Mutual Interference. **The Journal of Physical Chemistry C**, v.116, n.1, p. 1034–1041. 2011. <https://doi.org/10.1021/jp209805c>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **WHO**. Guidelines for Drinking-water Quality. Fourth Edition, Geneva, 2011.



TRATAMENTO DE EFLUENTES LÍQUIDOS DE GALVANOPLASTIA: UMA REVISÃO

Vinicius Fochezatto Marchiori¹, Clarice Steffens², Juliana Steffens³

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Química (URI) – vini_marchiori@hotmail.com

²Prof.^a. Dr.^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) - clarices@uricer.edu.br

³Prof.^a. Dr.^a. do Curso de Engenharia Química/Alimentos (URI) - julisteffens@uricer.edu.br

Resumo: Com a chegada de indústrias automobilísticas ocorreu desenvolvimento expressivo das indústrias galvânicas. A galvanoplastia tem três princípios que a regem, sendo a deposição metálica a partir de solução aquosa, deposição metálica com fonte de eletricidade externa e deposição metálica sem fonte de eletricidade externa. No procedimento galvânico, as peças são lavadas diversas vezes por imersão em banhos contendo soluções, esses banhos geram efluentes líquidos contendo metais pesados. O processo da galvanoplastia pode ser dividido nas etapas de pré-tratamento, revestimento e passivação. Para os efluentes líquidos gerados na indústria existem diferentes tratamentos como precipitação química, processos de separação por membranas, troca de íons, adsorção e a coagulação-floculação. Neste sentido, o presente trabalho visa apresentar uma revisão bibliográfica sobre a indústria de galvanoplastia, etapas de produção, efluentes líquidos gerados, bem como algumas formas de tratamento.

Palavras-chave: Galvanoplastia. Resíduos líquidos. Tratamentos.

Introdução

O processo galvânico no Brasil foi inicializado para fins decorativos de peças para bicicletas, fivelas de cintos, bules e bandejas. As indústrias galvânicas apresentaram um

crescente aumento de produção e desenvolvimento com a chegada de indústrias automobilísticas (SESI, 2007).

O processo industrial de galvanoplastia é realizado por meio do tratamento de superfícies metálicas, através de revestimento do produto final, por meio uma ou mais camadas de metais. O objetivo do processo é o aumento da dureza, proporcionando maior resistência à corrosão e também transformar os produtos com uma aparência atrativa (NOGUEIRA; PASQUALETTO, 2008). As principais finalidades para a utilização da eletrodeposição galvânica sobre peças metálicas são a alteração do coeficiente de atrito e as propriedades elétricas superficiais, gerar resistência ao desgaste e a incidência de manchas, evitar a carbonização e modificar o comportamento superficial com relação aos agentes pigmentantes (VAZ, 2009).

Neste processo industrial, a água está presente durante praticamente todas as etapas, sendo esta utilizada como meio para reação eletrolítica e enxágues. A água do processo pode conter alta concentração de diversos compostos como óleos, graxas, sólidos em suspensão (RIANI, 2008). Como no processo galvânico são utilizadas soluções com metais como zinco (Zn), cromo (Cr), cádmio (Cd), entre outros, portanto, são gerados efluentes líquidos com metais pesados (PALÁCIO *et al.*, 2014). No processo galvânico são utilizadas grande quantidade de água na fabricação das peças, gerando grande quantidade de efluente que se não forem tratados adequadamente podem causar danos ao meio ambiente (COLARES *et al.*, 2010).

No entanto, antes de efetuar o tratamento do efluente, deve-se primeiro avaliar o processo produtivo, as matérias primas utilizadas e os pontos de consumo de água, com o objetivo de reduzir a geração de efluentes, implantar sistema de reúso de água e verificar a necessidade de segregação de efluentes para o tratamento, para posteriormente verificar o melhor processo de tratamento destes efluentes. Dentre os tratamentos pode-se citar: precipitação química, coagulação-floculação, processos de separação por membranas, entre outros.

Referencial Teórico

Histórico da galvanoplastia

A galvanoplastia iniciou sua história na Itália quando foram encontrados vasos decorados com lâminas de chumbo que evidenciam que desde 1.000 a.C já existia revestimento por metais. Isso demonstra que a galvanoplastia é um ramo da indústria que vem sendo usado para revestir a superfície de objetos objetivando maior resistência e beleza, protegendo-os contra a corrosão (SESI, 2007).

A intitulação de galvanoplastia está relacionada ao nome de família do anatomista e médico italiano Luigi Galvani (1737-1798) que observou rãs mortas em relação a contração de músculos de quando em contato com diferentes metais, sem que houvesse aplicação de corrente elétrica externa, onde o mesmo concluiu que certos tecidos geravam eletricidade, semelhante à gerada por máquinas ou raios.

O físico Italiano Alessandro Volta- VOLT- (1745-1827), ao reproduzir os experimentos de Galvani em 1799, descobriu que a eletricidade resultava da reação química entre um fio de cobre e uma barra de ferro em solução salina não havendo necessidade de um elemento biológico para o fenômeno (CASAGRANDE, 2009). Ele produziu, então, uma bateria ao empilhar vários discos de cobre e zinco, separados por disco de papel ou papelão molhados, em água salgada, prendendo este conjunto com um arame de cobre. Ao fechar o circuito, a eletricidade fluiu através da pilha, que passou a ser denominada de pilha galvânica. Mesmo rudimentar, a bateria de Volta possibilitou descobertas importantes no campo eletroquímico, inclusive a eletrodeposição (CASAGRANDE, 2009).

O químico italiano, Luigi Brugnatelli, inventou a galvanoplastia em 1805. Brugnatelli realizou a eletrodeposição de ouro usando a pilha voltaica, descoberto por Alessandro Volta. O

trabalho de Luigi Brugnatelli foi recusado pelo ditador Napoleão Bonaparte, o que causou a supressão de qualquer nova publicação de sua obra.

Quarenta anos depois, John Wright, descobriu que cianeto de potássio foi um eletrólito adequado para a aplicação do método de galvanoplastia em ouro e prata. John Wright, foi o primeiro cientista a mostrar que os itens podem ser galvanizados por imersão em um tanque de prata contendo uma solução, através do qual uma corrente elétrica é aplicada. Como o conhecimento da eletroquímica e sua relação com o processo de galvanoplastia tornou-se mais amplamente conhecida, outros tipos de chapeamento de metal não-decorativos logo seriam desenvolvidos. Processos de galvanoplastia de níquel brilhante, latão, estanho e zinco foram adaptados para fins comerciais após 1850. Muitos destes tipos de chapeamentos foram utilizados para a fabricação e aplicações específicas de engenharia.

A tecnologia da galvânica possibilitou maior acesso ao brilho e a cor dos metais nobres, como o ouro e outros, permitindo o atendimento e as ambições em relação a aparência dos objetos (CASAGRANDE, 2009). Com o aumento da atividade industrial na metade do século XIX, surgiram novas aplicações para o tratamento de superfícies com metais, efeitos decorativos e visando conferir requisitos como proteção a corrosão e aumento da resistência.

A galvanoplastia tem aplicação nos ramos de atividade como a indústria automotiva, indústria de bijuterias, construção civil, indústria de utensílios domésticos, indústria de informática, indústria de telefonia e recuperação de objetos decorativos (SESI, 2007).

Para a galvanoplastia existem três princípios que regem, sendo:

- O princípio da deposição metálica a partir de uma solução aquosa pode ser representada, de modo geral, pela seguinte equação:



Os íons metálicos Mz^+ , que se encontram na solução, carregados positivamente com a valência z , são modificados em átomos metálicos M , pelo meio do recebimento de número de elétrons correspondentes e , sendo átomos metálicos, sob certas condições, formam uma camada metálica sobre um objeto qualquer (FOLDES, 1974).

- O princípio da deposição metálica com fonte de eletricidade externa que se baseia em fenômenos eletroquímicos. No decorrer da eletrólise ocorrem transformações químicas nas superfícies limite eletrodo que consomem ou fornecem elétrons. Para que as reações ocorram sempre no sentido pretendido, é necessário que seja aplicada uma corrente contínua.

A corrente contínua faz com que os elétrons sejam tirados do ânodo e dados ao cátodo. A reação que ocorre no ânodo faz com que se obtenha metal em solução. No cátodo, a reação eletroquímica fornece elétrons os quais reagem com íons metálicos contidos no eletrólito, originando átomos metálicos (FOLDES, 1974).

- E o princípio da deposição metálica sem fonte elétrica externa em que os elétrons essenciais para a redução de íons metálicos são produzidos diretamente na solução, através de uma reação química. Para tal existem três diferentes alternativas (FOLDES, 1974):

- Deposição por inversão de carga: É necessário que o metal que irá receber o revestimento seja menos nobre que o metal depositado;

- Deposição por contato: O procedimento consiste na utilização de três metais, o metal a ser protegido, o metal a ser depositado e o terceiro metal, que está presente na solução e tem a função de doador de elétrons;

- Deposição por redução: Corresponde a redução de íons metálicos que são produzidos quimicamente pelo meio de um composto químico. O metal redutor é oxidado e os elétrons liberados auxilia na redução de íons metálicos, no qual ocorre a troca

de elétrons entre um composto químico e um metal (FOLDES, 1974).

Indústria de galvanoplastia

A galvanoplastia pode ser descrita como o processo de depositar diversas camadas metálicas sobre um objeto através da aplicação dos princípios fundamentais que reagem ao fenômeno da eletrólise, como reações de oxidação e redução. Em todo processo em que metais não nobres são revestidos por outros mais nobres, geralmente para proteger contra a corrosão ou para fins estético-decorativos, a galvanoplastia é chamada de galvanização ou eletrodeposição. Para fins de licenciamento ambiental, as atividades de galvanoplastia (cobragem, cromagem, douração, estanhagem, zincagem, niquelagem, prateação, chumbagem, esmaltagem e serviços afins) são enquadradas como serviços de galvanotécnica (PEREZ et al., 2014).

As indústrias de galvanoplastia são situadas dentro do ramo metalmeccânica, mas dedicada ao tratamento de superfícies metálicas ou plásticas com materiais diversos, principalmente metálicos. Os materiais como cádmio, o chumbo e o zinco são usados normalmente quando se deseja proteção contra a corrosão; o cobre, cromo, ouro e prata são empregados tendo em vista efeitos decorativos; platina e prata são usadas na cobertura de contatos elétricos; antimônio, bronze e cromo nas superfícies de atrito de máquinas (WIEDERHOLT, 1965).

As atividades das indústrias responsabilizam nos dias de hoje uma crescente importância pelo motivo do número de produtos que utilizam a cobertura metálica de superfícies para sua funcionalidade e finalidade. Com isso a galvanoplastia se torna uma das etapas de produção de diversas indústrias metal mecânicas, eletroeletrônicas, automobilísticas, mobiliárias e de semijóias.

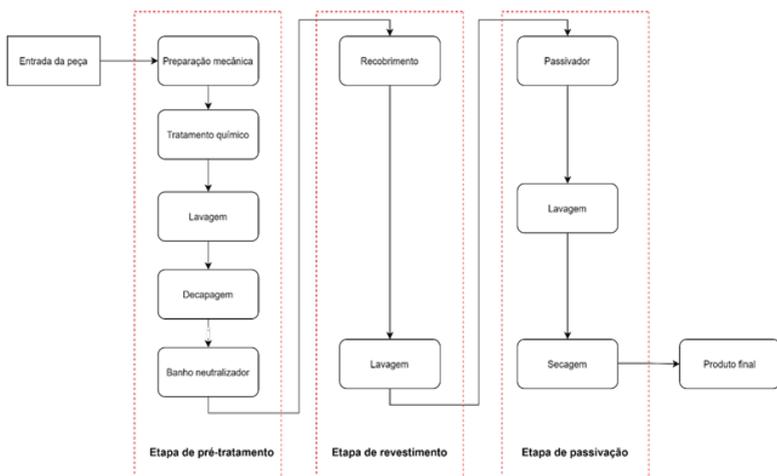
A indústria galvânica é potencialmente poluidora devido ao tipo de resíduo que gera. Estes resíduos sólidos são classificados

como perigosos de classe I (ABNT, 2004). A utilização de cianeto e de diversos metais pesados como cromo, ferro, cobre, níquel, zinco, chumbo, entre outros, podem estar presentes no efluente, e comprometem a qualidade dos corpos receptores pela toxicidade que apresentam. A galvanoplastia está inserida como atividade potencialmente causadora de degradação ambiental.

Etapas do processo

Para iniciar o processo de galvanoplastia o material deve estar em condições adequadas para receber o revestimento eletrolítico, assim deve estar limpo, livre de graxas, gorduras, óxidos, restos de tintas e outras impurezas, não apresentar ter falhas, poros e lacunas. Nas lacunas se acumulam sujeiras de massa politriz, ou de outra espécie qualquer, que evitará a deposição da camada de revestimento (PUGAS, 2007). O processo de galvanoplastia é composto em uma sequência de banhos que envolvem as etapas de pré-tratamento, revestimento e passivação (AMARAL, 2001). A Figura 1 mostra um fluxograma representado as etapas da galvanoplastia.

Figura 1: Fluxograma do processo produtivo de galvanoplastia



Fonte: Adaptado de Amaral (2001).

O pré-tratamento que é responsável por remover as imperfeições e materiais aderidos da superfície das peças. Inicialmente utiliza-se o processo mecânico através de escovas de aço ou esmeril para retirar e limpar as rebarbas que possam estar presentes na peça, após as peças são colocadas em uma solução aquosa alcalina que possui efeito de remover as impurezas (graxas). O passo seguinte é a lavagem com água, realizando o mergulho do material em tanques para retirada dos resquícios da solução alcalina. Neste momento, a peça já está sem engastes, lisa e limpa. O próximo passo é a retirada da ferrugem que é realizada na decapagem conforme ilustrado na Figura 2, na qual serão imersas num ácido, usualmente sulfúrico, para retirada desta camada de óxidos. Feito isso se passa ao banho neutralizador a fim de restaurar o pH, dando fim a etapa de pré-tratamento (AMARAL, 2001).

Figura 2: Antes e depois do processo de decapagem



2: Antes e depois do processo de decapagem.

Fonte: Tref Steel (2021).

O revestimento é uma das etapas do processo galvânico e refere-se à deposição eletrolítica, o procedimento se dá pela aderência do metal que se desprende do ânodo atravessando o banho, a qual se chama eletrólito, pela ação da eletricidade. Neste processo pode ser usado zinco, níquel, ouro, prata, entre outros tipos de metais.

Em seguida, é realizado novamente uma lavagem com água para retirar o excesso do material depositado sobre as superfícies metálicas. Aprimorando o acabamento, é feito o processo

de passivação da peça que consiste na submersão em banho, usualmente, de ácido nítrico, aumentando assim sua resistência à oxidação. Por fim, as peças sofrem mais uma lavagem e secagem para finalizar o processo da galvanoplastia (AMARAL, 2001).

As reações de limpeza e revestimento das peças acontecem em tanques, normalmente de ferro, revestido internamente com polipropileno ou cloreto de polivinila providos de duas barras laterais de cobre onde são posicionados os eletrodos positivos, que se oxidam durante as reações. As peças, onde sucedem às reações de redução, são presas em suportes denominados gancheiras e dispostos em uma terceira barra metálica fixada na porção central do tanque (PUGAS, 2007). A Figura 3, mostra uma visão de parte de uma área da indústria de galvanoplastia.

Figura 3: Visão de parte de uma indústria de galvanoplastia.



Fonte: PERES et al. (2014).

Risco ambiental

O setor industrial é um dos principais responsáveis pela contaminação de águas e solos, seja pela negligência no seu

tratamento ou por acidentes e descuidos cada vez mais frequentes, que provocam o lançamento de muitos poluentes nos ambientes aquáticos.

Dentre estes poluentes tem-se os metais pesados que são elementos químicos de peso atômico relativamente alto, que em concentrações elevadas são muito tóxicos. Eles se diferenciam de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem destruídos pelo organismo humano. As atividades industriais têm introduzido metais pesados nas águas numa quantidade maior do que aquela que seria natural, entre os mais perigosos estão o mercúrio, o cádmio, cromo e o chumbo (SANTIAGO, 2008).

Os efeitos tóxicos dos metais são considerados como eventos de curto prazo, agudos e evidentes, como anúria e diarreia sanguinolenta, decorrentes da ingestão de mercúrio. A manifestação dos efeitos tóxicos está associada a dose e pode distribuir-se por todo o organismo, afetando vários órgãos, alterando os processos bioquímicos, organelas e membranas celulares (VIVA TERRA, 2008). Tratar os poluentes gerados em indústrias galvânicas é, portanto, indispensável, independente do volume de descartes.

Efluentes gerados

Os efluentes líquidos são derivados do descarte de banhos químicos e das águas de lavagem. São geralmente coloridos, emitem vapores, alguns estão com temperatura superior a ambiente e seus pHs atingem os extremos ácidos ou alcalinos (PUGAS, 2007). As fontes de emissão dos efluentes líquidos é os efluentes contínuos da lavagem após o desengraxe alcalino; após a decapagem ácida; efluentes crômicos após banhos de cromo em gera; efluentes cianídricos após banhos de cobre, zinco, cádmio, prata, ouro; efluentes gerais ácidos e gerais alcalinos (CETESB, 1984) (PONTE, 2000).

As lamas do tratamento de águas residuárias e das precipitações dos tanques de lavagem e de decapagem, se

caracterizam por conterem altos teores de ferro, óleos e graxas, e em alguns casos baixo pH. Metais como zinco e chumbo podem aparecer nos resíduos constituídos pelas barras do banho de zinco e pó retidos nos filtros de tecidos ou precipitadores eletrostáticos (CETESB, 1984).

Tipos de tratamento para os efluentes líquidos

Existem várias técnicas desenvolvidas para o tratamento de águas residuárias carregadas com metal pesado, a fim de promover a redução do consumo de água pelas indústrias através do sistema de ciclo da água e também com a finalidade de melhorar a qualidade do efluente tratado, a ser lançado em um corpo receptor. Muitos fatores devem ser levados em conta para a escolha do sistema de tratamento de efluentes na galvanização, tais como a concentração do cromo e de outros contaminantes presentes, custos de operação, normas governamentais de descarte, entre outros (ARAÚJO, 2006).

Os tratamentos físicos dependem das características físicas do efluente, como viscosidade, tamanho e peso da partícula, etc. No entanto, o tratamento químico depende das propriedades químicas dos contaminantes ou de seus reagentes inseridos, sendo que este processo pode ser realizado através de troca iônica, neutralização, precipitação, coagulação, etc (PERINI *et al.*, 2014).

Dentre diversos processos disponíveis de tratamento, as comumente empregadas para remover os metais pesados presente nas águas residuárias contaminadas, são: a precipitação química, processos de separação por membranas, a troca de íons, a adsorção e a coagulação-floculação (KURNIAWAN *et al.*, 2006).

Precipitação química

No setor da galvanização os tratamentos com precipitação química são os mais empregados no setor, é amplamente aplicada para remoção de metal pesado de efluentes inorgânicos. Com o

ajuste do pH para as condições básicas, em torno de 11, os íons metálicos dissolvidos formam uma fase sólida insolúvel no meio líquido, por meio de uma reação química, promovida pela adição de um agente básico, também chamado de agente precipitante, que fomenta a precipitação do metal pesado na forma de compostos básicos. Após a reação química resultada no processo, a solução é filtrada, sendo o filtrado a solução a ser lançado e o retido no filtro o resíduo contendo os metais pesados (KURNIAWAN *et al.*, 2006)

Basicamente, os efluentes, são tratados com soluções de cal hidratada e soda cáustica até a formação do precipitado. Uma limitação deste método de tratamento é quando os metais estão presentes na forma de complexos, neste caso, torna-se necessário antes da aplicação básica do agente precipitante, fazer a quebra dos complexos com reagentes adequados, para posteriormente precipitar os metais (FAVARON, 2004).

As principais vantagens da precipitação química são o baixo custo e operação e manutenção dos equipamentos ser relativamente simples. Devido às condições de elevada supersaturação, os sólidos formados são coloidais e requerem etapas de coagulação/floculação para sua separação da fase líquida residual. Uma quantidade considerável de precipitado (lama) usualmente classificado segundo a norma ABNT-NBR 10.004 como resíduo classe I, perigoso e tóxico, é gerado como resíduo do processo de tratamento. A disposição final da lama gerada deve ser realizada em aterros industriais controlados ou, quando possível, pode ser enviada para coprocessamento em fornos de clínquer, o que representa custos significativos de implantação e manutenção, consistindo, ainda, em um impacto ambiental negativo considerável.

As principais desvantagens da precipitação química são a possibilidade de reações paralelas em função da composição química do efluente e da necessidade de se estabelecer a dose do agente alcalinizante através de testes de jarros. A superdosagem do agente pode reduzir a eficiência do tratamento devido à formação de hidroxocomplexos solúveis. Além disto, para uma eficiente etapa de separação sólido-líquido, é necessária uma etapa subsequente

de coagulação-floculação, o que pode elevar os custos do processo como um todo (EPA, 2000).

Processos de separação por membranas

Os processos de separação de membranas têm se destacado em relação ao tratamento de efluente para sua reutilização, pois permite o uso de sistemas de tratamento compactos, gerando água de boa qualidade, o que possibilita que as indústrias economizem (GALVÃO, 2018). As técnicas de separação por membrana podem auxiliar na obtenção de uma adequada qualidade de água, o que permite sua reciclagem no processo produtivo de indústrias de revestimentos metálicos (INSEL *et al.*, 2017).

A separação por membranas é realizada por meio da separação de dois ou mais componentes de uma corrente fluida baseada, primeiramente, na diferença de tamanhos. Convencionalmente, a filtração refere-se à separação de partículas sólidas de correntes líquidas ou gasosas. A filtração por membranas, estende esta aplicação à separação de solutos dissolvidos em correntes líquidas e a separação de misturas gasosas. Dentre os processos de separação por membranas para tratamento de efluentes destacam-se a microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), a nanofiltração (NF) e a osmose reversa (OR), que utilizam pressão hidráulica como força motriz (METCALF; EDDY, 2016).

As membranas de ultrafiltração (UF) apresentam poros na faixa de 1-100 nm e podem reter solutos com uma ampla faixa de massa molecular. Esta técnica de separação é orientada em processo sob pressão, em que a membrana atua como barreira semipermeável, fazendo a retenção de partículas sólidas em suspensão, metais pesados e macromoléculas com base no tamanho do poro (KURNIAWAN *et al.*, 2006).

Esta tecnologia, utilizada como único método de tratamento de efluentes da galvanoplastia, pode remover íons de metais pesados com alta eficiência. No entanto, envolve altos custos, complexidades

de processo, incrustações de membrana e baixo fluxo de permeado, o que limita seu uso (PETRINIC *et al.*, 2015).

O processo de osmose reversa se destaca de outras técnicas de separação de soluto, e é uma técnica muito empregada no processo de dessalinização da água do mar (LIU *et al.*, 2008). Neste processo de tratamento, o efluente passa por membranas semipermeáveis capazes de remover grande quantidade de sais e íons metálicos dissolvidos. No processo de osmose reversa extrai-se a água pura da solução rica em concentrados dissolvidos (efluente), usando um sistema com pressão acima da pressão osmótica do efluente, cujos compartimentos são separados por uma membrana seletiva permeável (GEANKOPLIS, 2003).

Troca de íons

No tratamento de efluentes por troca iônica, o efluente a ser tratado é conduzido por um duto carregado por uma resina que possui a propriedade de reter os contaminantes iônicos, por exemplo, metais pesado em solução. Neste processo, os íons de mesma carga são trocados entre uma solução e um corpo sólido muito insolúvel em contato com ela. O sólido (trocador de íons) ou resina deve conter seus próprios íons para que a troca processe com rapidez e, na extensão suficiente para ter interesse prático. O sólido deve ter uma estrutura molecular aberta, permeável, de modo que os íons e as moléculas da solução façam o movimento de dentro e para fora da estrutura. Os trocadores de íons têm uma natureza complexa e são, na realidade, polímeros (PIETROBELLI *et al.*, 2007).

Estes polímeros ou resinas são compostos sintéticos formados por macromoléculas orgânicas catiônicas ou aniônicas, que interagem com ácidos, bases e sais em meio aquoso. No entanto, deve-se evitar a passagem de efluentes muito ácidos ou básicos, o que pode deteriorar a resina. Quando a resina atinge a exaustão (o ponto no qual todos os sítios ativos disponíveis foram substituídos), deve-se efetuar a sua regeneração (CLARK, 1995).

Adsorção

Adsorção ocorre quando uma molécula de soluto, presente em uma solução, acumula-se na superfície de um sólido devido à ação de forças de superfícies não balanceadas. Isto acontece quando uma superfície é colocada em contato com uma solução. Aplicando o processo de adsorção, no tratamento de efluentes, os íons de metais pesados dissolvidos neste efluente são chamados de adsorvato, eles são transferidos para a superfície de uma fase sólida (adsorvente). A migração destes componentes dissolvidos de uma fase para outra tem como força motriz a diferença de concentração entre o seio do fluido e a superfície do adsorvente. Usualmente o adsorvente é composto de micropartículas que são empacotadas em um leito fixo, por onde passa a fase fluida continuamente até que não haja mais transferência de massa. Uma vez que o adsorvato concentra-se na superfície do adsorvente, quanto maior for esta superfície maior será a eficiência da adsorção. Por isso, geralmente os adsorventes são sólidos com partículas porosas (BORBA *et al.*, 2007).

A capacidade de adsorção está diretamente relacionada com a superfície total do adsorvente, pois quanto maior é a superfície, maior será a intensidade das forças não balanceadas disponíveis para adsorção. A adsorção pode ser química ou física. Na adsorção química, as moléculas ou átomos unem-se à superfície do adsorvente por ligações químicas e tendem a se acomodar em sítios que propiciem o número de coordenação máximo com o substrato.

Na adsorção física há uma interação de van der Waals entre o adsorvato e o adsorvente. As interações do tipo van der Waals são de longo alcance, mas fracas, e a energia liberada quando uma partícula é adsorvida fisicamente é da mesma ordem de grandeza que a entalpia de condensação (ATKINS, 1994).

No processo de adsorção, empregam-se, como adsorventes, compostos de natureza inorgânica como: carvão ativado, sílica gel, alumina, zeólitas, etc., e de natureza orgânica como: macrófitas aquáticas e diversas biomassas, tidas como resíduos industriais.

Todos capazes de remover metais pesados de meios aquosos (PIETROBELLI *et al.*, 2007; HINES; MADDOX, 1985). Para serem considerados bons absorvedores os adsorventes precisam ser porosos e ter grande área superficial (VEIT, 2006).

Coagulação-floculação

Um efluente industrial pode conter inúmeras substâncias, elementos químicos e microrganismos considerados como impurezas, que podem prejudicar o meio ambiente e a saúde humana, se não forem reduzidos ou eliminados antes do lançamento do efluente em um corpo receptor. Estas impurezas presentes em um efluente podem ser dispersões coloidais ou substâncias dissolvidas. Na maior parte dos casos, estas impurezas possuem cargas superficialmente negativas, impedindo que as mesmas se aproximem.

Nos efluentes ou águas contaminadas, as dispersões coloidais estão presentes na forma de coloides hidrofílicos e coloides hidrofóbicos. Coloides hidrofílicos estão prontamente dispersos em água e não possuem tendência para aglomeração; são estáveis e eles possuem carga ligeiramente negativa. São exemplos de materiais coloidais hidrofílicos: sabões, amido solúvel, proteínas solúveis e detergentes sintéticos. Coloides hidrofóbicos não possuem nenhuma afinidade com água e devem sua estabilidade às cargas elétricas que possuem. Uma taxa de íons positivos, vindos a partir da água, são adsorvidos sobre os coloides e a repulsão eletrostática entre as partículas coloidais carregadas produz uma dispersão coloidal estável (CLARK *et al.*, 1977).

Assim, a aplicação do processo de coagulação sobre o meio a ser tratado irá promover a desestabilização e agregação inicial da matéria coloidal ou substâncias dissolvidas, pela adição de produtos químicos. Para desestabilizar as impurezas faz se necessário alterar suas características físico-químicas, por meio do processo de coagulação, geralmente, realizado com sais de alumínio e ferro, que resultam em um fenômeno químico, onde ocorrem reações

do coagulante com a água, formando espécies hidrolisadas com a carga positiva e o surgimento do fenômeno físico que consiste no transporte das espécies hidrolisadas, para que haja contato com as impurezas presentes (VALENZUELA, 2008).

Considerações finais

A partir das informações sobre a indústria de galvanoplastia é notável que é de suma importância a necessidade do tratamento dos efluentes líquidos gerados, pois possuem alto teor de metais pesados devido aos banhos que estão presentes no processo. Assim, dentre todos os tratamentos existentes, e que foram apresentados no trabalho, a indústria deve manter seu efluente dentro das normas da legislação para então ser possível o despejo.

Referências

AMARAL, Cristina V. **Aplicação do Protocolo de Avaliação de Resíduos Solidificados aos Lodos de Galvanoplastia Incorporados em Matrizes de Cimento Portland**. 2001. 108 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Florianópolis, 2001.

ARAÚJO, Nícia V. S. de. **Galvanoplastia com cromo - diagnósticos das condições ambientais e ocupacionais em pequenas empresas**. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 10004 – Resíduos sólidos – classificação**. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

ATKINS, P. W. **Physical Chemistry**. 5th ed., Oxford University Press: Oxford, 1994.

BORBA, C. E.; SILVA, E. A.; FAGUNDES-KLEN, M. R.;

KROUMOV, A. D.; GUIRARDELLO, R. **Prediction of the copper (II) ions dynamic removal from a medium by using mathematical models with analytical solution.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 152, p. 366-372, 2007.

CASAGRANDE, D. F. **Minimização de impactos ambientais da indústria galvânica através do uso de soluções livres de cianeto.** 2009. 76 f. Dissertação de Mestrado, Centro Universitário Feevale, Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. Novo Hamburgo, 2009.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Processo de Galvanização por Imersão a Quente.** Junho de 1984.

CLARK, J. H. **Chemistry of waste minimization.** London: Kluwer Academic Publishers, 1995.

CLARK, J. W.; JR., M. V.; HAMMER, M. J. **Water supply and pollution control.** New York: Harper & Row, 1977.

COLARES, C. J. G.; JÚNIOR, E. J. de S.; COLARES, E. C. G.; COSTA, O. S. da. **Estudo de caso do tratamento de efluentes líquidos gerados no processo de galvanoplastia.** Anais do VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação Universidade Estadual De Goiás. 10 a 12 de nov., 2010.

CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE. Aprova a Listagem das Atividades Consideradas Potencialmente Causadoras de Degradação Ambiental passíveis de licenciamento ambiental pela Fundação do Meio Ambiente – FATMA e a indicação do competente estudo ambiental para fins de licenciamento. **Resolução 003/2008**, de 29 de abril de 2008. Disponível em: <www.fatima.sc.gov.br/pesquisa/PesquisaDocumentos.asp>. Acesso em 13 de maio de 2021.

EPA (US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). **Chemical Precipitation.** US EPA, Washington, DC, 2000 (EPA832-F-00-018).

FAVARON, R. **Desenvolvimento de métodos voltamétricos para a determinação de zinco, cobre, chumbo, níquel, estanho e cromo em águas de efluentes de indústrias de galvanoplastia.** 2004. 157 f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2004.

FOLDES, P. A. **Galvanotécnica.** Prática I e II. São Paulo: Polígono, 1974.

GALVÃO, D. F. **Membrane Technology and Water Reuse in a Dairy Industry, Technological Approaches for Novel Applications in Dairy Processing.** Intech Open, Londres, 2018.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport processes and separation process principles.** 4^a ed. New Jersey: Person Education LTD, 2003.

HAMAZAKI, P.; PAIXÃO, A.; VIEIRA, E.; PINHEIRO, F.; TORRES, G. M.; PREZOTO, M. G. **PHA 3001- Engenharia e Meio Ambiente.** Universidade de São Paulo – USP, 2017.

HINES, A. L.; MADDIX, R. N., **Mass transfer: Fundamentals and applications.** New Jersey: Prentice-Hall PTR, 1985.

INSEL, G.; GUMUSLU, E.; YUKSEK, G.; UCAR, N.S.; COKGOR, E. U.; OLMEZ-HANCI, T.; TAS, D.O.; BABUNA, F. G.; ERTEM, D. F.; YILDIRIM, O.; ERTURAN, O.; KIRCI, B. Evaluation of water reuse in a metal finishing industry. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 1, p. 421-425, 2017.

KAWAI, L. **Poluição Ambiental**, 2008. Disponível em: <http://www.profcupido.hpg.ig.com.br>. Acesso em: 14 de maio de 2021.

KURNIAWAN, T. A.; CHAN, G. Y. S.; LO, W.; BABEL, S. Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. **Chemical Engineering Journal**, v. 118, n.1-2 p.83-98, 2006.

LIU, M.; SANCHUAN, Y.; TAO, J.; GAO, C. Preparation, structure characteristics and separation properties of thin-

film composite polyamide-urethane seawater reverse osmosis membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 325, n. 1, p.947-956, 2008.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1991.

NOGUEIRA, L.S.; PASQUALETTO, A. **Plano de Prevenção de Riscos Ambientais (PGRA) para Empresas de Galvanoplastia**. 2008. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Departamento de Engenharia – Engenharia Ambiental. Goiânia, 2008.

PALÁCIO, Soraya M. *et al.* **Tratamento de efluente de cromagem por eletrocoagulação. 4º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente**. Bento Gonçalves – RS, Brasil, 23 a 25 de Abril de 2014.

PASQUALINI, A. **Estudo de Caso Aplicado a Galvanoplastia**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Florianópolis, 2004.

PEREZ, I. C.; CORRÊA, R. G.; PIRES, J. L.; **Galvanoplastia: Orientações para controle ambiental**. Instituto Estadual do Ambiente, Rio de Janeiro: INEA, 2014.

PERINI, S. J. B.; SOUZA H.C.M.; MOLIN M.L.; PERINI B.L.B. **Avaliação dos processos de precipitação química de efluente galvânico com hidróxido de cálcio e carbonato de sódio**. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química COBEQ. Florianópolis/ SC, p. 1–6, out, 2014.

PETRINIC, I.; KORENAK, J.; POVODNIK, D.; HÉLIX-NIELSEN, C. A feasibility study of ultrafiltration/reverse osmosis (UF/RO) –based wastewater treatment and reuse in the metal finishing industry. **Journal of Cleaner Production**, v. 101, p. 292-300, 2015.

PIETROBELLI, J. M. T. DE A.; MÓDENES, A. N.; FAGUNDES-KLEN, M. R., ESPINOZA-QUIÑONESM F.R. Cadmium, Copper and Zinc Biosorption Study by Non-Living

Egeria densa Biomass. **Water Air Soil Pollution**, v. 202, p.385-392, 2009.

PONTE, H. A. **Tratamento de Efluentes Líquidos de Galvanoplastia**. 2000. 85 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais, 2000.

PUGAS, M. S. **Íons de Metais Pesados Ni, Cu e Cr em Área Impactada por Resíduos de Galvanoplastia na Região Metropolitana de São Paulo**. São Paulo, 2007.

RIANI, J. C. **Utilização de resinas de troca-iônica em efluentes de galvanoplastia**. Tese de doutorado, escola Politécnica, USP – São Paulo, 2008.

RICHTER, C. A.; NETTO, J. M. de A. **Tratamento de Água**. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 1991.

SANTIAGO, F. **Poluição Ambiental por Metais**. Disponível em: <http://www.fernadosantiago.com.br/met90.htm>. Acesso em: 10 maio. 2021.

SERVIÇO SOCIAL DE INDÚSTRIA – SESI. Diretoria de Assistência Médica e Odontológica – DAM. Gerência de Segurança e Saúde no Trabalho – GSST. **Manual de segurança e saúde no trabalho**. / Gerência de Segurança e Saúde no Trabalho. – São Paulo: SESI, 2007.

TREFSTEEL. Disponível em: <https://www.trefsteel.com.br> Acesso em: 4 junho de 2021.

VALENZUELA, J. **Tratamento de efluentes em indústrias galvanotécnicas**. 2ªed. São Paulo: Páginas & Letras, 2008.

VAZ, L. G. de L. **Performance do processo de coagulação/floculação no tratamento do efluente líquido gerado na galvanoplastia**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2009.

VAZ, LUIZ G.de L. *et al.* **Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia.** *Eclética Química*, v 35, n4, p.45-54, 2010.

VEIT, M.T. **Estimação dos parâmetros de transferência de massa para bioissorção de cromo (III) e níquel (II) num sistema de contínuo em coluna de leito fixo pela biomassa de alga marinha sargassum filipendula.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química).

VIVA TERRA. **Metais Pesados.** Disponível em: <http://www.vivaterra.org.br>. Acesso em: 10 junho de 2021.

WIEDERHOLT, W. **The Chemical Surface Treatment of Metals.** In: R. Draper, Editor, pp. 145–179. Teddington.1965.

EXPRESSÕES ACADÊMICAS 2021

engenharia de alimentos & engenharia química

Expressões Acadêmicas é o resultado das pesquisas que envolveram os trabalhos monográficos desenvolvidos pelos acadêmicos dos Cursos de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim, no decorrer do ano de 2021.

A obra está estruturada em doze capítulos. Desses, oito envolvem pesquisas experimentais e quatro pesquisas bibliográficas. A leitura dos capítulos não necessita ser realizada de modo contínuo. Cada capítulo é independente e estes versão sobre os mais diferentes campos de pesquisa envolvendo a Engenharia Química e a Engenharia de Alimentos, a saber: análises de bebidas, alimentos e produtos de higiene, tratamento de águas, efluentes e resíduos sólidos, caracterização enzimática, líquidos iônicos e subprodutos da indústria.

