

**LORENA DA COSTA NASCIMENTO**

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE  
FENILALANINA COM ADOGEN 464 PELA TÉCNICA DE  
MEMBRANAS LÍQUIDAS SURFATANTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação em Engenharia Química da  
Universidade Federal de Minas Gerais

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Adriane Salum

Belo Horizonte  
Escola de Engenharia da UFMG  
Julho / 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE  
FENILALANINA COM ADOGEN 464 PELA TÉCNICA DE  
MEMBRANAS LÍQUIDAS SURFATANTES**

Autora: Lorena da Costa Nascimento

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriane Salum

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação em Engenharia Química como parte dos  
Requisitos exigidos para a obtenção do título de  
**MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA**

Belo Horizonte

Julho / 2006

Este trabalho é dedicado à minha Mãe.

## **AGRADECIMENTOS**

À Adriane Salum, minha orientadora, pela experiência, apoio, paciência e amizade durante todo o desenvolvimento do trabalho.

À Tânia L. S. Miranda pelos conhecimentos transmitidos, incentivo e carinho.

À Cibele Konzen pela boa vontade em ajudar, pelas críticas, sempre construtivas, e pelo carinho.

Ao Leandro Dornellas pelo afincamento no desenvolvimento de suas atividades e pela imensa colaboração.

Aos Srs. Emílio e Alexandre pela grande ajuda nas análises laboratoriais.

Ao Geraldo L. da Silva pelas dicas e sugestões.

À Cláudia pelo carinho.

À Andréa grande amiga e companheira de laboratório.

Aos amigos Jorge, Júlio e Cecília que tornaram mais divertida esta etapa.

Aos meus pais pelo carinho, compreensão, colaboração, estímulo e paciência.

Ao Thiago pelo carinho, companheirismo e paciência.

Ao vô Borá pela presença em todos os momentos de minha vida.

Ao Guilherme pelo carinho e amizade.

Ao Departamento de Engenharia Química da UFMG.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da eficiência da técnica de membranas líquidas surfatantes (MLS) aplicada à extração de fenilalanina (Phe) presente em soluções aquosas sintéticas, estabelecendo condições para essa extração, que servissem de base, em estudos posteriores, para a obtenção de uma formulação dietética, um hidrolisado protéico, com baixos teores de Phe, para complementação dietética de fenilcetonúricos. O estudo foi dividido em ensaios descontínuos de emulsificação e de permeação. Nos experimentos de emulsificação, avaliaram-se os efeitos individual e conjunto da concentração de extratante, surfatante e modificador sobre o tempo para coalescência da emulsão primária. No estudo da permeação, as variáveis investigadas foram: concentrações de surfatante e extratante, tempo de permeação e velocidade de agitação, razão volumétrica fase interna/fase membrana (FI/FM), razão volumétrica fase externa/emulsão primária (FE/EP) e concentração da solução de KCl na fase interna, que afetam o desempenho da técnica e influenciam na extração desse aminoácido. Estudou-se, também, o efeito, no processo, do uso de uma fase membrana reciclada. Os resultados dos ensaios de emulsificação mostraram que o surfatante, além de estabilizar a membrana, parece ter um papel semelhante ao do álcool, quando esse reagente não está presente na fase membrana, no que tange à solubilização da amina em diluente de baixa polaridade; e que o extratante, uma amina quaternária, auxilia a estabilização da emulsão primária em sistemas que não possuem modificador. Os resultados obtidos nos ensaios de permeação indicaram que o sistema apresenta melhores condições de extração para as variáveis operacionais nos seguintes níveis: [ECA 4360] = 2% m/m; [Adogen 464] = 2% m/m; tempo de permeação = 5 minutos; velocidade de agitação = 120 rpm; razão FM/FI = 2:1; razão FE/EP = 3:1, e  $[KCl]_{FI} = 2,0 \text{ mol/L}$ . Sob estas condições, o sistema promove uma extração de, aproximadamente, 75% do soluto presente na fase externa, associada a um percentual de inchamento de 60% e a uma concentração de Phe na fase interna 4,5 vezes maior do que a concentração inicial desse soluto na fase de alimentação. Nas condições consideradas mais adequadas para o sistema, foram realizados 3 ensaios de permeação com três repetições, o primeiro com uma fase membrana fresca e os demais com a fase membrana final do experimento anterior. Os experimentos realizados com as fases membranas recicladas indicaram que estas apresentavam uma redução de 45% na capacidade de extração de Phe quando comparadas com a fase membrana fresca. As fases membranas foram reutilizadas em dois ciclos de extração subseqüentes apresentando desempenhos similares em ambos os ciclos.

## ABSTRACT

In this work, the process efficiency of surfactant liquid membranes applied to phenylalanine extraction from synthetic aqueous solutions was evaluated. A study of the effects of relevant parameters on the system behavior was carried out in order to establish appropriate conditions of extraction. The aim was to use these conditions as an experimental basis to perform posterior researches for production of a dietetic formulation containing low levels of phenylalanine, as a dietetic supplement for phenylketonurics. The experimental work was separated in batch runs of emulsification and permeation. From the emulsification experiments, the individual and coupled effects of surfactant, carrier and modifier concentrations upon the coalescence time of the primary emulsion could be evaluated. In the permeation study, several parameters that could affect the technique performance on the amino acid extraction were investigated. These variables were the following: surfactant and carrier concentrations, time of permeation, stirring speed, membrane phase/inner phase volumetric ratio, feed phase/ primary emulsion volumetric ratio and KCl concentration in the inner phase. Finally, the influence of the use of recycled membranes on the separation process was investigated. The results of the emulsification experiments showed that the surfactant affects the membrane stability, as expected, and that it can act like a modifier agent, improving the amine solubilization in the organic phase of low polarity. Further, it was observed that the carrier is also able to stabilize the primary emulsion in systems without the presence of the modifier. The results obtained from the permeation experiments indicated that the system presented better extraction conditions when the studied operational variables were set at the following conditions: [ECA 4360] = 2% w/w; [Adogen 464] = 2% w/w; time of permeation = 5 minutes; stirring speed = 120 rpm; FM/FI ratio = 2:1; FE/EP ratio = 3:1, e  $[KCl]_{FI} = 2,0$  M. Under these conditions, 75% of the solute could be extracted from the feed phase, associated with a swelling percentage of 60% and an inner phase phenylalanine concentration 4,5 times greater than the initial one on the feed phase. The experiments carried out with recycled membranes indicated that these could be reused with 45% reduction in the Phe extraction capacity when compared to fresh membrane phase. The spent membrane phases were reused two subsequent extraction cycles, presenting similar performances in both cycles.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xiv
NOMENCLATURA.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS E RELEVÂNCIA.....	6
3. AMINOÁCIDOS, FENILALANINA E FENILCETONÚRIA.....	8
3.1. Aminoácidos.....	8
3.2. Fenilalanina.....	13
3.3. Fenilcetonúria Clássica.....	16
3.3.1. Variantes hiperfenilalaninêmicas.....	18
3.3.2. Diagnóstico.....	20
3.3.3. Tratamento para fenilcetonúria.....	21
3.3.4. Monitoração.....	24
3.4. Substitutos Protéicos.....	24
3.4.1. Misturas de aminoácidos.....	24
3.4.2. Formulações com hidrolisados protéicos.....	25
3.5. Métodos de Remoção da Fenilalanina.....	26
4. MEMBRANAS.....	29
4.1. Membranas Líquidas Sulfatantes.....	30
4.2. Processo de Separação por Membranas Líquidas Sulfatantes.....	33
4.2.1. Emulsificação.....	33
4.2.2. Permeação.....	39
4.2.3. Decantação.....	42
4.2.4. Desemulsificação.....	43
4.3. Transferência de Massa em Membranas Líquidas Sulfatantes.....	44
4.4. Problemas Associados à Técnica MLS.....	48
4.4.1. Instabilidade da membrana.....	49
4.4.1.1. <i>Osmose</i> .....	52
4.4.2. Permeação reversa do soluto.....	55
4.4.3. Reprodutibilidade das emulsões.....	55

4.4.4. Seletividade do processo.....	55
4.4.5. Efeitos de sólidos coloidais.....	55
4.4.6. Cinética de extração.....	56
4.5. Extração de Aminoácidos pela Técnica MLS.....	56
5. METODOLOGIA.....	68
5.1. Definição do Sistema de Extração e das Variáveis Operacionais.....	68
5.2. Ensaios Descontínuos de Emulsificação.....	75
5.3. Ensaios Descontínuos de Permeação.....	77
5.4. Ensaios Descontínuos de Permeação Utilizando Membranas Recicladas.....	80
5.5. Reagentes Utilizados.....	80
5.6. Metodologia Analítica.....	81
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
6.1. Ensaios de emulsificação.....	82
6.2. Ensaios de Permeação.....	95
6.2.1. Influência da concentração de surfatante.....	95
6.2.2. Influência da concentração de extratante.....	102
6.2.3. Influência do tempo de permeação.....	108
6.2.4. Influência da velocidade de agitação na etapa de permeação.....	114
6.2.5. Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna.....	118
6.2.6. Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária.....	124
6.2.7. Influência da concentração da solução de KCl na fase interna.....	129
6.3. Ensaios de Permeação Utilizando Membranas Recicladas.....	131
7. CONCLUSÕES.....	136
8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	139
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	140
ANEXO A.I –.....	147
CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE FENILALANINA NA FASE EXTERNA.....	147
ANEXO A.II –.....	149
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE EMULSIFICAÇÃO.....	149
ANEXO A.III –.....	151
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE PERMEAÇÃO.....	151
ANEXO A.IV –.....	162



RESULTADOS OBTIDOS NOS ESTUDOS DE REOLOGIA .....	162
ANEXO AV –.....	167
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE RECICLAGEM DA FASE MEMBRANA.....	167

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 - Estrutura básica dos aminoácidos.....	8
FIGURA 3.2 - Estrutura molecular da prolina. ....	9
FIGURA 3.3 - Formas iônicas de um aminoácido. ....	10
FIGURA 3.4 - Curva de titulação da glicina. ....	11
FIGURA 3.5 - Formação de uma ligação peptídica. ....	13
FIGURA 3.6 - Estrutura molecular da fenilalanina.....	14
FIGURA 3.7 - Vias metabólicas da fenilalanina e da tirosina.....	15
FIGURA 4.1 - Preparação das emulsões primária e múltipla.....	32
FIGURA 4.2 - Representação das emulsões múltiplas.....	32
FIGURA 4.3 - Etapas do processo de extração pela técnica de membranas líquidas surfatantes.....	33
FIGURA 4.4 - Distribuição das moléculas de surfatante nas interfaces A/O e O/A.....	35
FIGURA 4.5 - Perfil de concentração através de uma membrana líquida plana.....	45
FIGURA 4.6 - Mecanismo de contra-transporte. ....	47
FIGURA 4.7 - Representação do mecanismo de contra-transporte para extração de fenilalanina.....	48
FIGURA 4.8 - Formação da região nodal.....	50
FIGURA 4.9 - Ruptura da membrana devido à osmose. ....	51
FIGURA 5.1 - Montagem do coalecedor eletrostático (perspectiva em corte). ....	76
FIGURA 5.2 - Representação esquemática da metodologia adotada nos ensaios de emulsificação. ....	77
FIGURA 5.3 - Representação esquemática da etapa de permeação.....	79
FIGURA 5.4 - Representação esquemática da metodologia adotada nos ensaios de..... permeação. ....	79
FIGURA 6.1 - Influência da concentração de extratante no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de surfatante e de modificador.....	83
FIGURA 6.2 - Influência da concentração de surfatante no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de extratante e de modificador.....	87

FIGURA 6.3 - Influência da concentração de modificador no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de surfatante e de extratante.....	90
FIGURA 6.4 – Representação esquemática dos dois ensaios de quebra referentes ao experimento 5. ....	94
FIGURA 6.5 – Influência da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador, sobre a extração de fenilalanina da fase externa e sobre o inchamento da fase interna. ....	96
FIGURA 6.6 – Influência da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador, sobre a viscosidade da fase membrana.....	99
FIGURA 6.7 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador.....	100
FIGURA 6.8 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre a extração de fenilalanina da fase externa para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m.....	102
FIGURA 6.9 – Influência da concentração do extratante Adogen 464, na presença de modificador, sobre a viscosidade da fase membrana, para uma concentração de surfatante igual a 1 e 2% m/m. ....	104
FIGURA 6.10 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre a porcentagem de inchamento da fase interna para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m. ....	105
FIGURA 6.11 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre o índice de enriquecimento para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m.....	107
FIGURA 6.12 – Influência do tempo de permeação na concentração final de fenilalanina na fase externa e na extração de fenilalanina inicialmente presente na fase externa. ....	109
FIGURA 6.13 - Representação esquemática do mecanismo de contra-transporte para extração da fenilalanina. ....	110
FIGURA 6.14 - Formas iônicas da fenilalanina. ....	112

FIGURA 6.15 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função do tempo de permeação. ....	113
FIGURA 6.16 – Influência da velocidade de agitação sobre a extração de fenilalanina da fase externa e sobre o percentual de inchamento da fase interna. ....	115
FIGURA 6.17 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da velocidade de agitação. ....	117
FIGURA 6.18 – Percentual de quebra da membrana em função da velocidade de agitação. ....	118
FIGURA 6.19 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre a porcentagem de extração de fenilalanina da fase externa para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m. ....	119
FIGURA 6.20 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre a porcentagem de inchamento da fase interna para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m. ....	122
FIGURA 6.21 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre o índice enriquecimento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m... ..	123
FIGURA 6.22 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre a massa de fenilalanina extraída da fase externa para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m. ....	124
FIGURA 6.23 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre a porcentagem de inchamento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m. ....	127
FIGURA 6.24 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre o índice de enriquecimento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2% m/m. ....	128
FIGURA 6.25 – Influência da concentração de KCl na extração de fenilalanina da fase externa e sobre o inchamento da fase interna. ....	129
FIGURA 6.26 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da concentração de KCl na fase interna. ....	131
FIGURA 6.27 – Influência do uso de membranas recicladas na extração de fenilalanina da fase externa. ....	132

FIGURA 6.28 – Influência do uso de membranas recicladas na porcentagem de inchamento da fase interna. ....	134
FIGURA 6.29 – Influência do uso de membranas recicladas no índice de enriquecimento.....	135
FIGURA D.1 – Viscosímetro de Ostwald. ....	163

## LISTA DE TABELAS

TABELA III.1- Valores de pK e pI dos aminoácidos a 25°C. ....	12
TABELA III.2- Grau de permissão dos alimentos ingeridos pelos fenilcetonúricos. ....	23
TABELA IV.1- Relação entre o BHL e o grau de dispersão de um surfatante em água. .....	36
TABELA IV.2 - Principais problemas associados à técnica MLS. ....	49
TABELA IV.3 - Principais fatores que interferem no fenômeno osmótico. ....	54
TABELA IV.4 - Composição das fases no sistema MLS.....	57
TABELA IV.5 - Composição das fases no sistema MLS e parâmetros fixados. ....	64
TABELA V.1- Sistema de extração utilizado nos ensaios realizados. ....	72
TABELA V.2- Parâmetros envolvidos nos ensaios de emulsificação e seus níveis. ....	76
TABELA V.3- Parâmetros envolvidos nos ensaios de permeação e seus níveis. ....	78
TABELA VI.1 - Resultados dos ensaios finais de emulsificação . ....	92
TABELA VI.2 - Massas iniciais de Phe <sub>FE</sub> para as diferentes razões de volumes FE/EP. .....	125
TABELA VI.3 - Massas iniciais, massas médias extraídas e massas médias residuais de Phe <sub>FE</sub> nos ensaios com fase membrana reciclada .....	133
TABELA AII.1- Ensaios de emulsificação. ....	150
TABELA AIII.1- Ensaios de permeação para o parâmetro surfatante. ....	152
TABELA AIII.2 - Ensaios de permeação para o parâmetro extratante (% ECA 4360 = 1% m/m). ....	153
TABELA AIII.3 - Ensaios de permeação para o parâmetro extratante (% ECA 4360 = 2 % m/m). ....	154
TABELA AIII.4 - Ensaios de permeação para o parâmetro tempo de permeação. ....	155
TABELA AIII.5 - Ensaios de permeação para o parâmetro velocidade de agitação. ..	156
TABELA AIII.6 - Ensaios de permeação para o parâmetro razão de volumes fase membrana / fase interna. ....	157
TABELA AIII.7 - Ensaios de permeação para o parâmetro razão de volumes fase membrana / fase interna. ....	158
TABELA AIII.8 - Ensaios de permeação para o parâmetro razão de volumes fase externa / emulsão primária. ....	159

TABELA AIII.9 - Ensaio de permeação para o parâmetro razão de volumes fase externa / emulsão primária.....	160
TABELA AIII.10 - Ensaio de permeação para o parâmetro concentração molar de KCl.....	161
TABELA AIV.1 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de surfatante.....	165
TABELA AIV.2 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de extratante.....	165
TABELA AIV.3 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de extratante.....	166
TABELA AV.1 - Ensaio de permeação utilizando fase membrana reciclada.....	168

## NOMENCLATURA

*a*: raio das gotículas

Ala: alanina

Arg: arginina

Asn: asparagina

Asp: ácido aspártico

BHL: balanço hidrofílico-lipofílico

C: concentração

Cys: cisteína

D: coeficiente de difusão

Emulsão A/O: emulsão em que a fase aquosa encontra-se dispersa em fase orgânica

Emulsão múltipla A/O/A: fases externa e interna aquosas e fase membrana orgânica

Emulsão múltipla O/A/O: fases externa e interna orgânica e fase membrana aquosa

Emulsão O/A: emulsão em que a fase orgânica encontra-se dispersa em fase aquosa

FE: fase externa

FI: fase interna

FM: fase membrana

Gln: glutamina

Glu: ácido glutâmico

Gly: glicina

GTP: trifosfato de guanosina

His: histidina

HPA: hiperfenilalaninemia

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

Ile: isoleucina

K: constante de Boltzmann

L: litros

Leu: leucina

Lys: lisina

Met: metionina

$M_{\text{Phe}}$ : massa de fenilalanina



$M_{tr}$ : massa de traçador  
MLS: membranas líquidas surfatantes  
NADH: nicotinamida-adenina-dinucleotídeo  
pI: ponto isoeletrônico  
Phe: fenilalanina  
PKU: fenilcetonúria  
Pro: prolina  
6-PTS: 6- piruvoiltetraidropterina-sintase  
QI: quociente intelectual  
rpm: rotações por minuto  
Ser: serina  
T: temperatura  
Thr: treonina  
Trp: triptofano  
Tyr: tirosina  
UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais  
V: volume  
Val: valina

## **Gregos**

$\eta$ : viscosidade  
 $\varepsilon$ : razão de quebra da membrana  
 $\Delta V_{rel}$ : variação relativa de volume da emulsão primária

## **Índices**

EP: emulsão primária  
FE: fase externa  
FI: fase interna  
FM: fase membrana  
fin: condição final

in: condição inicial

Phe: fenilalanina

t: tempo qualquer

tr: traçador

## 1. INTRODUÇÃO

Muitos distúrbios infantis são causados por mutações de genes que codificam proteínas específicas. Essas mutações podem resultar em uma alteração da estrutura primária da proteína ou da quantidade de proteína sintetizada. A capacidade funcional da proteína, seja ela uma enzima, um receptor, um veículo de transporte, uma membrana, ou um elemento estrutural, pode ser comprometida relativa ou seriamente. Esses distúrbios bioquímicos hereditários foram coletivamente denominados erros inatos do metabolismo por Garrod no início do século XX (BEHRMAN et al., 2002; STRYER, 1992).

O defeito genético no metabolismo da fenilalanina (Phe), um aminoácido essencial, está relacionado com o nível de atividade enzimática da fenilalanina-hidroxilase ou com a síntese do cofator tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>). A fenilalanina, em sua via metabólica principal, é hidroxilada a tirosina (Try). Devido a um desses defeitos, o nível de fenilalanina nos líquidos corporais se eleva e, entra em jogo, uma via secundária do seu metabolismo. Nessa via, a fenilalanina sofre transaminação produzindo ácido fenilpirúvico que é excretado na urina. O excesso de fenilalanina acumulado nos líquidos corporais juntamente com o fenilpiruvato circulante leva a um retardo mental irreversível e a uma diminuição dramática na expectativa de vida, a menos que o distúrbio seja, precocemente, diagnosticado e um tratamento iniciado (BEHRMAN, 2002; DING et al., 2004; OUTINEN et al., 1996; STRYER, 1992; WILLARD, 1993; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

Denominou-se, genericamente, como hiperfenilalaninemia os níveis elevados de fenilalanina no sangue e como fenilcetonúria (PKU) a hiperfenilalaninemia relacionada com a deficiência de fenilalanina-hidroxilase.

A fenilcetonúria (PKU) foi descoberta por Fölling, em 1934, e constituiu a primeira demonstração de um defeito genético, de caráter autossômico recessivo, como causa de retardamento mental (WILLARD, 1993).

A PKU ocorre em todos os grupos étnicos e, devido à grande variabilidade genética, a incidência em recém-nascidos pode variar de 1:2.600 até 1:26.000, sendo a média de 1:10.000 (MIRA & MARQUEZ, 2000). Poucos são os dados de PKU no Brasil, assim como em populações negras e não há informações sobre populações indígenas. Estima-se que em São Paulo 1:12.000 a 1:15.000 recém-nascidos são portadores de PKU. Em Minas Gerais, a incidência tem sido de 1:20.000 nascidos, aproximadamente (SOARES, 2003).

A triagem neonatal possibilita a detecção e o tratamento precoce de PKU. O teste de triagem é realizado alguns dias após o nascimento, em geral antes do recém-nascido deixar o hospital. Uma gota de sangue é obtida por punção do calcanhar (Teste do Pezinho), secada em papel de filtro e enviada para medida dos níveis sanguíneos de fenilalanina. Os resultados positivos devem ser confirmados rapidamente, porque atrasos no início do tratamento têm efeitos profundos sobre a capacidade intelectual do indivíduo. O tratamento de pacientes portadores de PKU consiste na restrição dietética de fenilalanina, conseqüentemente, na restrição de alimentos protéicos. O uso de formulações semi-sintéticas específicas, como mistura de L-aminoácidos e hidrolisados protéicos, reduz a ingestão de fenilalanina ao mínimo necessário ao mesmo tempo em que mantém uma boa nutrição de todos os outros aminoácidos essenciais (BEHRMAN, 2002; DING et al., 2004; STRYER, 1992; WILLARD, 1993; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

Os produtos comerciais para fenilcetonúricos, constituídos de misturas de aminoácidos livres, apresentam gosto e odor desagradáveis, além de alta osmolaridade, que causa diarreia osmótica. Suplementos alimentares nitrogenados à base de hidrolisados de proteínas têm sido recomendados por serem mais bem absorvidos pelo organismo, ter características sensoriais mais agradáveis e apresentarem um custo menor (LOPES, 2002; SOARES, 2003).

Esses hidrolisados protéicos são obtidos pela hidrólise parcial de uma proteína e são compostos, principalmente, de di- e tripeptídeos, dois ou três aminoácidos unidos por ligação peptídica, respectivamente. Considerando que toda proteína contém de 3 a

6 % m/m de fenilalanina, é necessário que esse hidrolisado seja submetido a tratamento para remoção de Phe, de modo que possa ser utilizado como suplemento alimentar (OUTINEM et al.,1996).

A remoção de fenilalanina pode ser realizada por técnicas e procedimentos diferenciados, como uso de carvão ativado, cromatografia de exclusão molecular, cromatografia de troca iônica, dentre outros. Entre os diversos métodos em estudo, a separação por Membranas Líquidas Sulfatantes (MLS) tem despertado particular interesse.

O processo MLS apresenta, usualmente, alta capacidade de extração associada a uma elevada seletividade, sendo uma alternativa econômica para a separação e concentração de solutos, pois permite que as etapas de extração e reextração sejam realizadas em um único estágio e, devido ao mecanismo de transporte envolvido, consegue viabilizar extrações de solutos presentes em solução em baixíssimas concentrações (PATNAIK, 1995).

Desenvolvida, em 1968, por Norman N. Li, a técnica de extração por membranas líquidas sulfatantes (MLS) aplica-se no tratamento de rejeitos líquidos, na recuperação de solutos presentes em soluções diluídas, na separação de hidrocarbonetos, na recuperação de espécies metálicas, no tratamento de águas residuárias, nas áreas biomédica e bioquímica, dentre outras (KONZEN, 2000). Existem várias plantas piloto em funcionamento utilizando essa técnica e, na Áustria, havia uma planta industrial utilizada para a recuperação de zinco de efluentes industriais, com excelentes resultados. Esta, no entanto, foi fechada, pois houve um curto-circuito no sistema de bombeamento que provocou um incêndio de grandes proporções (PATNAIK, 1995).

O processo de obtenção dessas membranas é baseado na teoria de emulsões múltiplas (SALUM, 1998). As membranas líquidas sulfatantes são formadas por meio da emulsificação de duas fases imiscíveis, dando origem a uma emulsão denominada primária, seguida da dispersão dessa emulsão em uma terceira fase, dando origem à emulsão múltipla. Existem duas configurações possíveis para a disposição das fases no

sistema: fase aquosa/fase orgânica/fase aquosa (A/O/A) ou fase orgânica/fase aquosa/fase orgânica (O/A/O). Independentemente da configuração, as fases são denominadas como: fase receptora ou interna (I), responsável pela captação do soluto extraído da fase externa; fase membrana (II), responsável pela permeação seletiva do soluto da fase doadora para a fase receptora; e fase de alimentação, doadora ou externa (III), que contém o soluto que se deseja purificar e/ou concentrar. Como a emulsão primária é instável termodinamicamente, é necessário que se adicione um reagente na fase membrana denominado surfatante ou emulsificador, para promoção da estabilidade (ROSEN, 1978; SUMNER, 1954). A fase membrana contém, além do surfatante, o solvente responsável pela extração da espécie de interesse. No presente trabalho, o reagente responsável pela estabilização da emulsão primária é a poliamina ECA 4360 e o solvente responsável pela extração da fenilalanina é composto por um agente extratante, uma amina quaternária (cloreto de metil trialkil amônio - Adogen 464), componente ativo do solvente, solvatado em um diluente (Escaid 110), um querosene. Um agente modificador, um álcool de cadeia longa (1-decanol) também é adicionado ao solvente, para melhorar a solvatação do extratante em questão no Escaid 110.

Na extração de metais, no tratamento de efluentes e em biosseparações, este último objeto do presente estudo, utiliza-se, normalmente, uma emulsão primária de fase aquosa, receptora de soluto (I), em fase orgânica (II), dispersa em segunda fase aquosa (III), doadora de soluto, emulsão múltipla A/O/A.

As etapas do desenvolvimento desse trabalho são descritas neste documento que contém nove capítulos. No primeiro é introduzido o tema do trabalho e, no segundo, são ressaltados sua relevância e objetivos. O terceiro contém informações sobre a bioquímica dos aminoácidos, particularizando a fenilalanina. Nele, é descrita a doença fenilcetonúria, salientando seu diagnóstico, tratamento e monitoração. São abordados, também, os substitutos protéicos que visam controlar os níveis sanguíneos de fenilalanina e os métodos de remoção já desenvolvidos, para a obtenção de uma fonte de proteína que contenha baixa concentração de fenilalanina. No capítulo 4, é apresentada a técnica de membranas líquidas surfatantes, com uma descrição detalhada de cada uma das etapas, os mecanismos de transporte do soluto e os problemas

associados à técnica. No capítulo 5, é discutido o trabalho experimental, com os procedimentos e metodologia a serem empregados. No capítulo 6, são apresentados os resultados obtidos em todo trabalho, devidamente discutidos. O capítulo 7 refere-se às conclusões do trabalho desenvolvido. No oitavo capítulo, são apresentadas as sugestões para trabalhos futuros e, no nono, as referências bibliográficas consultadas.

## 2. OBJETIVOS E RELEVÂNCIA

Os doentes portadores de fenilcetonúria, quando não tratados, apresentam retardo mental irreversível, devido ao acúmulo de fenilalanina e fenilpiruvato nos líquidos corporais. Segundo Behrman (2002), estima-se que um lactente, não tratado, perca cerca de 50 pontos do QI ao final do primeiro ano de vida (4 pontos de QI por mês). Além disso, esses pacientes têm sua expectativa de vida drasticamente diminuída, a maior parte dos doentes não atinge 30 anos de idade (STRYER, 1992).

Sabendo que o tratamento para fenilcetonúricos consiste na redução do fornecimento de fenilalanina ao mínimo requerido, 250 a 500 mg, diariamente (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984) e considerando que a quantidade de Phe em proteínas vegetais e animais é de 3% a 6% m/m (OUTINEM et al.,1996), a dieta realizada pelos fenilcetonúricos deve ser restrita em alimentos protéicos. Porém, a ausência na dieta ou a inadequada ingestão de algum dos aminoácidos essenciais resulta em um balanço nitrogenado negativo (perda de nitrogênio pelo organismo), contribuindo para a perda de peso, crescimento deficiente em crianças e sintomalogias clínicas diversas (LOPES, 2002). Além disso, como a fenilalanina (Phe) é precursora da tirosina (Tyr), aminoácido responsável pela formação dos transmissores do sistema nervoso dopamina, norepinefrina, epinefrina e precursor da tiroxina e da melanina, a Tyr torna-se essencial em fenilcetonúricos, e sua reposição torna-se indispensável (BEHRMAN, 2002; SOARES, 2003; KIM et al., 2004; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984). Assim, de modo a atingir a recomendação adequada de fenilalanina e dos outros aminoácidos essenciais, e garantir o desenvolvimento normal do paciente, utiliza-se como complemento alimentar formulações sintéticas de L-aminoácidos ou hidrolisados protéicos.

Hidrolisados protéicos apresentam, em relação à mistura de L-aminoácidos, vantagens relacionadas à facilidade de absorção pelo organismo, às características sensoriais mais agradáveis e ao menor custo (vide item 3.4). Assim, o presente trabalho tem como objetivo geral a avaliação da eficiência da técnica MLS aplicada à extração de fenilalanina, presente em soluções aquosas sintéticas, estabelecendo condições para essa



extração, que sirvam de base, em estudos posteriores, para a obtenção de uma formulação dietética, um hidrolisado protéico, com baixos teores de fenilalanina, para complementação alimentar de fenilcetonúricos.

Com o intuito de obter uma separação eficiente de fenilalanina pela técnica MLS, propõe-se o levantamento das condições operacionais e das principais variáveis, concentrações de extratante, surfatante e modificador, razão volumétrica fase interna/fase membrana, razão volumétrica fase externa/emulsão primária, tempo de contato na etapa de permeação, velocidade de agitação na permeação e concentração da solução de KCl na fase interna (gradiente de força iônica entre fases interna e externa), que afetam o desempenho da técnica e influenciam na extração desse aminoácido.

Os objetivos específicos são:

- ♦ avaliação dos efeitos individual e conjunto da concentração de extratante, surfatante e modificador sobre o tempo para coalescência da emulsão primária;
- ♦ avaliação dos efeitos de diversos parâmetros operacionais do processo na extração de fenilalanina, de forma a estabelecer a melhor composição do sistema Phe-Adogen 464;
- ♦ avaliação do efeito, no processo, da utilização de uma fase membrana reciclada.

### 3. AMINOÁCIDOS, FENILALANINA E FENILCETONÚRIA

O exame da base molecular e bioquímica do organismo humano permite a descrição de várias enfermidades genéticas relacionadas à alteração da estrutura primária de uma proteína ou da quantidade de proteína sintetizada. Dentre as enfermidades genéticas conhecidas ressaltam-se as hiperfenilalaninemias, patologias diretamente relacionadas a distúrbios no metabolismo da fenilalanina, um aminoácido essencial (vide itens 3.2 e 3.3).

#### 3.1. Aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades estruturais básicas das proteínas. Um  $\alpha$ -aminoácido, cuja estrutura básica está representada na FIGURA 3.1, é constituído de um grupamento amina, uma carboxila, um átomo de hidrogênio e um radical R diferenciado, ligados a um átomo de carbono, que é chamado de carbono  $\alpha$  por ser o adjacente ao grupamento carboxila.

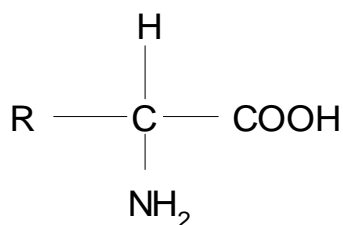


FIGURA 3.1 - Estrutura básica dos aminoácidos.

Todos os aminoácidos caracterizam-se pelo grupo amina em posição  $\alpha$  com relação ao grupo carboxila, com exceção das prolinas (vide FIGURA 3.2), que possuem sua cadeia lateral ligada tanto ao carbono  $\alpha$  quanto ao nitrogênio (CANTAROW, 1968; LEHNINGER, 1980; STRYER, 1992).

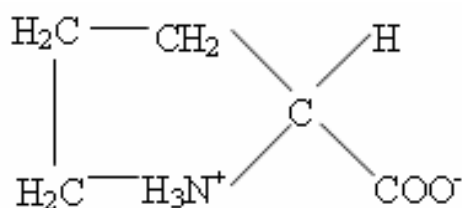


FIGURA 3.2 - Estrutura molecular da prolina.

O arranjo tetraédrico dos quatro grupamentos diferentes em torno do carbono  $\alpha$  confere atividade óptica aos aminoácidos, exceto quando  $R = H$ , caso da glicina. A forma sistemática para classificar e denominar os estereoisômeros não se baseia na direção de desvio da luz polarizada e, sim, na configuração absoluta. Neste sistema escolheu-se um composto de referência, o gliceraldeído, ao qual se compara todos os outros compostos opticamente ativos. Por convenção, os dois estereoisômeros do gliceraldeído são designados L e D. O átomo de referência é o átomo de carbono de mais alto grau de oxidação ligado ao carbono assimétrico. Assim, o carbono da carboxila de um aminoácido e o carbono do grupo carbonila do L-gliceraldeído são escolhidos para ocupar a mesma posição no espaço. Os estereoisômeros de todos os compostos quirais que tem configuração relacionada àquela do L-gliceraldeído são designados L, e os estereoisômeros relacionados ao D-gliceraldeído são designados D, não importando a direção em que desviem a luz polarizada. É válido ressaltar que, no organismo humano, somente, os L-aminoácidos constituem as proteínas, pois as enzimas que os sintetizam possuem estereoespecificidade química (KARLSON, 1970; LEHNINGER, 1980).

As proteínas são constituídas por um grupo de vinte L-aminoácidos, que podem ser classificados em quatro grupos, em função das características de sua estrutura (radical R, acidez e basicidade) (LEHNINGER, 1980):

- ♦ aminoácidos com um R não polar, isto é, com uma cadeia lateral substituída de hidrocarbonetos - alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, prolina, metionina e triptofano;
- ♦ aminoácidos com radicais polares não ionizados, tais como -OH, -SH, -CONH<sub>2</sub> e alguns radicais heterocíclicos - tirosina, serina, glicina, treonina, cisteína, asparagina e glutamina;

- ♦ aminoácidos de caráter ácido, isto é, que possuem um grupo carboxila adicional - ácido glutâmico e ácido aspártico;
- ♦ aminoácidos de caráter básico, isto é, que possuem um grupo amino adicional - lisina, arginina e histidina.

Os aminoácidos, em meio aquoso, possuem propriedade anfótera. Isto ocorre porque o grupo carboxila, sendo ácido, pode perder um próton ( $H^+$ ) por dissociação e o grupo amino, básico, pode capturar um próton ( $H^+$ ). Se ambos os grupos estão ionizados, o resultado é o chamado “zwitterion”, do alemão, significando “íon de ambas as cargas, positiva e negativa”. Como consequência, ao se colocar eletrodos em uma solução contendo aminoácidos, sob a forma de “zwitterion”, e criar uma diferença de potencial entre os eletrodos, não haverá deslocamento dos aminoácidos no campo elétrico. Para cada aminoácido, existe um pH, chamado ponto isoeletrônico (pI), em que a carga positiva no grupo amino e a carga negativa no grupo carboxílico são completamente neutralizadas (JUANG & WANG, 2002; LEHNINGER, 1980). Na FIGURA 3.3, estão representadas as formas iônicas de um aminoácido.

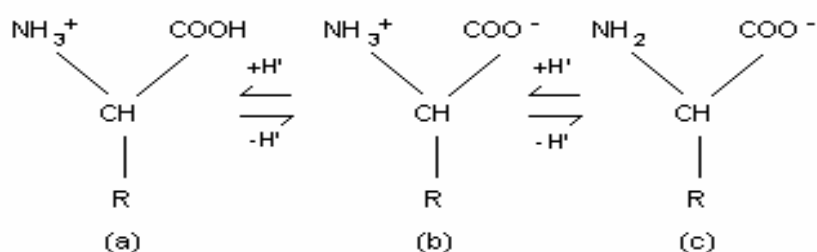


FIGURA 3.3 - Formas iônicas de um aminoácido.

Quando se adiciona um hidróxido, lentamente, a uma solução contendo um mol de aminoácido na sua forma totalmente protonada, FIGURA 3.3 (a), o pH eleva-se e as moléculas vão passando progressivamente da forma totalmente protonada para a forma isoeletrica (FIGURA 3.3 (b)). Quando 0,5 equivalente-grama de hidróxido tiver sido adicionado, 50% das moléculas de aminoácido estarão sob a forma totalmente protonada. Os outros 50% estarão sob a forma isoeletrica. O pH da solução, de acordo com a equação (3.1) de Henderson-Hasselbalch, será igual ao  $pK_1$ :

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{sal}]}{[\text{ácido}]} \quad (3.1)$$

Quando se adicionar a essa solução, com  $\text{pH} = \text{pK}_1$ , mais 0,5 equivalente-grama de hidróxido, todas as moléculas de aminoácido estarão sob a forma isoeletrica e portanto o pH da solução será igual ao pI. A adição de mais 0,5 equivalente-grama de hidróxido faz com que 50% das moléculas estejam sob a forma isoeletrica e 50% sob a forma totalmente desprotonada (FIGURA 3.3 (c)) e o pH da solução será igual ao  $\text{pK}_2$ . Essas informações estão resumidas na FIGURA 3.4, a curva de titulação da glicina (LEHNINGER,1980; VIEIRA et al., 1991; STRYER, 1992).

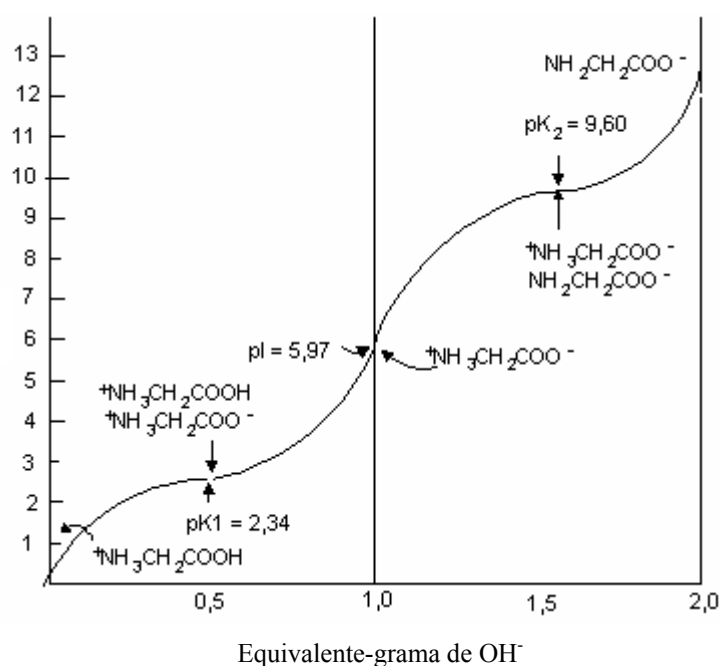


FIGURA 3.4 - Curva de titulação da glicina.

O valor de pI é, aproximadamente, igual à média aritmética dos  $\text{pK}_1$  e  $\text{pK}_2$  e, em geral, os  $\alpha$ -aminoácidos prevalecem na forma catiônica, em pH menor que 1,5, e na forma aniônica, em pH acima de 10 (LEHNINGER,1980; VIEIRA et al., 1991).

Todos os aminoácidos que têm um único grupo  $\alpha$ -amino, um único grupo carboxila e um grupo R não ionizável têm curvas de titulação semelhantes à da glicina. Aminoácidos, porém, que possuem um grupo R ionizável têm curvas de titulação mais

complexas com três estágios que correspondem aos três passos possíveis de ionização: assim, eles possuem três valores de pK. Os pontos isoelétricos dos aminoácidos nesta classe refletem o tipo de grupo R ionizante presente. Por exemplo, o ácido glutâmico, com dois grupos carboxila e um amino, tem um ponto isoeletrônico de 3,22 ( a média dos valores de pK dos dois grupos carboxila). Igualmente, o ponto isoeletrônico da lisina, a qual tem dois grupos amino, é 9,74. Na TABELA III.1, encontram-se os valores dos pK e pI dos aminoácidos.

TABELA III.1- Valores de pK e pI dos aminoácidos a 25°C.

<b>Aminoácido</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>pK<sub>1</sub></b>	<b>pK<sub>2</sub></b>	<b>pK<sub>3</sub></b>	<b>pI</b>
Ácido aspártico	Asp	1,88	3,65 ( $\beta$ -COOH)	9,60 ( $\text{NH}_3^+$ )	2,77
Ácido glutâmico	Glu	2,19	4,25 ( $\gamma$ -COOH)	9,67 ( $\text{NH}_3^+$ )	3,22
Alanina	Ala	2,34	9,69		6,00
Arginina	Arg	2,17	9,04 ( $\text{NH}_3^+$ )	12,48 (guanidina)	10,76
Aspargina	Asn	2,02	8,80		5,41
Cisteína	Cys	1,96	8,18	10,28 (SH)	5,07
Fenilalanina	Phe	1,83	9,13		5,48
Glicina	Gly	2,34	9,60		5,97
Glutamina	Gln	2,17	9,13		5,65
Histidina	His	1,82	6,00 (imidazol)	9,17 ( $\text{NH}_3^+$ )	7,59
Isoleucina	Ile	2,36	9,68		6,02
Leucina	Leu	2,36	9,60		5,98
Lisina	Lys	2,18	8,95 ( $\alpha$ - $\text{NH}_3^+$ )	10,53 ( $\epsilon$ - $\text{NH}_3^+$ )	9,74
Metionina	Met	2,28	9,21		5,74
Prolina	Pro	1,99	10,60		6,30
Serina	Ser	2,21	9,15		5,68
Tirosina	Tyr	2,20	9,11 ( $\text{NH}_3^+$ )	10,07 (OH)	5,66
Treonina	Thr	2,63	10,43		6,53
Triptofano	Trp	2,38	9,39		5,89
Valina	Val	2,32	9,62		5,96

Fonte: VIEIRA et al., 1991.

Na formação das proteínas, diversos aminoácidos se unem por ligações covalentes denominadas ligações peptídicas, união do grupo carboxila de um aminoácido com o grupo amina de outro com remoção de uma molécula de água. Na FIGURA 3.5, pode ser observada a formação de um dipeptídeo a partir de dois aminoácidos pela perda de água. O equilíbrio dessa reação é deslocado para o lado da hidrólise, em vez da síntese. A hidrólise parcial de uma proteína resulta, como produto final, em peptídeos de vários comprimentos, e a hidrólise completa, em aminoácidos (CONN & STUMPF, 1980; LEHNINGER, 1980; VIEIRA et al., 1991; STRYER, 1992).

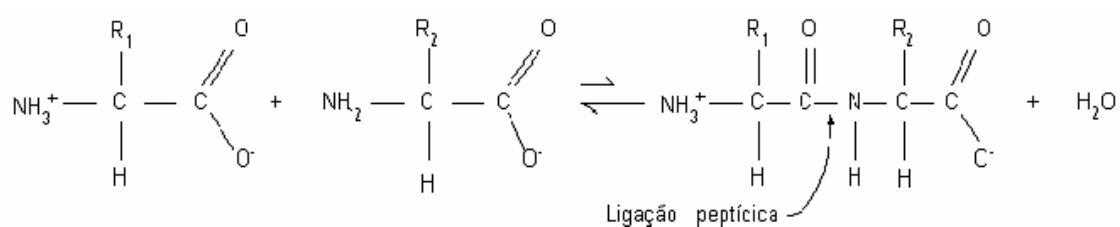


FIGURA 3.5 - Formação de uma ligação peptídica.

O organismo do homem e da maioria dos animais não pode sintetizar todos os aminoácidos. Alguns devem ser supridos pela dieta e, conseqüentemente, são conhecidos como aminoácidos essenciais. Os aminoácidos essenciais são: metionina, triptofano, treonina, valina, leucina, isoleucina e fenilalanina (VIEIRA et al., 1991).

### 3.2. Fenilalanina

A fenilalanina não pode ser formada no organismo animal, devido à presença do seu anel aromático. Possui menor solubilidade em água devido ao R não-polar, quando comparada com os aminoácidos com grupos R polares, e sua banda de absorção característica na região do ultravioleta está entre 240 e 310 nm. Seus valores de  $pK_1$  e  $pK_2$  são, respectivamente, 1,83 e 9,13 e seu ponto isoeletrônico 5,48. Sua estrutura molecular é representada pela FIGURA 3.6.

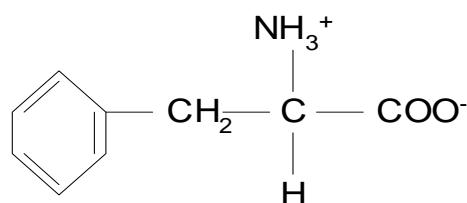
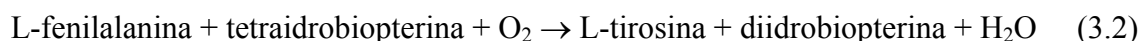
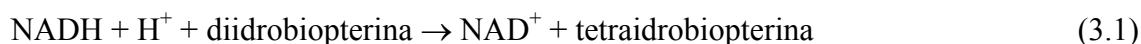


FIGURA 3.6 - Estrutura molecular da fenilalanina.

A fenilalanina está intimamente relacionada à tirosina. Em sua principal via metabólica, a fenilalanina é hidroxilada, de forma irreversível, para formar tirosina, em uma reação catalisada pela fenilalanina-hidroxilase (vide FIGURA 3.7). Além do seu papel na síntese de proteína, a tirosina é responsável pela formação dos transmissores do sistema nervoso dopamina, norepinefrina e epinefrina; além de ser precursora da tiroxina na tireóide e da melanina nos melanócitos (BEHRMAN, 2002; KIM et al., 2004; SOARES, 2003; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

A hidroxilação da fenilalanina para formar tirosina é uma reação complexa que requer a apoenzima fenilalanina-hidroxilase, oxigênio e um cofator específico – a tetraidrobiopterina – como doador de elétron (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984). Segundo Lehninger (1980), a fenilalanina-hidroxilase incorpora um átomo de oxigênio do oxigênio molecular, na fenilalanina, produzindo um grupo p-hidroxílico; o outro átomo de oxigênio da molécula é reduzido a água. Nesse processo a tetraidrobiopterina é oxidada em diidrobiopterina e precisa ser regenerada pela enzima diidropteridina redutase antes de tornar-se novamente funcionante no metabolismo da fenilalanina (vide FIGURA 3.7). O agente redutor é o NADH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo) e a reação ocorre em duas etapas:





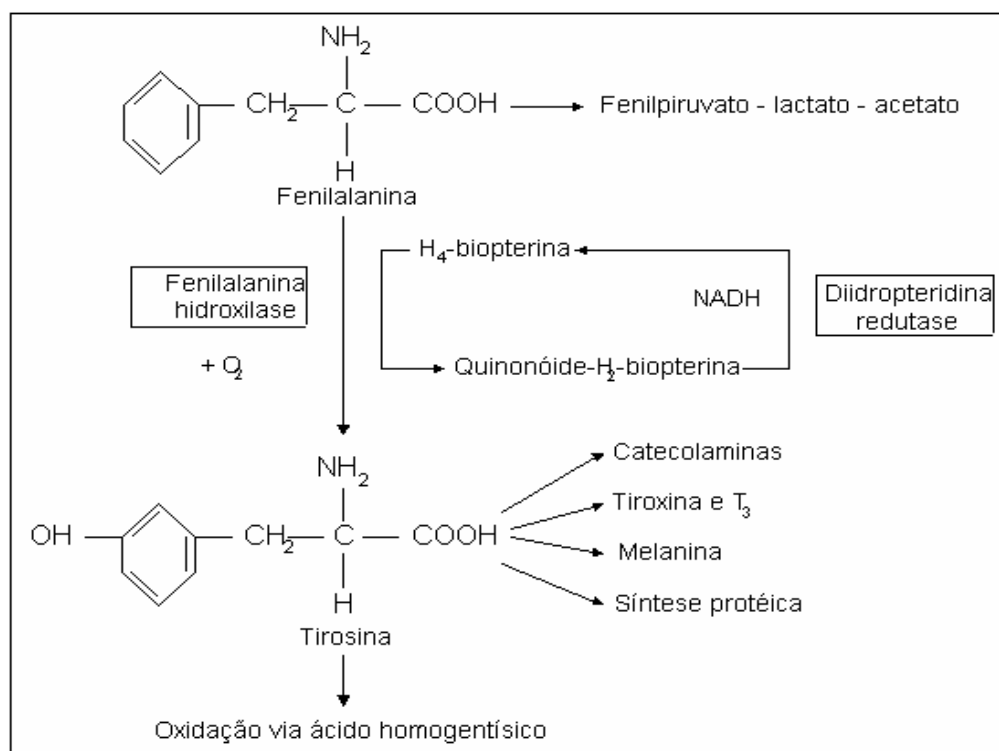


FIGURA 3.7 - Vias metabólicas da fenilalanina e da tirosina.

Fonte: WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984.

Nesse complexo sistema, há vários pontos de possíveis erros metabólicos, como a deficiência, total ou parcial, da enzima fenilalanina-hidroxilase e a desordem no metabolismo do cofator tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>). Esses erros levam a um distúrbio caracterizado por hiperfenilalaninemia, elevação de fenilalanina nos líquidos corporais. Como consequência, ocorre o desvio do metabolismo da fenilalanina para uma via secundária, na qual ela sofre transaminação produzindo fenilpiruvato e outros metabólitos, conforme pode ser observado na FIGURA 3.7 (BEHRMAN, 2002; DING et al., 2004; OUTINEN et al., 1996; STRYER, 1992; WILLARD, 1993; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

As várias formas clínicas e bioquimicamente distintas de hiperfenilalaninemia são a fenilcetonúria clássica, a fenilcetonúria leve, a hiperfenilalaninemia permanente, a hiperfenilalaninemia neonatal ou transitória, e a hiperfenilalaninemia por deficiência do cofator tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) (vide item 3.3). Dentre essas variantes, a fenilcetonúria clássica é a de maior relevância, por apresentar manifestações clínicas mais graves e, conseqüentemente, exigir tratamento mais rígido. Os sinais e sintomas da

hiperfenilalaninemia por deficiência de  $BH_4$  são os mesmos da clássica, porém a incidência dessa, em relação a todas as fenilcetonúrias, é de apenas 2%.

### **3.3. Fenilcetonúria Clássica**

A fenilcetonúria (PKU) é uma doença genética, de caráter autossômico recessivo, decorrente da deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase no organismo, sintetizada pelo fígado, responsável pela transformação da fenilalanina (Phe) em tirosina (Tyr). Esse erro inato do metabolismo leva ao acúmulo de Phe nos líquidos corporais. Assim, como alternativa do metabolismo, ocorre a transaminação da Phe em fenilpivurato, uma fenilcetona, motivo pelo qual a doença foi denominada fenilcetonúria. O excesso de fenilpivurato no sangue leva a altos níveis dessa fenilcetona na urina, dando-lhe um odor característico (BEHRMAN, 2002; DING et al., 2004; OUTINEN et al., 1996; STRYER, 1992; WILLARD, 1993; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

Os fenilcetonúricos parecem normais ao nascer, mas, se não tratados, com um ano de idade apresentam graves problemas neurológicos. Isto ocorre porque o excesso de fenilpivurato circulante, juntamente com o excesso de fenilalanina, perturbam o metabolismo normal e causam lesão cerebral. Apesar de o defeito enzimático ser conhecido há décadas, o mecanismo bioquímico exato pelo qual o aumento da fenilalanina lesa o cérebro é ainda ignorado. Além do retardo mental irreversível, a expectativa de vida de fenilcetonúricos não tratados é drasticamente diminuída, a maioria não atinge os 30 anos de idade (STRYER, 1992).

O diagnóstico da fenilcetonúria é feito, atualmente, através de técnicas de triagem, durante o período neonatal. O teste mais usado é o da inibição bacteriana de Guthrie, que pode detectar os níveis excessivos de fenilalanina em uma única gota de sangue capilar, colhido do calcanhar, sobre um tipo especial de papel filtro (Teste do Pezinho). A fenilcetonúria clássica é caracterizada por nível elevado de fenilalanina no sangue, acima de 20 mg/dL, e excreção de fenilalanina e dos seus metabólitos (fenilactato e fenilacetato) na urina (BEHRMAN, 2002; MIRA & MARQUEZ, 2000; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

Os diagnósticos tardios encontrados devem-se, mais freqüentemente, à não realização do teste. A partir do 3º mês de vida, começam a surgir as manifestações clínicas da doença, cujos sintomas mais comuns são a hiperatividade, irritação, distúrbios do sono, convulsões, retardo do desenvolvimento psicomotor, “déficit” de crescimento, microcefalia, eczema e cheiro característico de mofo na urina (BEHRMAN, 2002).

O tratamento de PKU é essencialmente dietético, devendo ser iniciado, preferencialmente, até os 21 dias de vida, visando controlar os níveis sanguíneos de Phe, que deve se situar entre 3 e 15 mg/dL, e evitar o desenvolvimento de retardo mental irreversível (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984). A dieta para PKU consiste na utilização de alimentos com baixa concentração de Phe, portanto restrita em alimentos protéicos, devendo ser complementada por substitutos protéicos isentos ou com baixos teores de Phe, para atingir a recomendação adequada de nutrientes e garantir o desenvolvimento normal dos fenilcetonúricos (SCRIVER et al., 1997; ACOSTA, 1998).

A duração da terapia nutricional é controversa. Embora o controle rígido da dieta possa ser relaxado após seis anos de idade, alguma forma de restrição dietética de fenilalanina é necessária indefinidamente. Casos de hipomielinização ou desmielinização da substância branca cerebral foram observados em paciente que foram tratados inadequadamente ou cujo tratamento foi interrompido em uma idade maior.

Na fenilcetonúria clássica, a tirosina torna-se um aminoácido essencial, devido à total deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase, devendo, portanto ser repostas a partir de fontes dietéticas adequadas, uma vez que baixos níveis de tirosina podem afetar a biossíntese dos neurotransmissores dopamina, norepinefrina, epinefrina, além da síntese da tiroxina e da melanina, conforme já dito anteriormente (BEHRMAN, 2002; KIM et al., 2004).

As crianças fenilcetonúricas são normais ao nascimento porque a enzima materna as protege durante a vida pré-natal. Dessa forma, os resultados do tratamento são melhores quando o diagnóstico é feito logo após o nascimento e o tratamento iniciado

imediatamente (WILLARD, 1993). Embora as crianças com PKU bem tratadas tenham se livrado do retardamento acentuado e apresentem quocientes intelectuais (QI) normais ou quase normais, elas freqüentemente manifestam distúrbios leves do aprendizado e anormalidade do comportamento que comprometem seu rendimento escolar (WILLARD, 1993).

Gestantes portadoras de PKU podem induzir, no feto, a síndrome clínica fetal. Isto ocorre porque a concentração de fenilalanina sangüínea do feto dobra, mesmo que o controle dos níveis sangüíneos estejam adequados para a mãe (MIRA & MARQUEZ, 2000; WAITZBERG, 2001). Os recém-nascidos não apresentam defeito na enzima fenilalanina-hidroxilase, porém são, em geral, mentalmente retardados e têm microcefalia e/ou malformações cardíacas congênitas. De forma a evitar a síndrome clínica fetal, futuras mães que tenham PKU devem iniciar uma dieta pobre em fenilalanina antes da concepção, devendo ser feitos esforços para manter os níveis sangüíneos de Phe abaixo de 10 mg/dL.

### **3.3.1. Variantes hiperfenilalaninêmicas**

As hiperfenilalaninemias (HPA) são o nome genérico dado aos níveis elevados de fenilalanina no sangue. Elas podem estar relacionadas tanto com o nível de atividade enzimática da fenilalanina-hidroxilase (fenilcetonúria) quanto com a síntese de tetraidrobiopterina, conforme explicado no item 3.2. É importante distinguir as variantes hiperfenilalaninêmicas da fenilcetonúria clássica, já que elas podem encerrar diferentes prognósticos e necessitar de diferentes programas terapêuticos.

Na fenilcetonúria leve, os pacientes apresentam níveis sangüíneos de Phe entre 10 e 20 mg/dL. Os doentes também possuem atividade anormal da enzima fenilalanina-hidroxilase. Quando não tratada, a fenilcetonúria leve leva a um retardo mental menos grave do que a PKU clássica. Nesse caso, a dieta deve conter baixa concentração de Phe, porém com menores restrições que na PKU clássica (LOPES, 2002; SOARES, 2003).

A hiperfenilalaninemia permanente é identificada em pacientes que, embora tenham deficiência da enzima fenilalanina-hidroxilase, conservam uma atividade enzimática residual entre 1 e 35%, em contraste com a atividade enzimática não detectável observada na PKU clássica. Nesses pacientes, os níveis sanguíneos de fenilalanina situam-se abaixo de 10 mg/dL, valores não associados, normalmente, a excreção de ácido fenilpirúvico na urina, a deficiência mental e a tratamento alimentar especial (BEHRMAN et al., 2002; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

A hiperfenilalaninemia neonatal ou transitória ocorre, geralmente, em pacientes que são prematuros ou estão recebendo dietas ricas em proteína. Essa síndrome ocorre devido a um retardo maturacional no desenvolvimento de algum componente do sistema hidroxilase da fenilalanina. Assim, os sinais químicos da fenilcetonúria exibidos por esses pacientes desaparecem no decorrer das semanas seguintes ao nascimento. O controle dietético é indicado durante as fases iniciais dessa síndrome (quando ela não pode ser distinguida da clássica), porém pode ser interrompido mais tarde. (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

A hiperfenilalaninemia que se deve à desordem do metabolismo da coenzima tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>), cofator essencial na hidroxilação da Phe, ocorre devido a três deficiências enzimáticas que causam prejuízos à formação de BH<sub>4</sub> e evolução dessa patologia. Deficiência de 6-piruviltetraidropterina-sintase (6-PTS), trifosfato de guanosina (GTP)-ciclohidratase e diidropteridina-redutase. Calcula-se que, aproximadamente, 2% dos doentes com níveis de Phe superiores a 20 mg/dL tenham essa deficiência. Os sinais e sintomas são similares e, em geral, indistinguíveis dos da PKU clássica, porém, nessa variante, somente uma dieta pobre em Phe não impede a deterioração neurológica. Dessa forma, todos os pacientes com hiperfenilalaninemia devem ser testados quanto à deficiência de BH<sub>4</sub> tão logo seja possível (vide item 3.3.2), para que um tratamento adequado possa ser iniciado. O tratamento proposto para pacientes com esse distúrbio é descrito no item 3.3.3 desse trabalho (BEHRMAN et al., 2002; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

### 3.3.2. Diagnóstico

O diagnóstico ideal é aquele realizado através de programas de triagem neonatal, pois permite o tratamento precoce e a prevenção do desenvolvimento do quadro clínico.

Há alguns anos, a triagem para fenilcetonúria era realizada somente através da análise da urina com adição de  $\text{FeCl}_3$ . A solução, na presença de fenilpiruvato, apresenta uma coloração verde-oliva. Porém, o método mostrou-se inadequado para um diagnóstico precoce, pois os testes de urina, para ácido fenilpirúvico, podem ser negativos nas primeiras semanas de vida. Assim, muitas vezes, ao se detectar a doença, o doente já apresentava os primeiros sinais de lesão no sistema nervoso.

Hoje, a triagem neonatal de fenilcetonúria pode ser realizada através dos seguintes métodos:

- ♦ semiquantitativos: Guthrie (inibição bacteriana) e cromatografia de aminoácidos;
- ♦ quantitativos: técnicas enzimática e fluorimétrica.

Ambos são realizados a partir de amostra de sangue do recém-nascido coletada da região do calcanhar e secada em papel filtro à temperatura ambiente (teste do pezinho). O exame deve ser realizado cinco dias após o nascimento da criança pois, para que o aumento de Phe possa ser detectado, é fundamental que a criança tenha tido ingestão protéica (LEÃO, 1998; WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

São considerados normais os níveis de fenilalanina de até  $240 \mu\text{mol/L}$ , equivalentes a  $4 \text{ mg/dL}$ . Os pacientes que apresentarem níveis sanguíneos de fenilalanina entre  $240$  e  $600 \mu\text{mol/L}$  (entre  $4$  e  $10 \text{ mg/dL}$ ) devem realizar novo exame laboratorial, pois parte destes apresentam hiperfenilalaninemia transitória ou receberam alimentação artificial com alto teor de fenilalanina. Aqueles que mantiverem hiperfenilalaninemia leve persistente devem ser triados para deficiência de tetraidrobiopterina. Pacientes com níveis acima de  $600 \mu\text{mol/L}$  ( $10 \text{ mg/dL}$ ) são suspeitos de serem fenilcetonúricos. A confirmação da suspeita é feita através de dosagem de fenilalanina e tirosina em nova

amostra de sangue. Se há persistência de níveis elevados de Phe e baixos de Tyr, inicia-se uma dieta protéica adequada (LEÃO, 1998).

Segundo Behrman et al. (2002), a deficiência de BH<sub>4</sub> e do defeito enzimático responsável pode ser estabelecida fazendo os seguintes testes:

- ♦ medição de neopterinina (produto oxidativo do trifosfato de diidroneopterinina) e biopterina (produto oxidativo da diidro- e tetraidrobiopterina) nos líquidos corporais, especialmente na urina. Nos pacientes com deficiência de 6-piruviltetraidropterina-sintase, há acentuada elevação de neopterinina e diminuição concomitante de excreção de biopterina (alta proporção neopterinina-biopterina). Nos pacientes com deficiência de GTP-cicloidrolase, a excreção urinária tanto de neopterinina quanto de biopterina é muito baixa, e nos pacientes com deficiência de diidropteridina-redutase, a neopterinina é normal, mas a biopterina é muito alta (proporção neopterinina-biopterina baixa).
- ♦ teste de sobrecarga de BH<sub>4</sub>. Uma dose oral ou intravenosa de BH<sub>4</sub> (7-10 mg/Kg) normaliza, dentro de 4 a 6 h, a fenilalanina plasmática em pacientes com deficiência de BH<sub>4</sub>. Esse teste deve ser feito enquanto a criança está recebendo quantidades normais de fenilalanina na dieta. Alguns pacientes com deficiência de diidropteridina-redutase não respondem a esse teste de sobrecarga.

### **3.3.3. Tratamento para fenilcetonúria**

Na ausência de qualquer método para repor a fenilalanina-hidroxilase, o tratamento indicado para fenilcetonúricos consiste, basicamente, em uma dieta com baixo teor de fenilalanina, porém com níveis suficientes desse aminoácido, entre 250 e 500 mg/dia (indivíduo normal consome cerca de 2500 mg/dia), para promover crescimento e desenvolvimento adequados. O nível sanguíneo ótimo a ser mantido situa-se entre 3 mg/dL e 15 mg/dL. A ingestão de calorias, lipídios, vitaminas e minerais deve obedecer às recomendações normais estabelecidas nas referências nutricionais diárias (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

A redução na ingestão de fenilalanina é alcançada por meio de uma alimentação muito pobre em proteínas, limitando-se a alimentos como frutas e verduras, alimentos à base

de amidos ou outros carboidratos complexos, ou alimentos dietéticos especiais, o que pode resultar em deficiências nutricionais. Uma dieta isenta de fenilalanina pode levar à "Síndrome da Deficiência", caracterizada por eczema grave, prostração, ganho de peso insuficiente, levando à desnutrição, além de deficiência mental e crises convulsivas.

A introdução de outros alimentos, que não o leite, deve ocorrer por volta dos quatro meses de idade. Até então, os fenilcetonúricos podem ser amamentados desde que exista controle diário de fenilalanina. A quantidade desse aminoácido no leite materno é inferior ao contido no leite de vaca ou nas fórmulas lácteas, mas devido às dificuldades de monitoração da ingestão diária de fenilalanina através do leite materno, recomenda-se o desmame. Como alternativa, sugere-se a utilização dos leites modificados existentes no mercado, como por exemplo, o Nan 1 (Nestlé), leite integral modificado, que contém menor quantidade de Phe. Na TABELA III.2, é apresentada uma síntese dos principais alimentos permitidos, controlados e não permitidos aos fenilcetonúricos.



TABELA III.2- Grau de permissão dos alimentos ingeridos pelos fenilcetonúricos.

<b>Permitidos</b>	<b>Controlados</b>	<b>Não permitidos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Açúcares: mel, balas, pirulitos e picolés de fruta, algodão doce.</li> <li>- Farináceos: farinha de tapioca, sagu, polvilho de mandioca, Cremogema.</li> <li>- Bebidas: refrigerantes, sucos de frutas artificiais, isotônico, café, chá.</li> <li>- Temperos e condimentos: limão, óleo, pimenta, vinagre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massas: macarrão sem ovos.</li> <li>- Arroz, angu, farofa.</li> <li>- Raízes e tubérculos: batata inglesa, mandioca, cará, inhame.</li> <li>- Legumes: jiló, abóbora, chuchu, quiabo, vagem, cenoura.</li> <li>- Folhosos e outros vegetais: alcega, alface, couve, agrião, cebola.</li> <li>- Frutas em geral.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Carnes e derivados de qualquer tipo: boi, frango porco, presunto, salsicha.</li> <li>- Grãos: feijões, ervilha, soja, lentilha, amendoim, grão de bico.</li> <li>- Leite e derivados: queijo, iogurte, requeijão, achocolatados.</li> <li>- Outros: ovos, nozes, bolos, pães, gelatinas, salgados, pães de queijo.</li> <li>- Produtos dietéticos adoçados artificialmente com aspartame.</li> </ul>

Fonte: SOARES, 2003.

O tratamento para pacientes com hiperfenilalaninemia por deficiência do cofator tetraidrobiopterina consiste, além da dieta pobre em fenilalanina, na administração de precursores de neurotransmissores como L-dopa e 5-hidroxitriptofano. Foi demonstrado, recentemente, que esses pacientes podem ser tratados com tetraidrobiopterina e neurotransmissores, sem restrição dietética da fenilalanina. A tetraidrobiopterina não é transportada para o cérebro em quantidades significativas, portanto o tratamento com ela, apenas, não basta como reposição nesta patologia (WYNGAARDEN & SMITH JR., 1984).

### **3.3.4. Monitoração**

O acompanhamento da dieta dos pacientes portadores de fenilcetonúria deve ser feito por uma equipe multidisciplinar formada por pediatra e nutricionista. Após o diagnóstico, o acompanhamento clínico recomendado deve ser mensal até o primeiro ano de vida, para que a mãe seja esclarecida sobre a dieta e os riscos das transgressões para o desenvolvimento de seu filho. Após esse período, o acompanhamento pode ser bimestral ou trimestral, dependendo da evolução da criança e das dificuldades da família. O acompanhamento laboratorial, com análise quantitativa de fenilalanina, deve ser mensal nos primeiros 12 meses de tratamento e, após esse período, dosagens a cada 2-3 meses são recomendadas. Conforme decisão da equipe multidisciplinar, em situações especiais, pode-se definir uma rotina diferenciada de acompanhamento clínico e/ou laboratorial, com redução dos prazos acima definidos.

## **3.4. Substitutos Protéicos**

A terapia nutricional para portadores de PKU consiste na restrição da ingestão de proteína, limitando o fornecimento da Phe ao mínimo requerido, entretanto, fornecendo energia e nutrientes adequados para promoverem o crescimento e o desenvolvimento normal. O uso de formulações protéicas sintéticas visa controlar os níveis sanguíneos de Phe. Esses substitutos podem ser divididos em dois grupos: misturas de L-aminoácidos e hidrolisados protéicos, sendo os primeiros os mais disponíveis no mercado (SOARES, 2003).

### **3.4.1. Misturas de aminoácidos**

Progressos tecnológicos possibilitaram a produção de muitos L-aminoácidos em grandes quantidades durante o final da década de 1960. Dessa forma, o tratamento de patologias que necessitavam de isenção de algum tipo de aminoácido foi amplamente beneficiado. No tratamento da PKU, uma fórmula livre de Phe, porém com os outros aminoácidos essenciais ao desenvolvimento, foi utilizada inicialmente. Percebeu-se,

porém, que pequenas quantidades de Phe precisavam ser prescritas, pois este é um aminoácido essencial ao desenvolvimento da criança (SOARES, 2003).

O uso das misturas de aminoácidos livres apresenta algumas desvantagens, a saber: o gosto e o odor são desagradáveis, característicos de aminoácidos livres; a taxa de absorção pelo organismo é lenta; e a alta osmolaridade apresentada pelas misturas de aminoácidos provocam aumento da pressão osmótica intestinal causando diarreia (LOPES, 2002). A mistura de aminoácidos deve ser ministrada ao paciente, pelo menos, três vezes ao dia. A ingestão da mistura em dose única pode resultar em náuseas, vômitos, tonturas e mudanças na excreção de nitrogênio e catabolismo, reduzindo as taxas de glicose e lactato, e aumentando os níveis de insulina no sangue (LOPES, 2002).

Diversas formulações já se encontram no mercado. Há produtos fabricados que incluem o Lofenalac (com alto teor calórico), Phenil-free (com baixo teor calórico), PKU1, PKU2 e PKU3 (sem adição de gordura e teor reduzido de carboidrato, formulado para faixas etárias específicas). Outros como o XD Analog, XP Maxamaid, não contêm lipídeos (LOPES, 2002). A facilidade na prescrição e distribuição dessas misturas aos pacientes se contrapõe à dieta dispendiosa, monótona e pouco palatável.

### **3.4.2. Formulações com hidrolisados protéicos**

Hidrolisados protéicos são produtos indicados, primeiramente, para o uso de indivíduos que apresentam necessidades nutricionais e/ou fisiológicas não cobertas pela alimentação convencional. É uma alternativa à mistura de L-aminoácidos e apresenta vantagens nutricionais sobre essas, além de menor custo (MIRA & MARQUEZ, 2000).

Os hidrolisados protéicos compostos, principalmente, de di- e tripeptídeos são melhor absorvidos pelo organismo do que as misturas de aminoácidos livres. Além disso, têm uma osmolaridade menor do que as soluções de aminoácidos livres e, por isso, são melhor toleradas por indivíduos com dificuldade de absorção (LOPES, 2002; LOPES et al., 2004; SOARES, 2003).

As formulações especiais para fenilcetonúricos são elaboradas utilizando-se os hidrolisados protéicos com baixo teor de Phe como fonte de proteína (maior proporção de di- e tripeptídeos), acrescidos de gordura, carboidratos e minerais. Depois de preparados são secos em “spray-drier” (LOPES, 2002; SOARES, 2003).

Em geral, no processo de produção de hidrolisados protéicos com baixo teor de Phe, são utilizadas no mínimo, duas enzimas, uma das quais com especificidade para aminoácidos aromáticos (pepsina, carboxipeptidases) e outra com especificidade ampla, agindo sobre a maioria das ligações peptídicas, como a papaína e proteases de diversas origens (LOPES, 2002; SOARES, 2003).

Se o hidrolisado protéico apresentar características sensoriais indesejáveis, recomenda-se a realização da reação de plasteína que consiste na condensação peptídeo-peptídeo, útil para a remoção do paladar amargo e para a incorporação de tirosina e triptofano, parcialmente perdidos durante a hidrólise enzimática (LOPES, 2002; MIRA & MARQUEZ, 2000; SOARES, 2003).

### **3.5. Métodos de Remoção da Fenilalanina**

A fenilalanina está presente em todas as proteínas, em proporções que variam de 3 a 6% em massa (OUTINEN et al., 1996). A necessidade de uma fonte de proteína que contenha baixa concentração de Phe, até 0,1% m/m, segundo a Portaria 874 do Ministério da Saúde, levou ao desenvolvimento de vários métodos cujo objetivo é a sua remoção.

Diversos laboratórios produzem peptídios com baixos teores de Phe em escala laboratorial e em escala piloto. A remoção de fenilalanina pode ser realizada por diferentes técnicas e procedimentos, como: uso de carvão ativado, cromatografia de exclusão molecular, cromatografia de troca iônica, biorreator com células imobilizadas de *Rhodotorula glutinis*, filme de membrana líquida. A desaminação com a enzima fenilalanina amônia liase também é sugerida. A escolha do procedimento deve

considerar a relação custo/eficiência (ARAI et al., 1986; LOPES-BAJONERO et al., 1991).

No Japão, na década de setenta, vários métodos para remoção de Phe foram desenvolvidos em escala laboratorial. Em um deles foram utilizadas endopetidases e exopetidases para promover a hidrólise enzimática, e a Phe foi separada da mistura por cromatografia em gel (OUTINEN et al., 1996).

Os métodos mais usados envolvem uma hidrólise ácida ou enzimática de uma proteína de alto valor biológico, como as proteínas do leite ou do ovo, seguida de um tratamento com carvão ativado ou com resina de troca iônica (MIRA & MARQUEZ, 2000).

O uso do carvão ativado tem baixo rendimento visto que, geralmente, apenas 50% dos aminoácidos do total de aminoácidos que foram adsorvidos no carvão ativado são recuperados. E mais, outros aminoácidos hidrofóbicos podem, também, ser adsorvidos. Além disto, como o carvão ativado não é reaproveitado, o processo torna-se oneroso para a indústria (OUTINEN et al., 1996).

Segundo Lopes-Bajonero et al. (1991), a hidrólise enzimática parece ser a alternativa mais viável para preparar produtos com baixos teores de fenilalanina, tanto pelo aspecto econômico quanto pelo menor dano aos aminoácidos, em comparação às hidrólises ácidas ou alcalinas. Esses autores desenvolveram um método para remoção da Phe de hidrolisados enzimáticos de leite em pó desnatado e caseinato, utilizando, primeiramente, uma protease produzida pelo *Aspergillus oryzae* e, depois, a papaína. O hidrolisado foi tratado com carvão ativado e houve uma remoção de 92% da Phe inicialmente presente no hidrolisado enzimático.

De Holanda & Vasconcelos (1989) desenvolveram um método em que a Phe foi removida de um hidrolisado ácido de caseína com a resina de adsorção Amberlite XAD-4. Esse tratamento reduziu o percentual de Phe na caseína de 3,42% para 1,35% em massa, porém esse teor não é suficientemente baixo para ser usado por pacientes com PKU.

Lopes (2002) e Soares (2003), empregando carvão ativado em béquer e em coluna, respectivamente, obtiveram extrações de 94 a 99% de Phe de hidrolisados protéicos de leite em pó desnatado, obtidos pela ação da papaína e de uma protease do *Aspergillus oryzae*.

Estudos têm sido realizados para obtenção de novos métodos de remoção da Phe. Para satisfazer à produção industrial, o método para remover a Phe de uma proteína ou de seu hidrolisado protéico deve ser prático, ter um custo-benefício adequado e o produto protéico livre de Phe deve apresentar gosto agradável (OUTINEN et al., 1996).

O presente trabalho se fundamentou nos estudos realizados por Thien (1988), Thien et al. (1988), Hong & Yang (1994) e Juang & Wang (2002) que analisaram a influência de vários parâmetros na extração e concentração de fenilalanina pela técnica de membranas líquidas surfatantes (MLS). Nos três primeiros trabalhos a fenilalanina foi extraída a partir de um mosto fermentado e no quarto a partir de uma solução aquosa. Maiores detalhes sobre os estudos realizados encontram-se no item 4.5.

#### 4. MEMBRANAS

O desenvolvimento ou aprimoramento de métodos de recuperação e purificação para a obtenção de um produto final a baixo custo, com características específicas e que não agridam o meio ambiente tem sido uma das maiores preocupações dos últimos anos. Avanços recentes na tecnologia de membranas têm estimulado o interesse por esses processos como alternativa ou em complemento às técnicas convencionais de separação, como a destilação, a cristalização, a extração líquido-líquido, dentre outras.

O processo de separação por membranas apresenta vantagens adicionais em relação a essas técnicas. Propicia a obtenção do produto sem a necessidade de mudança de fase, reduzindo, assim, o consumo de energia; permite a realização do processo à temperatura ambiente, o que, no caso de soluções termossensíveis, é importante, por não promover a degradação ou alteração química das espécies envolvidas no processo; e é um processo eficiente do ponto de vista do controle ambiental, por permitir a purificação de diferentes rejeitos.

Lakshminarayanaiah (1969) define, genericamente, a membrana como “uma barreira seletiva à transferência de massa entre duas fases, restringindo ou regulando a passagem de uma ou mais espécies através dela”. Sendo assim, os processos com membranas representam uma classe entre os processos de separação onde os componentes de uma mistura são separados devido às diferentes taxas de permeação através da interfase membrana. A permeabilidade seletiva das membranas é a propriedade que as tornam utilizáveis em processos de separação. A permeabilidade é o produto da difusividade, facilidade com que o soluto tem para se difundir em um meio, e do coeficiente de partição, facilidade com que o soluto tem em se solubilizar em um meio. Como diferentes solutos têm coeficientes de difusão e de partição diferentes, eles podem ser separados seletivamente pela membrana.

As taxas de difusão dos solutos através da membrana ocorrem devido a uma força-motriz. Em um processo envolvendo transferência de massa, como o processo de separação por membranas, essa força-motriz é a diferença de potencial químico. A

mobilidade e a concentração do soluto determinam a magnitude do fluxo produzido para uma dada força-motriz. As forças-motrizas e os correspondentes fluxos de massa através de uma membrana estão relacionados pelo coeficiente de permeabilidade que depende fortemente da natureza química e da estrutura física da membrana.

As membranas podem ser classificadas quanto à sua natureza química ou quanto à sua morfologia (STRATHMANN, 1998), mas, de um modo geral, essa classificação pode ser reduzida a membranas sólidas e líquidas.

As membranas sólidas, em geral polímeros, são as mais utilizadas nos processos de separação. Contudo, o fato de líquidos possuírem um coeficiente de difusão 1.000 vezes maior que os polímeros contribuiu para a pesquisa e desenvolvimento de membranas líquidas (MANSUR, 1994; KONZEN, 2000).

Das membranas líquidas obtidas, apenas duas apresentaram estabilidade e aplicação satisfatória. A membrana líquida suportada, que consiste de uma estrutura polimérica microporosa, utilizada como suporte, preenchida com solução orgânica, responsável pela extração, que constitui a membrana líquida; e a membrana líquida surfatante, que consiste em uma emulsão múltipla, estabilizada por um surfatante apropriado. Será discutida apenas a membrana líquida surfatante, em vista de ser esta a técnica utilizada, nesse trabalho, para promover a separação de fenilalanina.

#### **4.1. Membranas Líquidas Surfatantes**

O processo de separação por membranas líquidas surfatantes (MLS) foi desenvolvido por N. N. Li em 1968 (MIKUCKI, 1984; WAN & ZHANG, 2002). A descoberta da técnica gerou considerável interesse devido às inúmeras aplicações em processos industriais de separação. O processo MLS é um método efetivo para separação seletiva e concentração de várias espécies a partir de soluções diluídas, incluindo íons metálicos, ácidos e bases fracos e hidrocarbonetos. Aplica-se, também, no tratamento de rejeitos líquidos, no tratamento de águas residuárias, nas áreas biomédica e bioquímica (JUANG & WANG, 2002; KONZEN, 2000; MIKUCKI, 1984).



A técnica de membranas líquidas surfatantes apresenta algumas vantagens em relação aos processos tradicionais de extração. O processo MLS combina as etapas de extração e reextração, utilizando, por isso, equipamento único, o que implica em menor investimento inicial; consome menores quantidades de extratante, pois o papel desempenhado por este é de transportador, o que faz com que seja continuamente regenerado; possui elevada especificidade de separação, devido ao uso de uma fase membrana e transportadores apropriados para a condução do soluto desejado da fase externa para a fase interna; é um processo altamente eficiente devido às elevadas áreas superficiais proporcionadas pela técnica, entre 1.000 a 3.000 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> do volume do equipamento, possibilitando, assim, que solutos de soluções diluídas, sem tratamento prévio, sejam extraídos e concentrados em pouco tempo; é de fácil passagem da escala laboratorial para a escala industrial (KONZEN, 2000; MANSUR, 1994; MIKUCKI, 1984; SALUM, 1998; PATNAIK, 1995, TRINDADE, 2002).

O processo de obtenção dessas membranas é baseado na teoria de emulsões múltiplas (SALUM, 1998). Emulsões “são sistemas heterogêneos constituídos de pelo menos um líquido imiscível disperso em outro na forma de gotas com diâmetro superior a 0,1 micra” (ARAÚJO, 1995). Esses sistemas são termodinamicamente instáveis e necessitam da adição de agentes tensoativos que promovam sua estabilidade.

O sistema MLS consiste de três fases líquidas imiscíveis: a fase de alimentação que possui o(s) soluto(s) de interesse (fase externa), a fase membrana, através da qual ocorre a permeação do soluto, e a fase receptora desse(s) soluto(s) (fase interna). A membrana líquida surfatante é preparada em duas etapas. Primeiramente, forma-se uma emulsão primária, estabilizada por um agente tensoativo, através da agitação vigorosa da fase interna e fase membrana, de naturezas distintas. Posteriormente, forma-se a emulsão múltipla, dispersando-se a emulsão primária na fase externa, de mesma natureza que a fase interna, sob agitação moderada. A emulsão primária é formada por gotículas com diâmetros que variam entre 0,1 e 10 µm e a emulsão múltipla é formada por glóbulos com diâmetro variando de 0,1 a 2 mm (SALUM, 1998; KONZEN, 2000). Na FIGURA 4.1, é mostrado o processo de preparação das emulsões primária e múltipla.

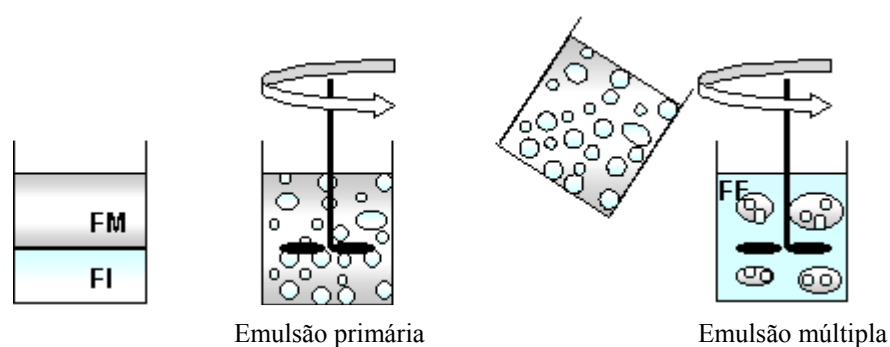


FIGURA 4.1 - Preparação das emulsões primária e múltipla.

(FE: Fase externa; FM:Fase Membrana e FI: Fase Interna)

A emulsão primária pode ser de dois tipos: emulsão A/O, quando a fase dispersa é aquosa e a contínua orgânica; e emulsão O/A, quando se tem uma fase orgânica dispersa em uma fase aquosa (ELLER et al., 1979; NAKASHIO et al, 1988). Essas duas emulsões levam, respectivamente, à formação de emulsões múltiplas do tipo A/O/A, quando os glóbulos da fase oleosa suspensos na fase aquosa contêm gotículas dispersas de solução aquosa; e O/A/O, quando os glóbulos da solução aquosa suspensos na fase externa oleosa contêm gotículas de óleo em seu interior (vide FIGURA 4.2). Na extração e concentração de aminoácidos, utiliza-se uma emulsão múltipla do tipo A/O/A, em que a fase membrana, de natureza orgânica, é composta, normalmente, por um diluente, um extratante e, às vezes, um modificador, que constituem o solvente, e ainda pelo surfatante.

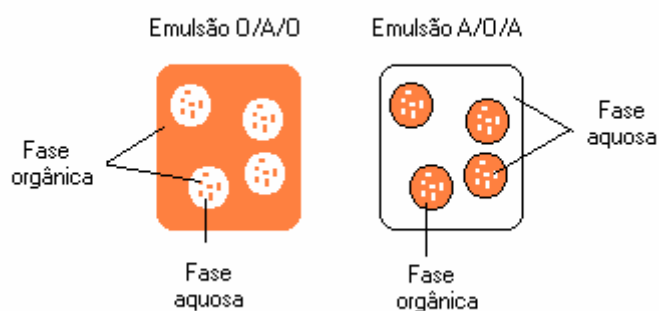


FIGURA 4.2 - Representação das emulsões múltiplas.

## 4.2. Processo de Separação por Membranas Líquidas Surfatantes

O processo MLS se divide, essencialmente, em quatro etapas: emulsificação, permeação, decantação e desemulsificação, conforme mostrado na FIGURA 4.3.

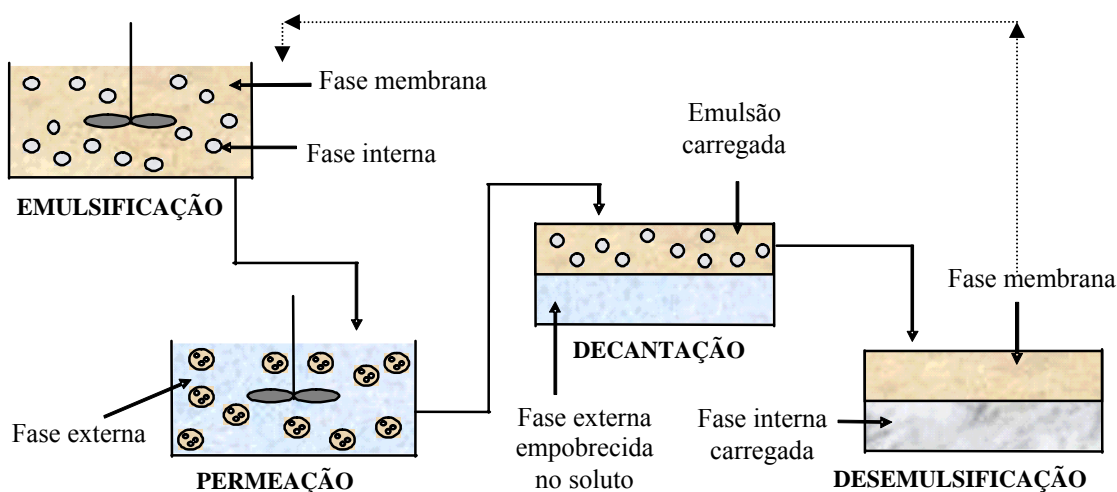


FIGURA 4.3 - Etapas do processo de extração pela técnica de membranas líquidas surfatantes.

### 4.2.1. Emulsificação

A etapa de emulsificação consiste em formar, sob intensa agitação, uma emulsão denominada primária, constituída por duas fases imiscíveis, uma fase dispersa que se encontra sob a forma de gotículas (a fase interna (FI)), e uma fase contínua (fase membrana (FM)). A velocidade de agitação e o tamanho das gotículas dispersas variam, geralmente, entre 5.000 e 25.000 rpm e 0,1 e 10 $\mu$ m, respectivamente (SALUM,1998).

Os principais parâmetros que afetam essa etapa são: a velocidade e o tempo de agitação, e a concentração e o tipo de surfatante empregado. Esses parâmetros influenciam diretamente no tamanho das gotículas dispersas, na viscosidade e na estabilidade da emulsão (MANSUR, 1994).

A facilidade de se dispersar um líquido em outro está relacionada à diferença de tensão interfacial entre eles, quanto menor essa diferença mais fácil será emulsioná-los. Como a tensão interfacial entre dois líquidos imiscíveis é sempre maior que zero, a formação de emulsões produz um grande aumento da área interfacial entre os dois líquidos, o que resulta em um correspondente aumento da energia livre interfacial do sistema. A emulsão produzida é, conseqüentemente, instável termodinamicamente. Dessa forma, as gotículas dispersas tendem a se coalescer no sentido de diminuir essa energia livre.

Com o intuito de impedir a quebra da emulsão formada, faz-se necessária a presença de um terceiro componente que possua afinidade com cada uma das fases e a propriedade de migrar, absorver e se acumular na interface. Esse componente é chamado de agente de superfície ativa, surfatante ou tensoativo, sendo o responsável pela emulsificação das fases. Por esse motivo, é também denominado emulsionante ou agente emulsificante (ARAÚJO, 1995).

A função do agente emulsificante é promover a estabilização dessa emulsão através da redução da tensão interfacial entre os dois líquidos e diminuir as taxas de coalescência da fase dispersa pela formação de uma barreira mecânica, elétrica e/ou estérica ao redor delas. As barreiras elétrica e estérica inibem a aproximação das gotículas, enquanto que a barreira mecânica aumenta a resistência das gotículas em caso de choque, evitando a coalescência (ROSEN, 1978; SUMNER, 1954).

Os emulsificantes pertencem à classe de compostos caracterizados por natureza anfifílica, apresentando, em sua estrutura química, segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos, espacialmente separados (ARAÚJO, 1995). É devido a essa característica que os emulsificantes reduzem a tensão superficial na interface das fases imiscíveis, permitindo, portanto, a formação da emulsão. Solúvel em água, a parte hidrofílica é formada, geralmente, por grupos ácidos ou básicos (radicais OH dos grupos hidroxilas, aminas, carboxilas, sulfatos, etc). A parte hidrofóbica é insolúvel em água e solúvel em meios orgânicos, sendo constituída por cadeias de hidrocarbonetos alifáticos, lineares ou ramificados e radicais aromáticos-alifáticos (SANCTIS, 1999). Na FIGURA 4.4, é representada a distribuição das moléculas de surfatantes em emulsões A/O/A e O/A/O.

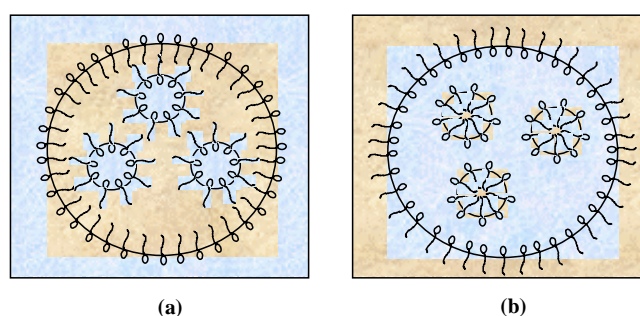


FIGURA 4.4 - Distribuição das moléculas de surfatante nas interfaces A/O e O/A.

(a) Emulsão múltipla A/O/A, (b) Emulsão múltipla O/A/O

De acordo com a natureza dos seus grupos polares, os tensoativos são classificados em aniônicos, apresentando carga negativa na sua porção polar; catiônicos, apresentando carga positiva na sua porção polar; não-iônicos, na ausência de carga na parte polar; e anfotéricos, com cargas positiva e negativa presentes, simultaneamente, na parte polar do surfatante (ELLER et al., 1979; SALUM, 1998; SANCTIS, 1999).

O balanço entre as partes hidrofílica e hidrofóbica (lipofílica) da molécula de tensoativo, chamado balanço hidrofílico-lipofílico (BHL), representa uma expressão da atração simultânea desse reagente pela água e pelo óleo. Seu valor informa a tendência do tipo de emulsão a ser formada, mas não a sua eficiência. O BHL é o percentual em peso dos grupos hidrofílicos da molécula dividido por 5, ou seja, varia de 0 (molécula 100% lipofílica) a 20 (molécula 100% hidrofílica). No caso de uma mistura de surfatantes, o BHL é calculado da mesma forma, ponderando-se as quantidades de cada um deles (SALUM, 1998). Se o BHL é menor que 10, tensoativo com maior caráter lipofílico, ele será predominantemente, solúvel em óleo, e estabilizará uma emulsão do tipo A/O e, conseqüentemente, uma emulsão múltipla A/O/A. Surfatantes com valores de BHL superiores a 10 serão, predominantemente, solúveis em água, e, por conseguinte, estabilizarão uma emulsão do tipo O/A, levando a uma emulsão múltipla O/A/O (ELLER et al., 1979; PATNAIK, 1995).

O método BHL foi desenvolvido por Griffin, em 1947, (SANCTIS, 1999) e representa uma das formas de organizar e normatizar a escolha do sistema emulsionante. Seus valores são encontrados na literatura (ELLER et al., 1979). Deve ser utilizado com precaução, visto que os emulsificantes comerciais não são utilizados completamente

puros. A desvantagem do uso do BHL é que ele não expressa as mudanças que ocorrem na natureza do surfatante devido a variações de temperatura. Quando a temperatura aumenta, o grau de hidratação dos grupos hidrofílicos de uma molécula de surfatante pode decrescer, tornando esse reagente menos hidrofílico e, portanto, com um menor BHL, o que pode levar a uma inversão da emulsão formada (SALUM, 1998).

O método BHL é satisfatório, principalmente, para determinação de surfatantes não-iônicos. Para surfatantes iônicos e alguns poucos não-iônicos, os valores de BHL devem ser estimados por métodos experimentais (ELLER et al., 1979). Uma estimativa grosseira para se determinar o BHL de um emulsificador é através de sua solubilidade ou grau de dispersão em água, apresentado na TABELA IV.1. Ressalta-se, entretanto, que o BHL de um emulsificador não está relacionado de forma absoluta com sua solubilidade em água ou óleo, de forma que dois diferentes emulsificadores com BHL similares podem exibir diferentes solubilidades (ELLER et al., 1979).

TABELA IV.1- Relação entre o BHL e o grau de dispersão de um surfatante em água.

<b>Composição em água</b>	<b>BHL</b>
Nenhuma dispersão	1 – 4
Pouca dispersão	3 – 6
Dispersão leitosa após agitação vigorosa	6 – 8
Dispersão leitosa estável	8 – 10
Dispersão de translúcida para clara	10 – 13
Solução clara	> 13

Fonte: ELLER et al., 1979.

Um surfatante adequado para o processo MLS deve possibilitar uma pequena taxa de quebra dos glóbulos; ser estável quimicamente; possuir custo viável e ser de fácil síntese; estabilizar o sistema sem, no entanto, inviabilizar a desemulsificação (DRAXLER & MARR, 1986; SALUM, 1998).

O termo estabilidade refere-se ao fato de o sistema ser homogêneo. Segundo Rosen (1978) e Sumner (1954), uma diminuição da homogeneidade pode ser representada de

três formas: a) pela concentração das gotículas da fase dispersa no topo ou no fundo da emulsão, devido a uma diferença de densidade entre os líquidos; b) pela flocculação ou acúmulo de gotículas individuais para formar agregados maiores; c) pela coalescência das gotículas, resultando na quebra da emulsão. Os fatores que interferem na estabilidade de uma emulsão, segundo Rosen (1978) e Sanctis (1999), são listados a seguir:

#### 1- Natureza física do filme interfacial

As gotas de líquido dispersas na emulsão estão em constante movimento, conseqüentemente, há freqüentes colisões entre elas. Por esse motivo, é muito importante a formação de um filme interfacial que tenha a finalidade de promover uma estabilidade mecânica da emulsão. Esse filme, constituído de moléculas de tensoativo densamente empacotadas, se adsorve ao redor das gotas emulsionadas e possui propriedades de fortes forças intermoleculares entre suas moléculas e as gotículas de fase dispersa. Em geral, surfatantes puros não formam um bom empacotamento e, conseqüentemente, não são suficientemente fortes mecanicamente. Bons agentes emulsificantes são usualmente uma mistura de dois ou mais surfatantes, um com maior solubilidade em água e outro com maior solubilidade na fase oleosa.

#### 2- Existência de barreiras elétricas ou estéricas contra a coalescência

A presença de cargas nas gotículas dispersas constitui uma barreira elétrica à sua coalescência. A presença dessa carga é significativa somente em emulsões do tipo O/A. Em emulsões A/O, objeto do trabalho, a carga é muito pequena ou inexistente pela própria natureza da emulsão. Sendo assim, a princípio, não há nesse tipo de emulsão, nenhuma correlação entre a estabilidade e a carga.

A presença de grupamentos no filme interfacial pode levar a arranjos mais energéticos, quando da aproximação de duas gotículas, constituindo assim uma barreira estérica à coalescência.

### 3- Viscosidade da fase contínua

O aumento da viscosidade  $\eta$  da fase contínua reduz o coeficiente de difusão  $D$  das gotículas de acordo com a seguinte equação para gotículas esféricas:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta a} \quad (4.1)$$

em que  $k$  é a constante de Boltzmann,  $T$  é a temperatura absoluta em  $a$  o raio das gotículas. E como o coeficiente de difusão é reduzido com o aumento da viscosidade, a frequência de colisão das gotículas e sua taxa de coalescência são diminuídas.

### 4- A distribuição do tamanho das gotas

Gotas grandes possuem menor área interfacial por unidade de volume, assim, são termodinamicamente mais estáveis do que gotas menores e tendem a crescer à custa destas. Se o processo continua, ocorre a quebra da emulsão. Dessa forma, uma emulsão composta por gotas com uma distribuição de tamanho mais uniforme é mais estável.

### 5- Temperatura

A mudança na temperatura causa alterações na tensão interfacial entre as duas fases, na natureza e viscosidade do filme interfacial, na solubilidade relativa dos emulsionantes em cada fase, na pressão de vapor e viscosidade das fases líquidas e na agitação térmica das partículas dispersas. Esses fatores afetam a estabilidade da emulsão, podendo provocar inversão ou quebra.

### 6- Razão de volumes entre as fases

À medida que o volume da fase dispersa aumenta, o filme interfacial se expande, reduzindo a estabilidade do sistema. Se o aumento do volume da fase dispersa ultrapassar o volume da fase contínua, o fenômeno de inversão das fases pode ocorrer, a menos que o surfatante utilizado estabilize somente um tipo de emulsão.



#### 4.2.2. Permeação

Na etapa da permeação, a emulsão primária, obtida na emulsificação, é dispersada na fase externa, sob agitação moderada, formando a emulsão múltipla. A velocidade de agitação e o diâmetro dos glóbulos de emulsão primária formados variam, em média, entre 100 a 400 rpm e 0,1 a 2 mm, respectivamente. É nessa etapa que ocorre a extração do soluto da fase externa para a fase membrana e sua reextração para a fase interna. Esse transporte do soluto ocorre devido à diferença de potencial químico existente entre as fases externa e interna. O transporte se dá por diversos mecanismos, a depender da natureza química do soluto, da existência ou não de transportador do tipo de transportador, da natureza do complexo soluto-transportador formado e, conseqüentemente, da capacidade de difusão desse complexo através da fase membrana. Essa etapa é a mais lenta, por envolver reações químicas ou solubilização e difusão, sendo, portanto, a etapa controladora do processo de separação por MLS.

Os parâmetros que podem interferir na etapa de permeação são: o tipo e a concentração de extratante e surfatante presentes na fase membrana, o pH das fases externa e interna, a temperatura do processo, a razão entre as fases externa/membrana/interna, a velocidade de agitação, a composição das fases externa e interna e a concentração inicial do soluto de interesse nessas fases (MANSUR, 1994).

O extratante é o reagente que se complexa com o soluto e o transporta através da fase membrana. Quando não há quantidade suficiente de extratante na interface fase externa/fase membrana para promover a retirada de soluto da fase externa, o prosseguimento da reação torna-se dependente do retorno do transportador (extratante) para essa interface. O aumento da concentração de extratante no sistema leva a uma maior disponibilidade desse componente nessa interface, permitindo que uma quantidade maior de moléculas de soluto sejam transportadas para a fase interna, aumentando, assim, a transferência de massa. Contudo, o rápido enriquecimento da fase interna e o aumento da concentração do extratante podem levar ao inchamento dos glóbulos de emulsão, fenômeno conhecido como osmose que será visto com mais detalhes no item 4.4.1.1 desse trabalho.

O surfatante, conforme explicado no item 4.2.1, é o reagente responsável pela estabilidade da emulsão primária. Quando utilizado em excesso, aumenta a viscosidade da membrana afetando a etapa de permeação. O aumento da viscosidade oferece uma resistência adicional à transferência de massa do extratante e do complexo extratante/soluto. Além disso, dificulta a dispersão da emulsão primária na fase aquosa, levando à formação de um menor número de glóbulos de emulsão e de maior tamanho que implica uma redução da área interfacial, com conseqüente queda nas taxas de permeação. O excesso de emulsificador pode, também, ter efeitos deletérios na cinética de extração do soluto ao aumentar a resistência interfacial à reação química. Além disso, com o aumento da concentração de surfatante, há um aumento no grau de interação entre as caudas hidrofóbicas das moléculas de emulsificador que estabilizam diferentes gotículas de fase interna. Isto diminui substancialmente a mobilidade das gotículas de fase interna, mantendo-as praticamente fixas dentro do glóbulo de emulsão, aumentando, assim, a espessura efetiva da fase membrana (distância média que o complexo extratante/soluto deve difundir para alcançar as gotículas) (MIKUCKI, 1984). Um outro problema de grande relevância causado pelo excesso de emulsificador é a permeação de fase externa para dentro do glóbulo, em virtude desse reagente ser ambifílico e poder formar micelas, aprisionando fase externa em seu interior. Esse fenômeno é conhecido como osmose.

O pH, das fases externa e interna, é uma das variáveis mais importantes no processo de extração por estar diretamente relacionado à química do processo. É em conseqüência disto que alguns extratantes só conseguem realizar o transporte do soluto em valores específicos de pH.

O aumento da temperatura influi de maneira significativa no processo de permeação, pois diminui a viscosidade da fase orgânica e da emulsão, o que aumenta a mobilidade do complexo através da membrana, das gotículas no seu interior e a área superficial disponível para a transferência de massa, devido à formação de um número maior de glóbulos. O decréscimo na viscosidade leva, entretanto, a uma diminuição na espessura da membrana, tornando-a mais susceptível à ruptura. Outros efeitos causados pelo aumento de temperatura são as alterações nas taxas de reação química nas interfaces da

membrana, o aumento da solubilidade da água e da difusividade das moléculas de surfatante hidratado na fase orgânica, favorecendo o inchamento (vide item 4.4) (KONZEN, 2000).

Cada tipo de sistema apresenta uma proporção ótima dos volumes das fases interna, externa e membrana. Normalmente, a fase interna se apresenta em proporção inferior à fase externa, para promover uma concentração eficiente do soluto, e o volume da fase membrana é definido com critério, devido aos custos envolvidos com os reagentes (KONZEN, 2000). A proporção de volumes fase membrana/fase interna está relacionada à transferência de massa e à estabilidade da membrana. Quanto menor for essa razão, maior será a transferência de massa e menor a estabilidade, para uma determinada concentração de surfatante e de extratante, devido à menor espessura da membrana (JUANG & WANG, 2002; SALUM, 1998). Se o volume de fase dispersa na emulsão aumentar a tal ponto que este volume ultrapasse o da fase contínua, pode até acontecer a inversão das fases, a menos que o emulsificador tenha um balanço de grupos hidrofílico e lipofílico tal que só estabilize um determinado tipo de emulsão.

Estudos de emulsões, sem a adição de um emulsificador, mostraram que a partir de certa razão das fases líquidas imiscíveis ocorre inversão de fases da emulsão, ou seja, a fase contínua torna-se a fase dispersa. A razão dos volumes das fases imiscíveis no ponto de inversão é igual à raiz quadrada da razão das viscosidades dos dois componentes. Com a adição de emulsificador, contudo, há um controle do efeito da inversão. A inversão das fases parece depender da concentração de emulsificador, da sua natureza química, e de seu BHL. Existe certo valor do BHL em que a inversão ocorre mais facilmente, porém alterando-se o BHL para valores mais altos ou mais baixos, a estabilidade da emulsão, seja ela A/O ou O/A, aumenta, atinge um máximo e depois decresce. A inversão e especialmente a temperatura de inversão das fases estão relacionadas com a escolha do emulsificador.

A velocidade de agitação está relacionada à eficiência de extração e à quebra dos glóbulos de emulsão. Um aumento da agitação leva a uma maior contactação entre o soluto e o transportador e também a um aumento da área superficial disponível,

favorecendo, assim, o transporte de massa. Porém, velocidades muito altas favorecem a quebra dos glóbulos de emulsão, o que provoca perda do soluto já extraído (Vide item 4.4.1).

A concentração do soluto na fase externa influi de maneira significativa sobre o processo de extração. Nos instantes iniciais da permeação, um aumento da concentração do soluto aumenta proporcionalmente a taxa de transferência de massa, devido a um maior gradiente de potencial químico. Contudo, no decorrer do tempo, essa taxa torna-se constante porque a reação de complexação é mais rápida que a difusão do complexo, assim, as moléculas de soluto dependem do retorno das moléculas de extratante para se complexarem e serem, sob essa forma, novamente transportadas da fase externa para a fase interna (KONZEN, 2000; SALUM, 1998).

A concentração da fase interna leva a uma maior transferência de massa devido ao aumento do gradiente de potencial químico. Isto, também, provoca um aumento no transporte de água, devido ao aumento do gradiente de pressão osmótica (vide item 4.4.1.1), ocasionando um inchaço dos glóbulos de emulsão (KONZEN, 2000).

### **4.2.3. Decantação**

Nessa etapa, a emulsão primária carregada é separada da fase externa empobrecida no(s) soluto(s) por uma operação estritamente física: a decantação. Esta separação é obtida pela coalescência dos glóbulos da emulsão múltipla devido à ausência de agitação. A separação dependerá não somente da diferença de densidade, como também da viscosidade da fase contínua, do tempo de residência e da área disponível para a decantação. A emulsão primária, rica no soluto de interesse, segue para a etapa de desemulsificação e a fase externa pode ser descartada ou submetida a tratamento subsequente.

#### 4.2.4. Desemulsificação

A desemulsificação consiste na quebra da emulsão primária e, conseqüentemente, liberação da fase interna, enriquecida no(s) soluto(s) de interesse. A fase interna, carregada no soluto de interesse, segue para tratamentos posteriores, ao passo que a fase membrana pode ser reciclada.

Essa etapa pode ser realizada utilizando-se processos térmicos, químicos, ultra-som, centrifugação ou coalescência eletrostática. Dentre estes, a coalescência eletrostática tem se mostrado mais eficiente e apropriada à separação das emulsões altamente estáveis, pois apresenta alta eficiência, não oferece riscos de contaminação com produtos químicos e evita degradação do soluto por exposição ao calor, tendo sido o método utilizado no presente trabalho.

A quebra da emulsão em um processo MLS pode ser dividida em três estágios (HSU & LI, 1985):

- ♦ coalescência das gotículas e seu crescimento;
- ♦ decantação da fase mais densa;
- ♦ coalescência das gotículas maiores com suas respectivas fases contínuas.

Na coalescência eletrostática, o campo elétrico aplicado polariza as gotículas da fase interna fazendo com que elas se alinhem em longas cadeias na direção do campo. Esse alinhamento promove a coalescência da fase interna pelo choque entre as gotículas, que é causada pela força resultante da presença do campo elétrico (SALUM, 1998).

A frequência e a voltagem são os principais parâmetros relacionados à quebra da emulsão primária. Porém, a frequência parece influenciar mais acentuadamente do que a voltagem, permitindo, então, a utilização de campos elétricos relativamente menos intensos. Para uma determinada faixa de operação, quanto maior for a frequência utilizada, mais eficiente será o processo de quebra da emulsão, porém é possível efetuar a quebra utilizando frequências usuais de rede (50 ou 60 Hz). A tensão, entretanto, é a força-motriz do processo, pois estabelece a magnitude do campo elétrico aplicado. Este

é o parâmetro-chave do processo porque para intensidades de campo inferiores a um valor limite, a quebra não ocorre, independentemente da frequência utilizada. Quanto à corrente, esta não tem influência na quebra da emulsão, pois para que se consiga ter um campo elétrico de alta intensidade, deve haver um isolamento eficiente entre os eletrodos que constituem o desmulsificador. Esse isolamento implica em uma elevada resistência entre eles e, conseqüentemente, uma pequena passagem de corrente. Assim, na desmulsificação, opera-se em níveis muito baixos dessa variável, da ordem de miliampéres (KONZEN, 2000; MANSUR, 1994).

### **4.3. Transferência de Massa em Membranas Líquidas Surfatantes**

A etapa de permeação, como explicado o item 4.2.2, consiste na passagem do soluto da fase externa para a interna, através da fase membrana. Essa transferência de massa é um processo de não equilíbrio e pode ocorrer por difusão das moléculas individuais ou por um fluxo convectivo, devido a um gradiente de potencial químico (CUSSLER, 1984; SALUM, 1998).

A transferência de massa pode ser representada, de maneira idealizada, por um perfil de concentração contendo 5 etapas apresentadas na FIGURA 4.5, de forma simplificada, em uma configuração plana (KONZEN, 2000; MANSUR, 1994; SALUM, 1998):

1. difusão do soluto na película de fase externa que circunda o glóbulo;
2. solubilização ou reação química do soluto na superfície externa da fase membrana;
3. difusão do soluto ou do complexo através da fase membrana;
4. solubilização ou reação química do soluto na superfície interna da membrana;
5. difusão na fase interna.

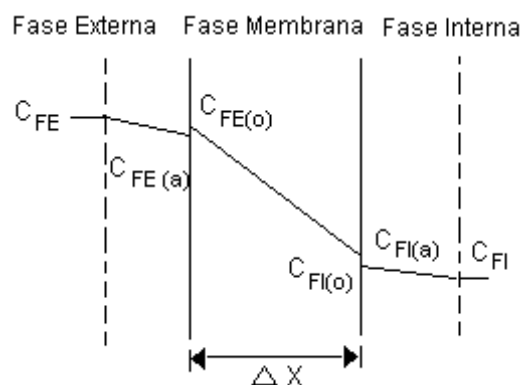


FIGURA 4.5 - Perfil de concentração através de uma membrana líquida plana.

Fonte: KONZEN, 2000.

Observa-se pela FIGURA 4.5, que o soluto difunde-se inicialmente na película de fase externa, havendo um pequeno gradiente de concentração. Na interface externa ocorre uma descontinuidade no perfil de concentração, correspondendo à solubilização ou à partição do soluto entre as fases externa e membrana devido a uma reação química. Na seqüência, ocorre a difusão do soluto ou complexo através da fase membrana, havendo um elevado gradiente de concentração entre as interfaces da membrana. Observa-se que a inclinação da curva nessa região é acentuada, demonstrando ser o estágio de maior resistência e, conseqüentemente, o estágio controlador do processo. Na interface interna, ocorre novamente a descontinuidade do perfil pelos mesmos motivos apresentados para a interface externa. Finalmente, o soluto se difunde pela película de fase interna.

A permeação de um soluto através de uma membrana líquida pode ocorrer segundo diferentes mecanismos de transferência de massa. Antes de ser feita uma abordagem específica sobre esses mecanismos, é importante relacionar as seguintes considerações (SALUM, 1998):

- ♦ prevalece o equilíbrio químico e de fases nas interfaces externa e interna;
- ♦ o sistema encontra-se em regime permanente;
- ♦ a difusão na fase membrana é a etapa determinante do processo;
- ♦ a membrana apresenta as interfaces limites planas e paralelas entre si.

As suposições de que o fluxo da membrana é difusivo e ocorre em regime permanente fornecem uma boa aproximação do sistema real. No entanto, sabe-se que a permeação

do soluto através da membrana ocorre segundo um regime pseudo-permanente, pois as concentrações das diferentes espécies em cada ponto variam com o tempo. Porém, como a membrana oferece grande resistência à transferência de massa, isso ocorre lentamente de modo que o perfil de concentração pode ser aproximado de um regime permanente. Como consequência dessas hipóteses, a transferência de massa pode ser descrita pela primeira Lei de Fick (CUSSLER, 1984, KONZEN, 2000).

A elevada eficiência de separação obtida pela técnica MLS é conseguida pelo uso de transporte facilitado que maximiza o fluxo através da membrana e a capacidade da fase interna em difundir o soluto. O mecanismo de transporte facilitado pode ser classificado em dois tipos: tipo I e tipo II (YAN, 1993).

No transporte facilitado tipo I, a espécie difusiva deve ser solúvel na membrana. O gradiente de concentração das espécies através da membrana é maximizado por uma reação irreversível entre a espécie e um reagente na fase interna, o que mantém a concentração da espécie praticamente nula na fase interna. É desejável que o produto dessa reação seja incapaz de se difundir através da membrana. No transporte facilitado tipo II, um extratante, conhecido como transportador, é incorporado dentro da fase membrana para transportar a espécie difusiva da fase externa para a fase interna. O extratante é liberado após a transferência da espécie e retorna à interface externa de modo a manter o ciclo constante (YAN, 1993).

Vários são os tipos de mecanismo de transporte encontrados em MLS, permeação simples, permeação simples com reação química, transporte facilitado simples, transporte facilitado simples com reação química, co-transporte e contra-transporte (KONZEN, 2000; MANSUR, 1994; MARR & KOPP, 1982; TRINDADE, 2002). No presente trabalho será discutido apenas o mecanismo de contra-transporte, pelo qual ocorre a extração de fenilalanina com o extratante Adogen 464.

No mecanismo de contra-transporte, mostrado na FIGURA 4.6, o soluto A, presente na fase externa, e a espécie B, presente na fase interna, são transportados, em sentidos opostos através da fase membrana, pelo extratante C. Inicialmente, A reage com C na



interface com a fase externa formando o complexo AC, que se difunde através da membrana até a interface com a fase interna. Nesta interface, C libera A e capta a espécie B, formando o complexo BC, que se difunde através da membrana até a interface com a fase externa, onde há liberação de B e captação de outra molécula de A, reiniciando o ciclo. Um excesso de B é utilizado para uma completa separação da espécie A ou, em alguns casos, pode haver a reação de B com D, na fase externa, para que a concentração de B seja mantida constante nessa fase (KONZEN, 2000; MANSUR, 1994; MARR & KOPP, 1982; TRINDADE, 2002).

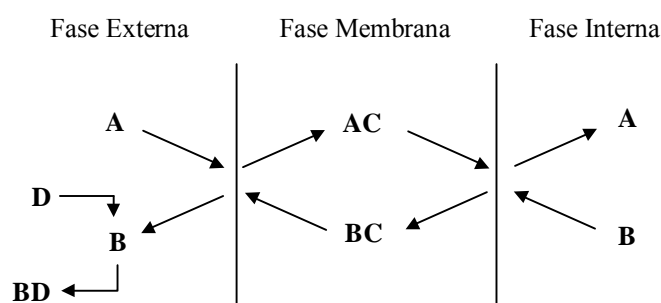


FIGURA 4.6 - Mecanismo de contra-transporte.

Fonte: MARR & KOPP, 1982.

No presente estudo, tem-se que a fenilalanina, sob a forma ionizada  $\text{Phe}^-$ , é a espécie presente na fase externa (espécie A) e o ânion  $\text{Cl}^-$  é a presente na fase interna (espécie B). O  $\text{Phe}^-$  é transportado da fase externa para a interna e o  $\text{Cl}^-$  em sentido contrário. O transporte dessas espécies é facilitado pela presença de um agente extrator  $\text{X}^+$  (espécie C), no caso o Adogen 464, cloreto de metil-trialquil amônio. Na interface externa, o Adogen 464 reage com a espécie  $\text{Phe}^-$ , formando o complexo  $\text{X}^+\text{Phe}^-$  (complexo AC), que, após se difundir na fase membrana, atinge a interface interna, liberando  $\text{Phe}^-$  para a fase interna e formando o complexo  $\text{X}^+\text{Cl}^-$  (complexo BC) na interface interna. Esse complexo difunde em direção à interface externa, onde libera  $\text{Cl}^-$  e reage novamente com a espécie  $\text{Phe}^-$ , recomeçando o ciclo. Uma representação esquemática do mecanismo de contra-transporte para extração da fenilalanina com Adogen 464 é mostrado na FIGURA 4.7. As reações 4.1 e 4.2 descrevem a reação de extração de fenilalanina, a partir da fase externa aquosa, e a reação de reextração de fenilalanina para a fase interna aquosa, respectivamente. Nessas reações, o índice  $\text{A}^+$  refere-se ao

extratante Adogen 464 e os subíndices aq. e org. referem-se, respectivamente, à fase aquosa e à fase orgânica.

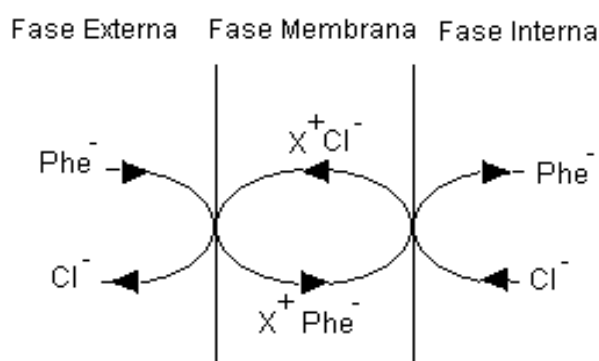


FIGURA 4.7 - Representação do mecanismo de contra-transporte para extração de fenilalanina.

Fonte: THIEN et al., 1988.

#### 4.4. Problemas Associados à Técnica MLS

O processo de separação por membranas líquidas surfatantes, conforme citado anteriormente, é uma tecnologia nova, porém eficiente em processos de extração e concentração e com um campo de aplicações muito vasto. Apesar das inúmeras vantagens relacionadas à técnica, diversos problemas indesejáveis podem ocorrer durante a etapa de permeação, inviabilizando ou dificultando a extração e/ou concentração do soluto desejado, devendo, portanto, ser minimizados. Dentre estes problemas os que merecem maior atenção são a instabilidade da membrana durante a permeação, com destaque para a osmose e a permeação reversa do soluto. Problemas como a reprodutibilidade das emulsões, seletividade do processo, efeitos de sólidos coloidais e lenta cinética de extração também ocorrem e não devem ser desconsiderados. Na TABELA IV.2, são mostrados resumidamente os problemas principais associados à técnica MLS (SALUM, 1998; MIKUCKI, 1984).

TABELA IV.2 - Principais problemas associados à técnica MLS.

Problema	Causas	Fatores que interferem	Efeitos
Instabilidade da membrana	Ruptura da membrana	Cisalhamento devido à agitação durante a permeação.	Glóbulos se rompem na região nodal, com perda de fase interna e conseqüente redução na taxa de extração.
	Coalescência de gotículas de fase interna dentro dos glóbulos de emulsão	Diâmetro das gotículas de fase interna e sua distribuição de tamanho.	Rompimento dos glóbulos com perda de fase interna.  Diminuição na área interfacial disponível à reação de reextração do soluto.
	Coalescência dos glóbulos de emulsão	Choque entre glóbulos durante a agitação na etapa de permeação.	Diminuição na área interfacial disponível para a reação de extração do soluto.  Em alguns casos, leva à oclusão.
	Entrada de fase externa para dentro dos glóbulos de emulsão	Oclusão.	Entrada de fase externa para dentro dos glóbulos. Após a desemulsificação, fase interna carregada contendo fase externa e, portanto, menos pura.
Osmose.		Inchamento (“swelling”) dos glóbulos e diluição da fase interna.	
Permeação reversa do soluto	Reação de troca de um soluto já transferido para a fase interna com um outro íon presente nessa fase.	Tempo de permeação, força iônica da fase externa e pH inadequados.	Ineficiência no processo de extração do soluto da fase externa para a fase interna.

#### 4.4.1. Instabilidade da membrana

Como membranas líquidas são finas, móveis e sujeitas ao cisalhamento, elas tendem a se romper durante o processo de preparação e uso. A estabilidade das MLS depende do cisalhamento produzido pela agitação, da coalescência das gotículas internas, da coalescência dos glóbulos de emulsão e da entrada de fase externa para dentro dos glóbulos de emulsão (MIKUCKI, 1984; PATNAIK, 1995).

O cisalhamento produzido pela agitação, nas regiões próximas ao impelidor, deforma os glóbulos que tendem a se romper na região de maior deformação, denominada nodal, no momento de deformação máxima (FIGURA 4.8). Como consequência dessa quebra, em alguns mecanismos como é o caso do contra-transporte, a perda da solução que constitui a fase interna leva à diminuição na quantidade dessa fase, afetando a reação de regeneração do transportador na interface interna. E como a espécie presente nessa fase atua como um bombeador do soluto a ser extraído da fase externa, há um comprometimento das taxas de extração (MIKUCKI, 1984; SALUM, 1998; WAN & ZHANG, 2002).

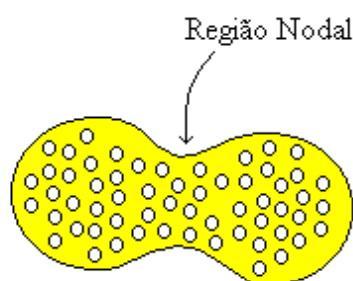


FIGURA 4.8 - Formação da região nodal.

Fonte: MIKUCKI, 1984.

A coalescência das gotículas da fase interna ocorre devido a uma distribuição não homogênea dos diâmetros das gotículas. Esse fenômeno, além de reduzir a área interfacial disponível à reação de reextração do soluto, provoca o rompimento dos glóbulos com perda de fase interna (MIKUCKI, 1984; SALUM, 1998).

A coalescência dos glóbulos de emulsão ocorre devido ao choque entre os glóbulos durante a agitação na etapa de permeação. Tem como efeito a diminuição da área interfacial disponível para a reação de extração do soluto e, em alguns casos, leva ao fenômeno conhecido como oclusão, explicado a seguir (MIKUCKI, 1984; SALUM, 1998).

A quebra da emulsão está intimamente relacionada com a entrada de água para o interior dos glóbulos. A água pode entrar nos glóbulos devido ao fenômeno osmótico ou por um mecanismo de arraste denominado oclusão. A osmose consiste na passagem de

água da fase externa para a fase interna e ocorre devido a uma diferença de potencial químico entre os dois lados da membrana (FIGURA 4.9). Esse fenômeno será explicado separadamente e com maiores detalhes no item 4.4.1.1. A oclusão consiste na entrada de fase externa para o interior do glóbulo no momento de sua formação, ou seja, quando a emulsão primária é adicionada à fase externa sob agitação, parte da fase externa fica retida dentro do glóbulo como fase dispersa. A oclusão pode também ser causada pela coalescência dos glóbulos de emulsão. Quando os glóbulos se juntam, o filme de fase externa que os separa é retido como fase dispersa nos glóbulos de maior tamanho (MIKUCKI, 1984; SALUM, 1998).

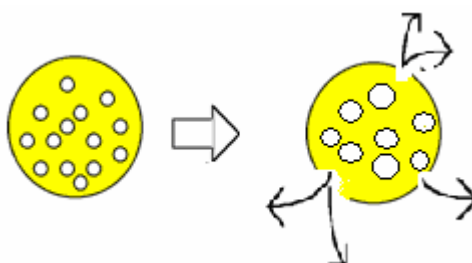


FIGURA 4.9 - Ruptura da membrana devido à osmose.

A perda de fase interna devido à quebra da membrana pode ser avaliada, experimentalmente, pela adição de um componente à fase interna, denominado traçador, ao se preparar a emulsão primária. A presença desse componente na fase externa, ao final da permeação, indica a ocorrência de quebra da membrana. Este deve ser de fácil detecção analítica e não deve participar do processo de extração. A quebra pode ser quantificada pela seguinte expressão (SALUM, 1998):

$$\varepsilon = \frac{((C_{tr})_{FE} \cdot V_{FE})_t}{((C_{tr})_{FI} \cdot V_{FI})_{in.}} \quad (4.2)$$

em que  $(C_{tr})_{FE}$  e  $(C_{tr})_{FI}$ ;  $V_{FE}$  e  $V_{FI}$ ; e os índices t e in. referem-se, respectivamente, à concentração do traçador na fase externa e interna; ao volume da fase externa e interna; e ao tempo t e ao tempo inicial de permeação.

A estabilidade da emulsão está intimamente relacionada à concentração e ao tipo de surfatante utilizado. O surfatante tem a função de estabilizar a membrana como já

mencionado no item 4.2.1. Sua presença reduz causas de instabilidade, como deformação dos glóbulos, e coalescência das gotículas de fase interna e dos glóbulos de emulsão. No entanto, o aumento na viscosidade da membrana provocado pela sua presença pode levar a uma diminuição na taxa de transporte de soluto, conforme explicado no item 4.2.2, o que também deve ser avaliado (KINUGASA et al., 1992; SALUM, 1998).

#### *4.4.1.1. Osmose*

A osmose ocorre em emulsões do tipo A/O/A e refere-se ao inchamento ('swelling') dos glóbulos de emulsão durante a etapa de permeação, devido à transferência de água da fase externa para as gotículas de fase interna. A força-motriz responsável pela ocorrência do fenômeno é a pressão osmótica, provocada, principalmente, pela alta acidez ou basicidade da fase interna receptora, aliada a uma fase externa diluída e de baixa força iônica (LI, 1993; MANSUR, 1994; SALUM, 1998; WAN & ZHANG, 2002; YAN & PAL, 2001).

A osmose leva à quebra da membrana; mudança nas propriedades reológicas da emulsão, dificultando o transporte e a separação de fases; diluição do soluto que foi concentrado na fase interna; redução da força-motriz para a extração do soluto e diminuição da eficiência de separação (WAN & ZHANG, 2002; YAN & PAL, 2001).

Diferentes mecanismos são propostos para explicar o inchamento dos glóbulos nas MLS. São eles (SALUM, 1998; YAN & PAL, 2001):

- ♦ difusão molecular da água, a partir da fase externa aquosa para o interior das gotículas, devido a um gradiente de pressão osmótica (diferença de força iônica entre as duas fases);
- ♦ hidratação das moléculas de surfatante - as moléculas de água adsorvem-se na interface formando ligações de hidrogênio com os grupos polares da molécula de surfatante, sendo transportadas para o interior das gotículas;
- ♦ transporte de água auxiliado por micelas - o surfatante presente em elevadas concentrações pode formar micelas inversas encapsulando água da fase externa em seu interior;

- ♦ arraste e emulsificação de fase externa nos glóbulos de emulsão devido a um excesso de surfatante (oclusão da fase externa) - pode ocorrer o encapsulamento de fase externa dentro dos glóbulos de emulsão múltipla durante a sua formação no início da permeação, ou quando ocorre a coalescência dos mesmos no final da permeação.

O extratante, por ser uma substância polar interfacialmente ativa, também atua como acelerador osmótico, porém sua influência é bastante complexa e muitos pontos ainda continuam sem explicação. A osmose pode ocorrer através da interação dos grupos polares do extratante com a água ou pelo arraste dessa, no caso em que íons extraídos têm a água como um de seus ligantes. Acredita-se, também, na existência de uma sinergia do efeito das duas substâncias tensoativas presentes na membrana, o extratante e o surfatante (MANSUR, 1994).

O fenômeno de osmose é influenciado por um número muito grande de parâmetros, sendo que os mais importantes encontram-se listados na TABELA IV.3 .

TABELA IV.3 - Principais fatores que interferem no fenômeno osmótico.

Parâmetro	Conseqüência	Efeito*
Tempo de residência	relação linear	↑
Concentração de surfatante	Solubilização devido à formação de micelas Resistência à transferência de massa Viscosidade da fase membrana Hidratação Oclusão	↑
Concentração de extratante	Hidratação de grupos polares Moléculas de água atuando como ligantes Aceleração da transferência de massa	↑
Diferença de força iônica	Força-motriz física	↑
Número de carbonos do diluente	Viscosidade Transferência de massa dos solutos	↓
Tamanho dos glóbulos	Área interfacial disponível para a transferência de massa	↓
Temperatura	Complexação facilitada Diminuição da viscosidade Difusão facilitada	↑
pH	Interferência na força-motriz para a transferência de massa	↑

\* ↑ o aumento do parâmetro favorece a osmose; ↓ o decréscimo do parâmetro favorece a osmose.

Fonte: BART et al., 1992, adaptado.

Métodos diferentes podem ser utilizados para o cálculo da osmose, sendo o mais utilizado a variação relativa do volume de emulsão primária ( $\Delta V_{rel}$ ), que pode ser expresso por:

$$\Delta V_{rel} = \frac{(V_{EP.})_t - (V_{EP.})_{in.}}{(V_{EP.})_{in.}} \quad (4.3)$$

em que  $V_{EP.}$  é o volume da emulsão primária (fase membrana + fase interna) e os índices t e in. referem-se ao tempo de permeação t e ao tempo inicial.



#### **4.4.2. Permeação reversa do soluto**

A permeação reversa consiste no retorno, à fase externa, de um soluto já transferido dessa fase para a fase interna.

#### **4.4.3. Reprodutibilidade das emulsões**

A reprodutibilidade das emulsões é um fator de extrema importância no processo MLS. A distribuição do tamanho das gotículas da fase interna, em duas emulsões preparadas, pode ser significativamente diferente e isso vai depender de como as emulsões são preparadas. O uso de homogeneizadores na emulsificação veio sanar esse problema, permitindo, com isso, a reprodutibilidade dos experimentos (MIKUCKI, 1984).

A distribuição do tamanho afeta a área interfacial disponível para as reações de extração e de reextração, a estabilidade da emulsão, o movimento das gotículas da fase interna e a viscosidade da emulsão. E esses fatores afetam todo o processo de transferência de massa, e, por esse motivo, a não reprodutibilidade das emulsões implica não reprodutibilidade dos resultados experimentais.

#### **4.4.4. Seletividade do processo**

A seletividade é uma consideração chave em qualquer processo de separação. No mecanismo de transporte tipo I, a seletividade depende da habilidade do soluto se dissolver na fase membrana e a força-motriz depende da eficiência de conversão do soluto, por um determinado componente, no interior das gotículas. A seletividade no mecanismo de transporte tipo II é governada, principalmente, pelo extratante presente na fase membrana (PATNAIK, 1995).

#### **4.4.5. Efeitos de sólidos coloidais**

Sólidos coloidais estabilizam emulsões A/O e O/A. Porém, a presença desses sólidos pode causar dificuldades na quebra das emulsões A/O e causar instabilidades na membrana em emulsões O/A (MIKUCKI, 1984).

#### **4.4.6. Cinética de extração**

Problemas como a instabilidade da membrana e a osmose podem ser, parcialmente, superados ao se usar curtos tempos de contato. Contudo, longos tempos de contato podem ser necessários para se atingir uma eficiência de recuperação do produto satisfatória, caso a cinética de extração seja lenta. A escolha de um extratante que tenha uma cinética rápida é essencial para minimizar esses problemas (MIKUCKI, 1984).

### **4.5. Extração de Aminoácidos pela Técnica MLS**

O presente trabalho se fundamentou nos estudos realizados por Thien (1988), Thien et al. (1988), Hong & Yang (1994) e Juang & Wang (2002). Nesses trabalhos, foram avaliados os efeitos de vários parâmetros experimentais na separação da fenilalanina pela técnica MLS, e a eficiência de separação, caracterizada pelo percentual de extração, extensão da quebra e inchamento da membrana.

A extração de fenilalanina, no trabalho realizado por Thien (1988), foi efetuada através do mecanismo de contra-transporte, discutido no item 4.3, utilizando como extratante uma amina quaternária, o cloreto de trioctil metil amônio (Aliquat 336), a qual permite a extração desse aminoácido na sua forma aniônica. Nesse estudo, a emulsificação foi realizada à temperatura de 30 °C e a permeação a 25 °C. Como traçadores, foram utilizados os íons sódio e potássio na fase interna inicial. A determinação da concentração de fenilalanina foi feita através da espectrofotometria UV-Vis, e das concentrações de sódio e potássio por espectrofotometria de absorção atômica. A concentração de cloreto foi medida utilizando um eletrodo de cloreto (Orion Chloride Electrode). A composição das fases utilizada no sistema MLS encontra-se na TABELA IV.4.

TABELA IV.4 - Composição das fases no sistema MLS.

COMPOSIÇÃO DAS FASES	NÍVEIS
Fase Interna (70 mL)	2,0 mol/L KCl pH = 11, ajuste com KOH
Fase Membrana (100 mL)	92 mL 100 Neutral (solvente) 5 mL Decanol (co-surfatante) 4 mL Paradox 100 (surfatante) 1 mL Aliquat 336 (extratante)
Fase externa (700 mL)	Solução de L-fenilalanina 11,5 g/L pH = 11, ajuste com NaOH

Fonte: THIEN et. al. (1988)

Vários parâmetros operacionais que têm influência sobre a extração da Phe foram estudados, dentre eles ressalta-se a concentração inicial de cloreto na fase interna, a concentração de extratante na fase membrana e o tempo de permeação.

A concentração inicial de íon cloreto na fase interna é um importante parâmetro do processo, pois fornece a força-motriz para a extração de fenilalanina. Na FIGURA 4.10, é mostrada a variação da concentração de fenilalanina na fase externa com o tempo e, na FIGURA 4.11, a variação da concentração de fenilalanina na fase interna e da percentagem de inchamento da membrana, todos em função da concentração inicial de íons cloreto na fase interna.

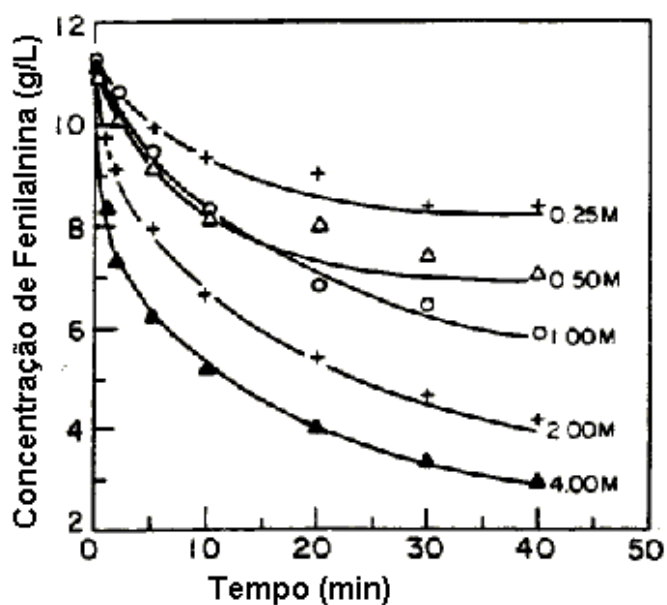


FIGURA 4.10 - Variação da concentração de fenilalanina na fase externa com o tempo para diferentes concentrações iniciais de cloreto na fase interna no processo de separação MLS. (Condições: FI (70 mL), pH = 11; FM (100 mL) 92 mL 100 Neutral; 5 mL Decanol; 4 mL Paradox 100 e 1 mL Aliquat 336; FE (700 mL) 11,5 g/L de Phe, pH = 11).  
Fonte: THIEN et al. (1988).

Pela FIGURA 4.10, observa-se que o fluxo inicial de soluto, proveniente da fase externa através da membrana, aumenta acentuadamente quando a concentração inicial de cloreto aumenta. Nota-se, também, que a extração é mais eficiente para concentrações iniciais de cloreto mais elevadas.

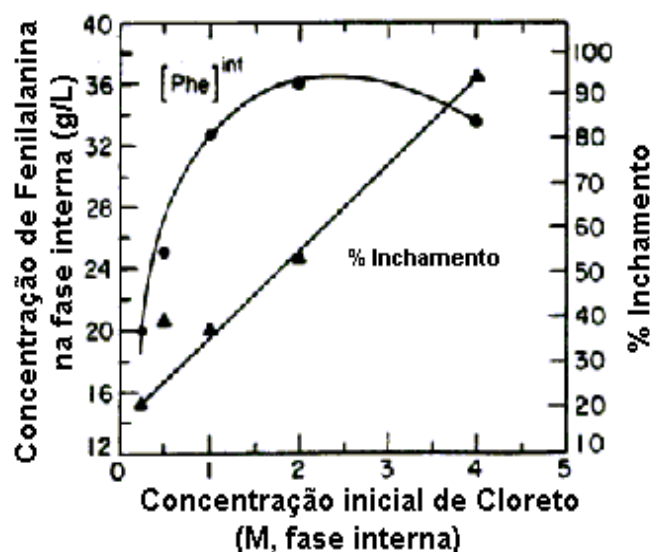


FIGURA 4.11 - Efeito da concentração inicial de cloreto na fase interna no inchamento da membrana e na concentração de fenilalanina na fase interna, para um tempo de permeação de 40 minutos. (Condições: FI (70 mL), pH = 11; FM (100 mL) 92 mL 100 Neutral; 5 mL Decanol; 4 mL Paranox 100 e 1 mL Aliquat 336; FE (700 mL) 11,5 g/L de Phe, pH = 11).  
Fonte: THIEN et al. (1988).

Pela FIGURA 4.11, verifica-se que o volume da fase interna aumenta com o aumento da concentração inicial do íon cloreto. Esse inchamento da membrana leva a uma diminuição da concentração de fenilalanina na fase interna, efeito esse contrário ao observado na FIGURA 4.10. Isso mostra a importância de se examinar, conjuntamente, as concentrações de soluto nas fases interna e externa. Após realizados os ensaios, Thien (1988) definiu como sendo 2 M a concentração ótima de KCl na fase interna.

O efeito da concentração de extratante sobre as concentrações de fenilalanina nas fases externa e interna foram avaliados e estão apresentados, respectivamente, nas FIGURAS 4.12 e 4.13. Nessa última figura é mostrado, também, o efeito da concentração de extratante no inchamento da membrana.

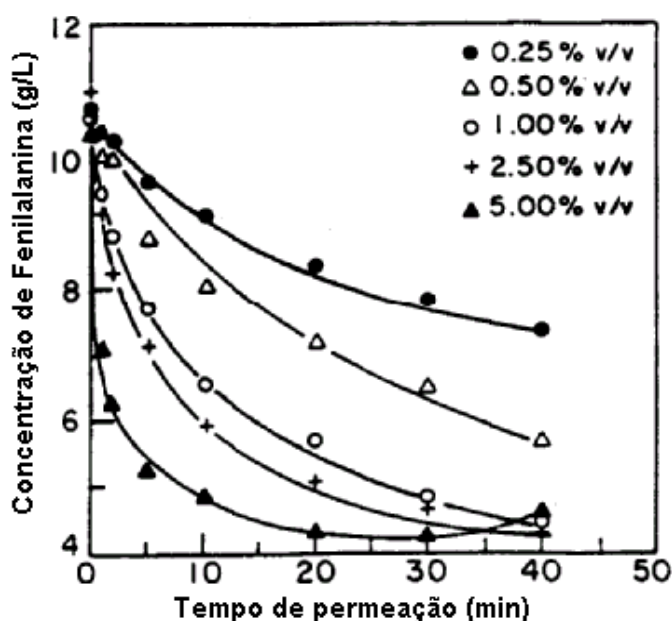


FIGURA 4.12 - Variação da concentração de fenilalanina da fase externa em função do tempo para diferentes concentrações de extratante. (Condições: FI (70 mL) 2,0 M KCl, pH = 11; FM (100 mL), 5 mL Decanol e 4 mL Paradox 100; FE (700 mL) 11,5 g/L de Phe, pH = 11).

Fonte: THIEN et al. (1988).

Pela FIGURA 4.12, verifica-se que, para um mesmo tempo de permeação, as extrações de soluto aumentam com a concentração de extratante, sendo as taxas de transporte mais elevadas no início da permeação devido à maior força-motriz. Esse efeito de maior extração do soluto, em um dado tempo, para maiores concentrações de extratante se deve a um aumento da formação do complexo extratante/soluto em virtude do aumento da quantidade de transportador disponível. Nota-se, também, que, para maiores quantidades de transportador disponível, são alcançados maiores percentuais de extração com menores tempos de permeação. No entanto, para as concentrações de extratante comparativamente mais elevadas (1,0; 2,5 e 5,0% v/v), para um tempo maior de permeação, da ordem de 40 minutos, as extrações de soluto alcançadas são praticamente iguais. Isto porque, a partir de uma determinada concentração de transportador, o aumento da concentração desse reagente só afetará o tempo de permeação para se alcançar a extração e não mais o nível de extração atingido. Passa a haver extratante suficiente para efetuar a extração.

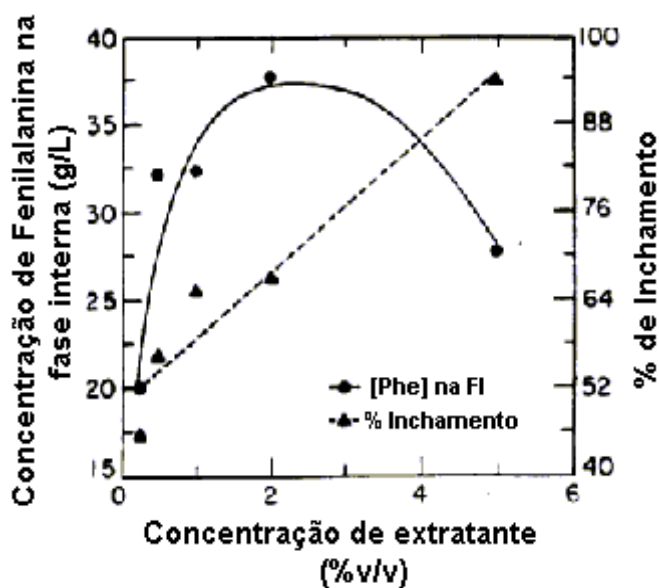


FIGURA 4.13 - Variação da concentração de fenilalanina na fase interna e da porcentagem de inchamento da membrana em função da concentração de extratante, para um tempo de permeação de 40 minutos (Condições: FI (70 mL) 2,0 M KCl, pH = 11; FM (100 mL), 5 mL Decanol e 4 mL Paradox 100; FE (700 mL) 11,5 g/L de Phe, pH = 11).

Fonte: THIEN et al. (1988).

Na FIGURA 4.13, observa-se que a porcentagem de inchamento da membrana aumenta linearmente com a concentração de extratante, pois esse reagente também apresenta um caráter ambifílico, favorecendo, portanto, o fenômeno osmótico. Além disso, observa-se, que, para concentrações de extratante superiores a 2%, há uma diminuição na concentração de fenilalanina na fase interna causada pelo inchamento da emulsão. No entanto, conforme já mencionado, na FIGURA 4.12 é mostrado que maiores concentrações de extratante levam a maiores extrações de fenilalanina. Portanto, para se avaliar o efeito da concentração de extratante na extração desse soluto deve-se, novamente, fazer uma análise conjunta dessas figuras, de modo a se estabelecer a melhor concentração a ser utilizada no processo. Após os ensaios, Thien definiu a concentração de extratante mais apropriada igual a 4% v/v, aproximadamente.

Na FIGURA 4.14, é mostrada a influência do tempo de permeação na quebra da membrana. Observa-se que a quebra da membrana aumenta com o tempo.

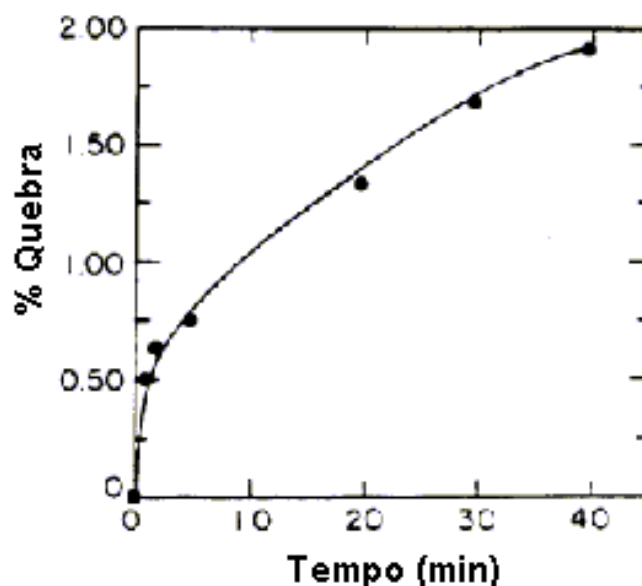


FIGURA 4.14 - Percentagem de quebra da membrana em função do tempo de permeação. (Condições: FI (70 mL) 2,0 M KCl, pH = 11; FM (100 mL), 5 % Decanol e 4% Paranox 100; FE (700 mL) 11,5 g/L de Phe, pH = 11).

Fonte: THIEN et al. (1988).

Essa quebra, normalmente, não excede 2% do volume da fase interna. Pode-se notar que uma significativa fração do total de quebra ocorre nos primeiros segundos de contato, o que é atribuído à quebra dos glóbulos de emulsão, no momento de sua formação.

THIEN (1988) estudou, também, outros parâmetros do processo que podem interferir na extração do soluto. Dentre eles cita-se o tipo e a concentração de surfatante, a razão fase membrana/fase interna e o efeito da velocidade de agitação.

Dois tipos de surfatante foram testados o Paranox 100 e o Span 80. Os resultados obtidos indicaram que ambos os surfatantes causavam um significativo transporte de água para a fase interna e que esse transporte aumentava com a concentração de



surfatante. Observou-se, entretanto, percentagens de extração de fenilalanina superiores com o surfatante Paranox 100. Esse fato foi atribuído à maior estabilidade da emulsão promovida por esse surfatante. Assim, optou-se, a partir da análise dos resultados, pelo Paranox 100 a uma concentração de, aproximadamente, 1% v/v.

Os experimentos realizados variando a razão de volumes fase membrana/fase interna indicaram que quanto menor era essa razão maior a transferência de massa, tanto de fenilalanina quanto de água, e menor a estabilidade da emulsão devido à menor espessura da membrana. A razão fase membrana/fase interna ótima definida por Thien (1988) foi de 10/7.

A velocidade de agitação na etapa de permeação, também, foi um parâmetro avaliado. Foram realizados experimentos variando a velocidade de 300 a 600 rpm. Os resultados obtidos indicaram que o aumento desse parâmetro favorecia a extração de fenilalanina, o transporte de água e a quebra dos glóbulos de emulsão. Segundo Thien (1988), o aumento da velocidade de agitação aumenta a área superficial e o contato entre o soluto e o transportador, favorecendo a transferência de massa. Cabe, no entanto, ressaltar que velocidades de agitação demasiadamente elevadas podem levar à quebra dos glóbulos.

Hong & Yang (1994) estudaram a extração de fenilalanina utilizando um derivado do ácido fosfórico (D2EHPA) como extratante. Esse transportador permite a extração do aminoácido em sua forma catiônica. As condições utilizadas nesse estudo encontram-se na TABELA IV.5.

TABELA IV.5 - Composição das fases no sistema MLS e parâmetros fixados.

<b>COMPOSIÇÃO DAS FASES</b>	<b>NÍVEIS</b>
Fase Interna	1,5 mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Fase Membrana	75% m/m S-60NR (solvente) 5% m/m Paradox 100 (surfatante) 20% m/m D2EHPA (extratante)
Fase externa	Solução de L-fenilalanina 35 g/L
<b>PARÂMETROS FIXADOS</b>	<b>NÍVEIS</b>
pH	2,5 - ajustado com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Emulsão Primária (A/O)	7:10
Emulsão Múltipla (A/O)/A	1:4
Temperatura	25°C
Velocidade de Agitação	300 rpm

Fonte: Hong & Yang (1994).

Nesse estudo, vários experimentos foram realizados, em um reator em batelada, utilizando as condições experimentais contidas na Tabela IV.4. Os resultados obtidos indicaram um tempo de permeação ótimo de 10 minutos, que levou a um percentual de extração de 70% e a um índice de enriquecimento da fase interna de aproximadamente 500%. Os resultados também mostraram a dependência do sistema com o pH da fase externa que, devido ao contra-transporte dos íons H<sup>+</sup>, cai de 2,5 para 1,7, após 40 minutos de permeação, diminuindo a eficiência de separação. Daí a necessidade da utilização de um tampão nessa fase ou da adição de uma solução de NaOH ao longo da permeação, para manter o pH constante. Ensaio, utilizando o mesmo sistema de extração, também foram realizados em um misturador contínuo em contracorrente, com três estágios, e em uma coluna em contracorrente. O percentual de extração em cada caso foi de, respectivamente, 77% e 58%, indicando ser o sistema em série mais eficiente na extração de fenilalanina. A possibilidade de reciclo da membrana também foi avaliada nesse estudo. Ensaio realizados indicaram que a membrana pôde ser reutilizada seis vezes sem perda de suas características físicas.

Juang & Wang (2002) compararam a separação de aminoácidos, a partir de uma solução binária, por extração por solvente e por membranas líquidas surfatantes, utilizando D2EHPA como extratante. Em ambas as técnicas de extração, é possível controlar a forma iônica sob a qual o aminoácido se apresenta, através do controle do pH e, dessa forma, promover a separação seletiva em sistemas binários. Os resultados obtidos indicaram ser viável a separação do sistema binário fenilalanina/ácido aspártico e inviável a separação do sistema fenilalanina/triptofano. Essa inviabilidade se deve à proximidade dos valores de pI (ponto isoeletrônico) para esses aminoácidos (vide item 3.1).

Nos estudos de Juang & Wang (2002) envolvendo a técnica MLS, a fase externa era constituída por uma solução de fenilalanina 0,012M, em pH 3 ajustado com sal de fosfato. A fase orgânica foi preparada com D2EHPA 0,6 M, Span 80 3% v/v, e querosene. A fase interna era uma solução de HCl. O efeito da concentração de HCl na permeação de fenilalanina foi avaliado. Os autores observaram que o aumento da concentração de HCl favorecia a extração da Phe, porém foi selecionado uma concentração de 1,6 M porque valores superiores levavam a elevadas porcentagens de quebra da emulsão. As velocidades de agitação utilizadas na emulsificação e na permeação foram, respectivamente, 4.000 e 250 rpm. Nesse trabalho, também foi avaliado o efeito das razões volumétricas das três fases (externa, membrana e interna) na permeação de Phe. Foi observado, primeiramente, que o grau de extração aumentava com a diminuição da razão fase orgânica/fase interna, mas começava a diminuir quando esta razão tornava-se muito pequena. Segundo os autores, uma menor razão volumétrica leva a membranas mais finas e, conseqüentemente, a maiores taxas de permeação; por outro lado, quando a razão é pequena demais, a quebra da emulsão compromete as taxas de extração. A melhor razão volumétrica fase orgânica / fase interna encontrada foi de 3/2. Para a razão volumétrica emulsão primária / fase externa, observou-se que o grau de extração de Phe aumentava com o aumento da razão volumétrica devido ao aumento da área interfacial (formação de mais glóbulos de emulsão primária). Os autores selecionaram uma razão ótima emulsão primária / fase externa igual a 1/4.

Estudos preliminares, realizados com o sistema fenilalanina-Adogen 464, foram desenvolvidos no Laboratório de Extração Líquido-Líquido/ Membranas Líquidas do Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais (ANDRADE et al., 2003). Para esse sistema, a extração se dá segundo um mecanismo de contra-transporte. Os parâmetros analisados foram o tempo de permeação e as concentrações de extratante, de surfatante e de modificador (co-surfatante). A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que a melhor composição da membrana era 5% de 1-decanol, 4% de surfatante ECA 4360, 1% de Adogen 464 e 90% de Exxsol D225/275, um querosene (todos percentuais em massa), para uma fase externa contendo 1,0 g/L de fenilalanina. Esse sistema, associado a um tempo de permeação de 5 minutos, proporcionou níveis de extração de fenilalanina acima de 85%; índice de enriquecimento da fase interna de 600%, equivalente a uma concentração de fenilalanina nessa fase de 6,0 g/L; quebra da membrana de 2%; e inchamento da fase interna de 55%. Além disso, através desse estudo, foi possível confirmar, em concordância com Shimidt (1971), que sistemas constituídos por aminas em diluente de baixa polaridade exigem adição de um álcool para melhorar a solubilização do extratante no diluente. Observou-se, ainda, que o surfatante, além de estabilizar a membrana, parece ter um papel semelhante ao do álcool no que tange a solubilização da amina no Escaid 110.

Conforme mostrado pelas pesquisas realizadas (Thien, 1988; Hong & Yang, 1994; Juang & Wang, 2002) pode-se utilizar extratantes catiônicos ou aniônicos. No presente trabalho, optou-se por empregar um extratante aniônico, o Adogen 464 (cloreto de metil-trialquil amônio), para dar seqüência aos estudos preliminares realizados por Andrade et al. (2003). Além disso, os resultados obtidos a partir desse estudo poderão ser comparados com os de um outro trabalho desenvolvido, em concomitância a este, no Laboratório de Extração Líquido-Líquido/ Membranas Líquidas do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Minas Gerais e que enfoca a extração de fenilalanina com um extratante catiônico, o D2EHPA.

Em virtude do estudo desenvolvido por Thien (1988) ser específico para a extração de fenilalanina, envolvendo a técnica MLS, com amina quaternária (no caso, Aliquat 336),

ele foi considerado a principal referência para a realização do presente trabalho. Sua pesquisa, contudo, mesmo envolvendo a avaliação de diversos parâmetros operacionais da técnica MLS, citados anteriormente, que influenciam a extração de fenilalanina a partir de um mosto fermentado, enfocou, principalmente, a modelagem matemática da extração desse aminoácido pela técnica MLS.

O trabalho aqui apresentado envolveu, além de uma análise do papel desempenhado por cada um dos componentes da fase membrana no sistema MLS baseada em um estudo mais aprofundado da etapa de emulsificação, a avaliação de diversos parâmetros operacionais na permeação (concentrações de surfatante e de extratante e estudo da reologia da fase membrana em função da sua mudança de composição; tempo e velocidade de agitação; razão volumétrica fase membrana/fase interna; razão volumétrica fase externa/emulsão primária; e concentração da solução de KCl na fase interna), e um estudo sobre o efeito, no processo, da utilização de uma fase membrana reciclada.

## 5. METODOLOGIA

A metodologia empregada para a realização do trabalho experimental foi dividida em quatro etapas principais:

- a primeira etapa refere-se à definição dos constituintes do sistema de extração e das variáveis operacionais a serem investigadas;
- a segunda corresponde à realização de ensaios descontínuos de emulsificação, que teve o intuito de avaliar o efeito do modificador, do extratante e do surfatante no tempo para coalescência das fases;
- a terceira etapa consistiu na realização de ensaios descontínuos de permeação, utilizando, como fase externa, uma solução sintética contendo apenas o aminoácido fenilalanina. Nessa etapa, foram avaliados alguns parâmetros considerados relevantes para o sistema Phe-Adogen 464, em questão, de modo a se obter elevadas extrações de fenilalanina associadas a uma alta estabilidade da membrana (vide item 5.1);
- a quarta etapa constituiu-se de ensaios descontínuos de permeação, a partir também de soluções sintéticas de fenilalanina, com membranas recicladas, a fim de se avaliar sua estabilidade e capacidade extrativa.

### 5.1. Definição do Sistema de Extração e das Variáveis Operacionais

A definição dos constituintes do sistema de extração foi baseada em dados da literatura (THIEN, 1988; THIEN et al., 1988; HONG & YANG, 1994; e JUANG & WANG, 2002) e em estudo preliminar realizado anteriormente (ANDRADE et al., 2003).

A primeira escolha realizada foi a dos constituintes das fases membrana e interna, a serem utilizadas para dar início à etapa 2 deste trabalho (ensaios de emulsificação). Conforme já descrito, a fase membrana é constituída por um surfatante, um extratante, um diluente e, em alguns casos, um modificador. A escolha do surfatante está relacionada à viscosidade, capacidade de estabilização do sistema de extração e, no caso do sistema A/O/A, ao carreamento de água que pode ocorrer em virtude da hidratação do surfatante na interface externa (fase membrana-fase externa). Os surfatantes utilizados na estabilização de emulsões do tipo A/O/A são, em geral, os que apresentam

HLB entre 3 e 8, destacando-se entre eles, o Span 80, um monooleato sorbitan, e o ECA 4360, uma poliamina (SALUM, 1998). Dos artigos revisados relativos à extração de Phe, alguns utilizam o Span 80 (JUANG & WANG, 2002; KINUGASA et al., 1992; LI & SHI, 1993; WAN & ZHANG, 2002), e outros o ECA 4360 (HONG & YANG, 1994; PICKERING & CHAUDHURI, 1997; THIEN, 1988), como surfatante. No presente trabalho, optou-se pelo uso do surfatante não-iônico ECA 4360. Isto porque o Span 80, apesar de muito empregado, promove um significativo transporte de água para a fase interna, prejudicando a extração (WAN & ZHANG, 2002). Já o ECA 4360, além de apresentar resultados satisfatórios em termos da estabilidade da membrana, não promove um transporte de água para a fase interna tão acentuado quanto o Span 80 (KONZEN, 2000).

A escolha do extratante está relacionada à seletividade, à solubilidade do complexo na fase membrana e ao tipo de mecanismo de complexação com o soluto a ser extraído. No trabalho realizado por Thien et al. (1988), foi utilizado como extratante uma amina quaternária, o Aliquat 336 (cloreto de trioctil metil amônio), e seus resultados mostraram-se promissores para a extração de fenilalanina pela técnica MLS. Trabalhos mais recentes (HONG & YANG, 1994; JUANG & WANG, 2002; TULASI & KUMAR, 1999) mostram que o D2EHPA (ácido di-2-etilhexil fosfórico) tem se apresentado como ótimo extratante para a extração de aminoácidos por apresentar estabilidade química, grande habilidade de complexação, solubilidade extremamente baixa em soluções aquosas ácidas e grande disponibilidade comercial. A comparação entre os trabalhos realizados com o extratante D2EHPA e Aliquat 336 mostraram que o sistema com o D2EHPA apresentou-se mais eficiente na separação de fenilalanina, porém foi necessário um maior número de estágios para promover o grau de separação desejado. Em vista disso, no presente trabalho, optou-se pela utilização de uma amina quaternária como extratante, o Adogen 464 (cloreto de metil-trialquil amônio), para que novos dados de comparação pudessem ser obtidos. Além disso, este trabalho se insere dentro de uma linha de pesquisa do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Minas Gerais e, conforme já dito, um outro estudo, utilizando o D2EHPA como extratante, esta sendo realizado pelo mesmo grupo de pesquisa, de modo a permitir um estudo comparativo entre os dois extratantes.

O diluente utilizado, constituinte necessário para solubilizar o extratante e o surfatante na fase membrana, foi o Escaid 110, um hidrocarboneto alifático de baixa polaridade. Segundo Kinugasa et al. (1992), hidrocarbonetos alifáticos fornecem membranas mais estáveis à ação de forças mecânicas do que hidrocarbonetos aromáticos, provavelmente devido à menor viscosidade apresentada por esses últimos. Além disso, a baixa polaridade do diluente não favorece a permeação de água através da fase membrana, efeito indesejável no processo MLS.

O agente modificador adotado, o álcool 1-decanol, foi adicionado com o intuito de melhorar a solubilização do sistema, uma vez que, sabe-se da literatura (SHIMIDT, 1971) que uma amina quaternária, como é o caso do Adogen 464, tem problemas de solubilidade em um solvente de baixa polaridade como o Escaid 110.

Na escolha dos reagentes da fase membrana foi avaliado, além dos aspectos acima discutidos, a toxicidade desses reagentes, uma vez que o produto a ser obtido será utilizado como fonte alimentar. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005), onde se encontra a legislação sobre os produtos alimentícios e farmacêuticos, não há nenhum impedimento para a utilização dos reagentes Adogen 464, Escaid 110 e 1-decanol para a extração de fenilalanina do hidrolisado protéico. Com relação ao surfatante, ECA 4360, nenhuma referência específica foi encontrada. Sabe-se, entretanto, que poliaminas apresentam baixa solubilidade em água. Esse fato, aliado aos trabalhos realizados por Hong & Yang (1994), Pickering & Chaudhuri (1997) e Thien (1988), que estudaram a extração de fenilalanina pela técnica MLS utilizando poliamina como surfatante, levaram à escolha desse reagente.

Como fase interna foi utilizada uma solução de KCl para manter a força-motriz do processo. Essa escolha foi embasada nos resultados obtidos por Thien et al. (1988) e Thien (1988), que utilizaram em seus estudos uma concentração de KCl de 2 mol/L. Nos ensaios de permeação realizados neste trabalho (etapa 3), contudo, essa concentração foi um parâmetro avaliado e a determinação do seu valor para os ensaios subsequentes estava associada a elevadas taxas de extração e a um baixo inchamento da fase interna.

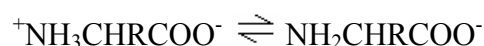


Para as etapas 3 e 4 deste trabalho (ensaios de permeação a partir de solução sintética de fenilalanina), era necessário definir a concentração de fenilalanina na fase externa a ser utilizada nos ensaios. Optou-se por soluções contendo 2,0 g/L dessa substância, concentração aproximada de Phe em uma solução de leite em pó destinada a consumo alimentício, conforme cálculos apresentados no Anexo AI desse trabalho.

O pH é uma variável de extrema importância no processo MLS, por afetar tanto a reação de extração do soluto na interface externa da membrana quanto a de reextração do mesmo na interface interna.

Nas etapas de permeação e de reciclagem da fase membrana (etapas 3 e 4, respectivamente), o pH da fase externa foi ajustado em 9,5 com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,1% m/m), pois as moléculas de aminoácido, em pH superior a 10, sofrem processo de racemização e, conforme explicado no item 3.1, apenas os L-aminoácidos compõem as proteínas. Em pH inferior a 10, insignificante racemização ocorre, exceto para a serina e o ácido aspártico. Adicionalmente, em valores de pH elevados, há prejuízos para a solução do ponto de vista nutricional devido à destruição progressiva de vários aminoácidos (Cis, Arg, Ter e Ser) e à formação de compostos indesejáveis (ARAÚJO, 1995).

Existe, também, um limite inferior para o pH da fase externa. Esse pH deve ser básico, a fim de que a fenilalanina, presente na fase externa, esteja preferencialmente na forma aniônica para se complexar com o extratante, uma amina quaternária, e, assim, poder ser transportada através da fase membrana em direção à fase interna. Conforme descrito no item 3.1 deste trabalho, moléculas de fenilalanina, em pH igual a 9,13, encontram-se nas formas aniônica e isoeletrica, em iguais proporções:



Durante o processo de extração, a concentração da espécie aniônica diminui na fase externa. Essa queda de concentração desloca a reação para a direita, no sentido de formar mais moléculas de fenilalanina na forma aniônica, ou seja, formar mais moléculas capazes de se complexar com o extratante.

De modo a permitir que o extratante Adogen 464 libere a fenilalanina na sua forma aniônica para o interior da fase interna, é necessário que o pH da fase interna também seja básico. Dessa forma, nos ensaios de permeação (etapas 3 e 4), o pH da fase interna foi ajustado em 9,5 com  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  (0,694 g/L). A escolha desse sal para o ajuste do pH da fase interna visava a quantificação da extensão de quebra da membrana (etapa 3), uma vez que o lítio é um elemento facilmente detectável por espectrofotometria de absorção atômica e a sua presença na fase externa, após a etapa de permeação, indica a existência de quebra da membrana, conforme explicado no item 4.4.1. Nos ensaios de emulsificação (etapa 2), o pH da fase interna foi também ajustado em 9,5 com  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  (0,694 g/L), para padronização dos experimentos. Ressalta-se que, devido a problemas nas determinações de lítio, foi avaliada a extensão da quebra apenas no estudo da influência da velocidade de agitação na etapa de permeação.

O sistema adotado nos ensaios descontínuos de emulsificação e permeação (emulsão múltipla A/O/A) é apresentado na TABELA V.1.

TABELA V.1- Sistema de extração utilizado nos ensaios realizados.

<b>Fases</b>	<b>Composição</b>
Externa	Solução de fenilalanina Solução de $\text{Na}_2\text{CO}_3$
Membrana	ECA 4360 (surfatante) Adogen 464 (extratante) Escaid 110 (diluyente) 1-decanol (modificador)
Interna	Solução de KCl Solução de $\text{Li}_2\text{CO}_3$

Com base na literatura revisada (HONG & YANG, 1994; JUANG & WANG, 2002; SALUM, 1998; THIEN et al., 1988) e em estudos preliminares realizados por Andrade et al. (2003), foi feito um levantamento das variáveis que podiam afetar o sistema em questão.

São elas:

- ♦ velocidade de agitação na emulsificação;
- ♦ tempo de agitação na emulsificação;
- ♦ razão volumétrica fase membrana / fase interna.
- ♦ concentração de surfatante;
- ♦ concentração de extratante;
- ♦ concentração de modificador;
- ♦ concentração inicial do soluto na fase externa;
- ♦ tempo de contato na etapa de permeação;
- ♦ velocidade de agitação na permeação;
- ♦ diferença de força iônica entre as fase externa e interna;
- ♦ temperatura;
- ♦ pH da fase externa;
- ♦ razão volumétrica fase externa / emulsão primária;

Neste trabalho, na etapa de emulsificação, foram avaliados os seguintes parâmetros, de modo a se determinar sua influência no tempo de quebra da emulsão primária:

- ♦ concentração de extratante;
- ♦ concentração de surfatante;
- ♦ concentração de modificador.

Os ensaios de emulsificação visam determinar condições que levem a uma emulsão suficientemente estável para a etapa de permeação, mas não tão estável a ponto de necessitar de tempos muito elevados para a desemulsificação.

Na etapa de permeação, foram reavaliados os parâmetros concentração de surfatante e de extratante, uma vez que eles afetam sensivelmente a estabilidade da emulsão primária e a permeação de espécies através da membrana, respectivamente. Além disso, foram também avaliadas, de forma a se estabelecer condições de operação que levem a uma significativa porcentagem de extração do soluto, aliada a um baixo inchamento da fase interna e a uma baixa quebra da membrana, as seguintes variáveis:

- ♦ tempo de permeação;
- ♦ velocidade de agitação;
- ♦ razão volumétrica fase membrana/fase interna;
- ♦ razão volumétrica fase externa/emulsão primária;
- ♦ concentração da solução de KCl na fase interna.

E, por fim, foi avaliada a reologia da fase membrana em função da sua mudança de composição, para se determinar a influência da viscosidade na permeação do soluto através da membrana.

A variável-resposta nos ensaios de emulsificação foi apenas o tempo para coalescência e, nos ensaios de permeação, foram: porcentagem de extração de fenilalanina, porcentagens de quebra e de inchamento da membrana e o índice de enriquecimento, descritos pelas equações (5.1) a (5.4).

$$\% \text{ Extração Phe} = \frac{[(M_{\text{Phe}})_{\text{in}} - (M_{\text{Phe}})_{\text{fin}}]_{\text{FE}}}{[(M_{\text{Phe}})_{\text{in}}]_{\text{FE}}} \cdot 100 = \frac{[(C_{\text{Phe}} \cdot V)_{\text{in}} - (C_{\text{Phe}} \cdot V)_{\text{fin}}]_{\text{FE}}}{[(C_{\text{Phe}} \cdot V)_{\text{in}}]_{\text{FE}}} \cdot 100 \quad (5.1)$$

$$\% \text{ Quebra da Membrana} = \frac{[(M_{\text{tr}})_{\text{fin}}]_{\text{FE}}}{[(M_{\text{tr}})_{\text{in}}]_{\text{FI}}} \cdot 100 = \frac{[(C_{\text{tr}} \cdot V)_{\text{fin}}]_{\text{FE}}}{[(C_{\text{tr}} \cdot V)_{\text{in}}]_{\text{FI}}} \cdot 100 \quad (5.2)$$

$$\% \text{ Inchamento} = \frac{(V_{\text{in}} - V_{\text{fin}})_{\text{FE}}}{(V_{\text{in}})_{\text{FE}}} \cdot 100 \quad (5.3)$$

$$\text{Índice de Enriquecimento} = \frac{[(C_{\text{Phe}})_{\text{fin}}]_{\text{FI}}}{[(C_{\text{Phe}})_{\text{in}}]_{\text{FE}}} \cdot 100 \quad (5.4)$$

em que,

$M_{\text{Phe}}$  = massa de Phe (g);

$M_{\text{tr}}$  = massa de traçador, no caso,  $\text{Li}^+$  ou  $\text{K}^+$ , (g);

$C_{\text{Phe}}$  = concentração de Phe (g/L);

$V$  = volume da fase(L).

Os índices  $V_{fin}$ ,  $V_{in}$ , FE e FI referem-se às condições finais, às condições iniciais, à fase externa e à fase interna, respectivamente.

É importante ressaltar, apesar de não ter sido o procedimento adotado neste trabalho, que alguns autores calculam a porcentagem de inchamento com base na variação de volume da fase interna, conforme indicado pela equação (5.5).

$$\% \text{ Inchamento} = \frac{(V_{fin} - V_{in})_{FI}}{(V_{in})_{FI}} \cdot 100 \quad (5.5)$$

## 5.2. Ensaio Descontínuo de Emulsificação

Inicialmente, a fase membrana foi preparada misturando-se o extratante Adogen 464, o surfatante ECA 4360, o diluente Escaid 110 e o modificador 1-decanol. Após o preparo, a fase membrana foi transferida para um vaso de emulsificação, no caso, um liquidificador, marca Walita modelo Firenze, com capacidade de 1,5 L. Só então, a agitação foi iniciada. Foi utilizada a velocidade correspondente à condição “panquecas/achocolados” que equivale a 13.000 rpm. A medida dessa velocidade foi feita utilizando-se um estroboscópio marca Phywe e um ophotacômetro TO – 606 Takotron. Em seguida, acrescentou-se lentamente a fase interna. O volume mínimo de emulsão a ser preparada para que o liquidificador promovesse uma agitação homogênea era de 200 mL, respeitando-se a proporção de volumes fase membrana/fase interna. A contactação das fases para obtenção da emulsão primária foi realizada, sob agitação vigorosa, e por um tempo pré-determinado, contado a partir do momento em que se começava a adicionar a fase interna. As variáveis estudadas e as fixadas nessa etapa (vide item 5.1) são mostradas na TABELA V.2, juntamente com os níveis em que foram avaliadas ou estabelecidas. As condições fixadas para os parâmetros velocidade e tempo de agitação foram escolhidas de acordo com estudo realizado por Salum (1998).

Terminado o ensaio, a emulsão primária foi levada ao coalescedor eletrostático para ser quebrada e o tempo gasto na coalescência foi registrado para que essa variável-resposta

fosse analisada. Na FIGURA 5.1, está representado um esquema ilustrativo do coalescedor eletrostático e suas partes principais.

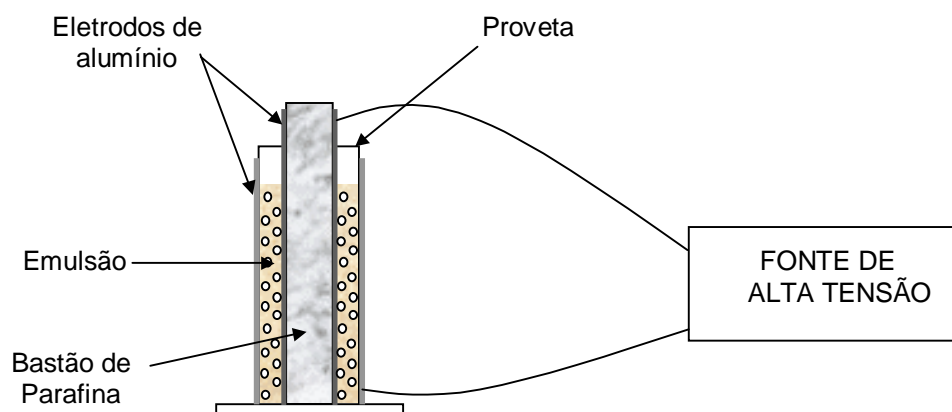


FIGURA 5.1 - Montagem do coalescedor eletrostático (perspectiva em corte).

Fonte: KONZEN (2000).

O coalescedor não permanecia continuamente ligado, e sim por períodos de 5 minutos. Após cada período de tempo, o coalescedor era desligado e movimentos verticais suaves eram realizados com a parte móvel desse equipamento (vide FIGURA 5.1), objetivando liberar as gotículas de fase interna aderidas à parede da proveta nele contida. Observava-se se tinha ou não havido coalescência das fases membrana e interna. No momento em que se verificava o término da coalescência, anotava-se o tempo gasto para a separação dessas fases, descontando-se os períodos em que o coalescedor permanecia desligado.

TABELA V.2- Parâmetros envolvidos nos ensaios de emulsificação e seus níveis.

<b>Parâmetros investigados</b>	<b>Níveis</b>
Concentração de extratante (% m/m)	2,0; 3,0; 5,0; 7,0
Concentração de surfatante (% m/m)	0,5; 1,0; 3,0; 5,0
Concentração de modificador (% m/m)	0,0; 3,0; 5,0; 7,0
<b>Parâmetros fixados</b>	<b>Níveis</b>
Velocidade de agitação (rpm)	13.000
Tempo de agitação (min)	5
pH da fase interna	9,5
Concentração de KCl na fase interna (mol/L)	2
Temperatura	Ambiente (em torno de 25° C)

Na FIGURA 5.2, é representada, de forma esquemática, a metodologia experimental adotada nos ensaios de emulsificação.

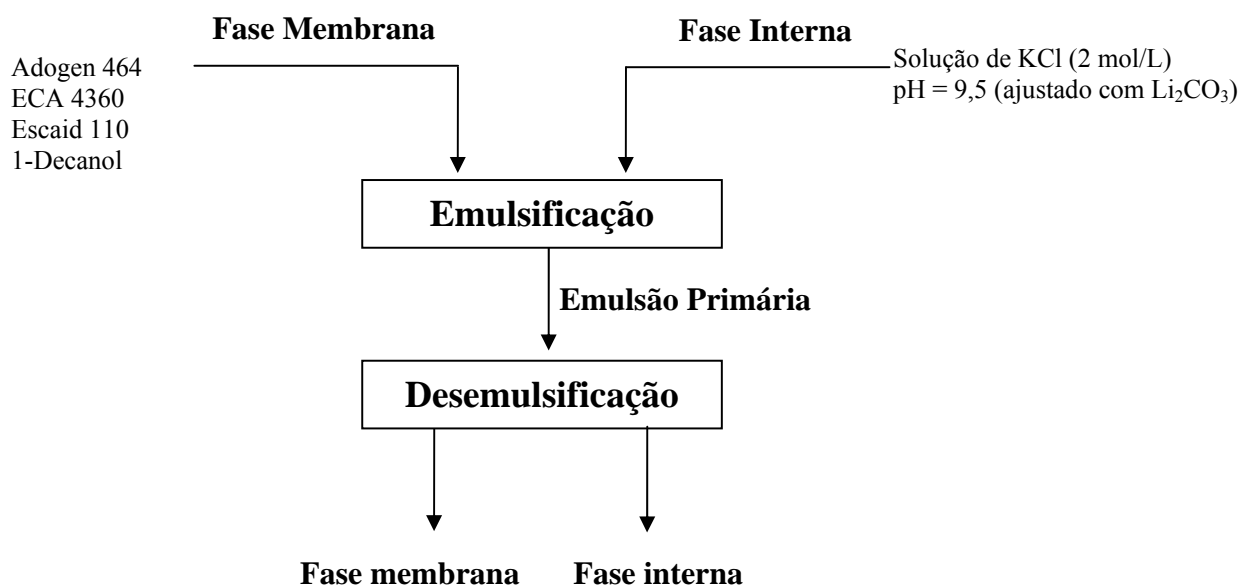


FIGURA 5.2 - Representação esquemática da metodologia adotada nos ensaios de emulsificação.

### 5.3. Ensaios Descontínuos de Permeação

Em um reator de acrílico, colocava-se a fase externa e, sob agitação moderada, adicionava-se a emulsão primária, preparada conforme explicado no item 5.2. O tempo de permeação, contado a partir do término da adição da emulsão primária à fase externa, e a razão dos volumes emulsão múltipla/fase externa variavam de acordo com o experimento. O somatório dos volumes da emulsão múltipla e da fase externa foi fixado em 240 mL, determinado com base nas características do reator e sistema de agitação.

Os parâmetros estudados nessa etapa (vide item 5.1) estão dispostos na TABELA V.3, juntamente com os níveis em que foram avaliados.

TABELA V.3- Parâmetros envolvidos nos ensaios de permeação e seus níveis.

<b>Parâmetros investigados</b>	<b>Níveis</b>
Concentração de surfatante (% m/m)	1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0
Concentração de extratante (% m/m)	1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0
Razão de volumes fase membrana / fase interna	1/1; 3/2; 2/1; 5/2; 3/1
Razão de volumes fase externa / emulsão primária	1/1; 2/1; 3/1; 4/1
Tempo de permeação (min)	1; 2; 3; 5; 10; 20; 30
Velocidade de agitação (rpm)	120; 180; 250; 320
Concentração da solução de KCl na fase interna (mol/L)	0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0
<b>Parâmetros fixados</b>	<b>Níveis</b>
pH das fases interna e externa	9,5
Concentração de Phe na fase externa (g/L)	2,0
Temperatura	Ambiente (em torno de 25° C)

Decorrido o tempo de permeação, a emulsão múltipla era transferida para um funil de separação de 500 mL, onde, por decantação, ocorria a separação da fase externa e emulsão primária. O volume obtido de fase externa era medido e dele coletado uma alíquota para determinação da concentração de fenilalanina remanescente e do traçador lítio, sendo este último avaliado apenas nos ensaios da influência da velocidade de agitação na permeação de Phe. A emulsão primária carregada era transferida para uma proveta de 250 mL e inserida no coalescedor eletrostático, onde era realizada a desemulsificação dessa emulsão. A frequência utilizada no coalescedor foi de 5 kHz, em todos os ensaios, associada a uma voltagem de 1.700 V e a uma corrente da ordem de miliampéres. Após a quebra da emulsão primária, as fases eram transferidas para um funil de separação de 250 mL para decantação, para posterior separação das fases interna e membrana. O volume obtido de fase interna era medido e dele coletado uma alíquota para determinação da fenilalanina extraída e, no caso da avaliação de quebra, da concentração de lítio.

Nas FIGURAS 5.3 e 5.4, são mostradas, de forma esquemática, a etapa de permeação e a metodologia experimental adotada, respectivamente.



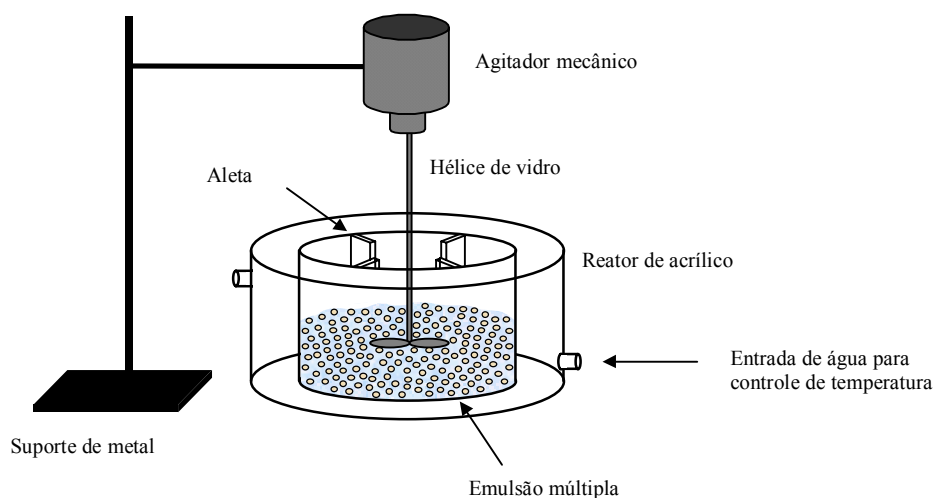


FIGURA 5.3 - Representação esquemática da etapa de permeação.

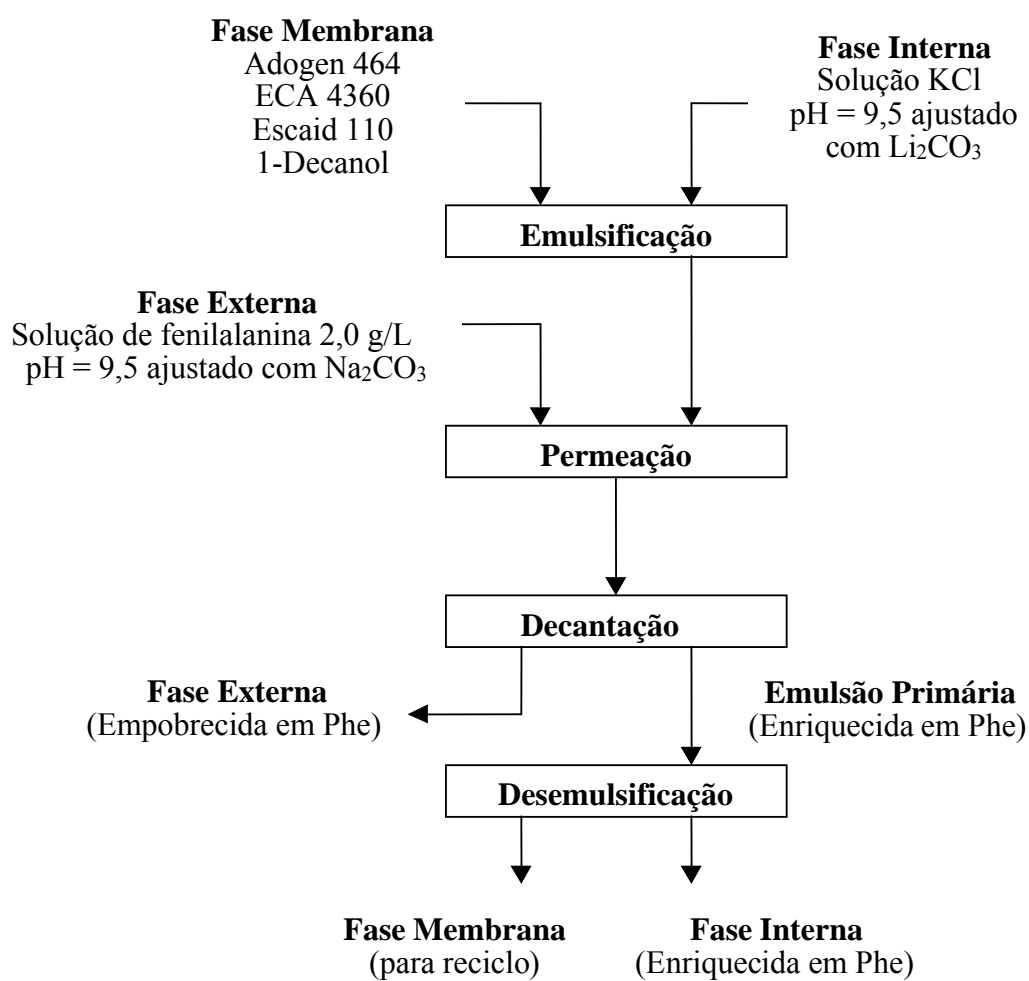


FIGURA 5.4 - Representação esquemática da metodologia adotada nos ensaios de permeação.

#### **5.4. Ensaios Descontínuos de Permeação Utilizando Membranas Recicladas**

Os ensaios, nessa etapa, foram realizados à temperatura ambiente e seguiram a metodologia descrita no item 5.3. Com as melhores condições para extração de Phe, determinadas nos estudos anteriores, foi realizado um ensaio completo de permeação. Ao final desse ensaio, foram realizados os cálculos de % de extração, % de inchamento e índice de enriquecimento, de acordo com as equações (5.1), (5.3) e (5.4), respectivamente. Esse ensaio foi, então, denominado ensaio padrão, pois os resultados de extração obtidos para a membrana virgem utilizada foram depois comparados com a membrana reciclada.

A fase membrana, após a extração no ensaio padrão, foi, então, submetida a uma série de permeações subseqüentes. Após cada ensaio, era feita a substituição das fases externa e interna por fases frescas, e efetuados os cálculos de % de extração, % de inchamento e índice de enriquecimento.

#### **5.5. Reagentes Utilizados**

Na preparação da fase externa, foram utilizados os seguintes reagentes:

- ♦ fenilalanina ( $C_9H_{11}NO_2$ ), 98,5% pureza (Vetec);
- ♦ carbonato de sódio, p.a. (Vetec Química Fina Ltda.).

Na preparação da fase interna, os reagentes utilizados foram:

- ♦ cloreto de potássio p. a. (Labsynth);
- ♦ carbonato de lítio p. a., 99% de pureza (QM Química Moderna);

A fase membrana era constituída pelos reagentes:

- ♦ poliamina ECA 4360 (Paramins), como surfatante, com densidade 0,9213 g/ mL, viscosidade 89,4 cP (97,0 cSt), a 100 °C, contendo 2,13 % em massa de nitrogênio (viscosidade da água a 20 °C = 1,006 cP);

- ♦ Escaid 110 (Exxon Chemicals Ltda.), como diluente, uma mistura de hidrocarbonetos alifáticos hidrogenados, com densidade (20/4° C) entre 0,786 e 0,815 g/mL e viscosidade (20/4° C) entre 1,10 a 1,63 cP (1,4 a 2,0 cSt);
- ♦ extratante Adogen 464, cloreto de metil-trialquil amônio, uma amina quaternária (Sherex Chemical Co.);
- ♦ modificador 1-decanol, C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>O (Merck-Schuchardt).

Todos os reagentes foram utilizados sem nenhum pré-tratamento, na forma como vieram de seus fabricantes.

## **5.6. Metodologia Analítica**

- ♦ As determinações analíticas de fenilalanina, nas fases externa e interna, nas etapas 3 e 4, foram realizadas por espectrofotometria na região do ultra-violeta (comprimento de onda = 257,5 nm), em equipamento UV-Vis – Hitachi – Modelo U 2001 e UV-Vis – Cecil – Modelo CE2041;
- ♦ As determinações analíticas de lítio (traçador), também nas duas fases, na etapa 3, foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica em equipamento CG AA 7000 SBC da CG Instrumentos Científicos Ltda..

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. Ensaio de emulsificação**

Os objetivos do estudo da emulsificação foram avaliar o efeito da concentração de extratante, surfatante e modificador sobre o tempo para coalescência da emulsão primária, na tentativa de identificar o efeito de cada um desses parâmetros e determinar níveis preliminares de concentração dos mesmos, que servissem de ponto de partida para os ensaios de permeação, mesmo sabendo que os níveis escolhidos, neste primeiro momento, poderiam ser modificados ao longo do estudo de permeação. Isto porque os parâmetros concentração de extratante e surfatante, na permeação, comprometem sensivelmente a taxa de transferência de massa e a estabilidade da membrana.

Na FIGURA 6.1, é mostrada a variação do tempo para coalescência em função da concentração de extratante, para diferentes concentrações de surfatante e modificador. No ANEXO AII (TABELA AII.1), são apresentados todos os ensaios de emulsificação realizados, juntamente com os resultados obtidos para a variável-resposta analisada, o tempo para coalescência.

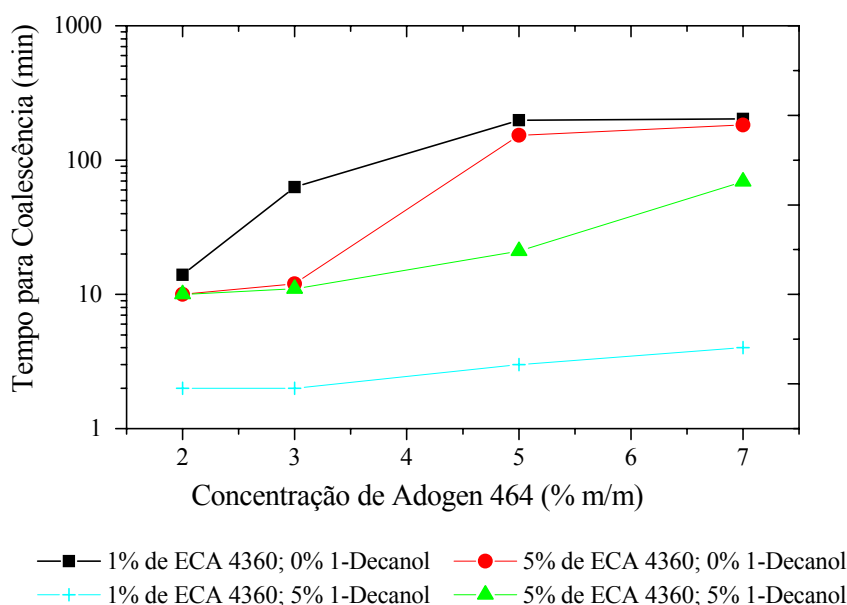


FIGURA 6.1 - Influência da concentração de extratante no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de surfatante e de modificador.

(Condições: velocidade agitação = 13.000 rpm, tempo de agitação = 5 min, FM/FI = 3/1, temperatura ambiente).

Analisando-se a FIGURA 6.1, observa-se que, com o aumento da concentração de extratante, há um aumento do tempo para coalescência para todos os níveis de surfatante e modificador. Porém, quando há a adição do modificador 1-decanol à fase membrana, há uma diminuição no tempo para coalescência em comparação aos tempos obtidos nos ensaios com membranas isentas desse componente.

Para explicar os resultados obtidos, é necessário se discutir o comportamento do extratante do tipo sal de amina quaternária, como o Adogen 464, em um diluente alifático de baixa polaridade, como o Escaid 110.

Sais quaternários de amônio apresentam certa polaridade, coexistindo as espécies molecular e iônica, com predominância de uma ou outra em função do pH de operação.

Por essa polaridade, esses sais encontram-se fortemente associados entre si em solventes de baixa polaridade e em solventes com uma fraca capacidade de solvatação.

Segundo Shimidt (1971), a solubilidade de um sal quaternário de amônio está intimamente relacionada ao seu grau de associação, que é determinado pela magnitude relativa das energias de interação molécula do sal/molécula do sal e molécula do sal/molécula do diluente. As forças que atuam entre duas moléculas do sal favorecem a sua associação e as forças que atuam entre a molécula e o meio (solvatação) evitam essa associação. Tem-se que as forças associadas entre duas moléculas do sal quaternário de amônio podem ser representadas por:

$$A = 2 \mu^4 / (3 r^6 K T) \quad (6.1)$$

Na equação (6.1),  $\mu$  é o momento de dipolo da molécula apolar,  $r$  a distância entre as moléculas,  $K$  a constante de Boltzmann,  $T$  a temperatura e  $A$  é a força entre duas moléculas do sal. Tem-se que quanto maior  $\mu$  e quanto menor  $T$ , maior a força de associação entre as moléculas. E quanto menor o tamanho da molécula, decorrente de um menor número de grupos alquila ligado ao nitrogênio ou de um menor comprimento da cadeia hidrocarbônica, ou de uma substituição de grupos alquila por grupos arila, menor a distância entre as moléculas e, portanto, maior a força de interação entre elas. Quanto à interação molécula do sal/diluente, que se contrapõe à associação das moléculas do sal quaternário de amônio, ela é dependente da polaridade do diluente. Tem-se que quanto maior a polaridade do diluente, maior o seu efeito de solvatação sobre o sal.

O sistema estudado, porém, não é composto apenas por uma fase orgânica. O sistema é uma emulsão, em que há uma fase aquosa (fase interna) dispersa em uma fase orgânica (fase membrana). Assim, o fato de a amina apresentar baixa solubilidade em diluente de baixa polaridade e ser de natureza ambifílica faz com que ela migre para a interface fase interna/fase membrana, onde a parte hidrofílica é solúvel em água e a parte hidrofóbica solúvel em compostos orgânicos. Este é, exatamente, o comportamento exibido por

surfatantes, ou seja, eles apresentam afinidade com cada uma das fases e têm a propriedade de migrar, adsorver e acumular na interface.

Devido a essas características do sistema amina, é comum o uso de pequenas quantidades de aditivos que alteram a solubilidade mútua dos líquidos (extratante e diluente), desde que ele seja solúvel em ambos. Nesse sentido, a solubilidade de sais de amina em solventes não polares ou em diluentes de baixa solvatação pode ser aumentada pela adição de uma substância que propicie a solvatação do sal de amina e que seja prontamente solúvel em um diluente como, por exemplo, substâncias com uma porção polar e com uma porção hidrocarbônica grande, como é o caso de álcoois de cadeia longa (SHIMIDT, 1971; EVANGELISTA JR., 2002). Por preencher esses requisitos, o 1-decanol foi o aditivo escolhido para este trabalho.

Com base no exposto acima, pode-se então, discutir com maiores detalhes os comportamentos observados na FIGURA 6.1.

A partir da análise de todas as curvas apresentadas na FIGURA 6.1, conclui-se que o aumento da concentração de extratante aumenta o tempo para coalescência devido ao papel semelhante ao do surfatante desempenhado pela amina quaternária, Adogen 464. Quando a amina desempenha esse papel, ela age em sinergia com o surfatante ECA 4360, aumentando ainda mais a estabilidade do sistema, e por consequência, o tempo para coalescência.

Ao se comparar as curvas 1% ECA 4360 com 0% 1-Decanol e 1% ECA 4360 com 5% 1-Decanol e as curvas 5% ECA 4360 com 0% 1-Decanol e 5% ECA 4360 com 5% 1-Decanol, observa-se uma queda no tempo para coalescência com a adição do álcool. Esse comportamento se deve, provavelmente, ao aumento da solubilidade do extratante na fase orgânica, o que implica em uma menor concentração deste componente na interface.

Comparando-se, agora, as curvas 1% ECA 4360 com 0% 1-Decanol e 5% ECA 4360 com 0% 1-Decanol verificou-se, ao contrário do que inicialmente se esperava, que

quanto maior a concentração de surfatante, ECA 4360, menor o tempo para coalescência. Esse efeito foi mais pronunciado até uma concentração de 5% m/m de Adogen 464. A partir daí, os tempos de coalescência são muito próximos. Uma das possíveis explicações para esses resultados pode estar relacionada a um efeito semelhante ao descrito na literatura para o álcool (SHIMIDT, 1971; EVANGELISTA JR., 2002). Sendo o surfatante uma molécula de caráter ambifílico, ou seja, uma molécula com uma parte polar e uma apolar, assim como o álcool, ele, apesar de não ter sido adicionado ao sistema com essa finalidade, pode ter melhorado a solubilidade mútua entre o extratante e o diluente. No entanto, a partir da concentração de 5% m/m, a concentração de surfatante torna-se insuficiente para melhorar a solubilidade entre extratante e diluente. Isto acarreta aumento da concentração de extratante na interface e, conseqüentemente, um aumento do tempo para coalescência, conforme explicado anteriormente.

O mesmo efeito não foi observado para o par de curvas 1% ECA 4360 com 5% 1-Decanol e 5% ECA 4360 com 5% 1-Decanol. Nesse caso, houve um aumento do tempo para coalescência com o aumento da concentração do surfatante, que era o resultado esperado. Atribui-se esse comportamento à presença do álcool. Ele, ao desempenhar o papel de melhorar a solubilidade mútua do extratante no diluente, permite que o surfatante fique liberado para exercer o seu papel de estabilização da membrana.

Na FIGURA 6.2, é mostrada a variação do tempo para coalescência em função da concentração de surfatante, para diferentes concentrações de extratante e de modificador.



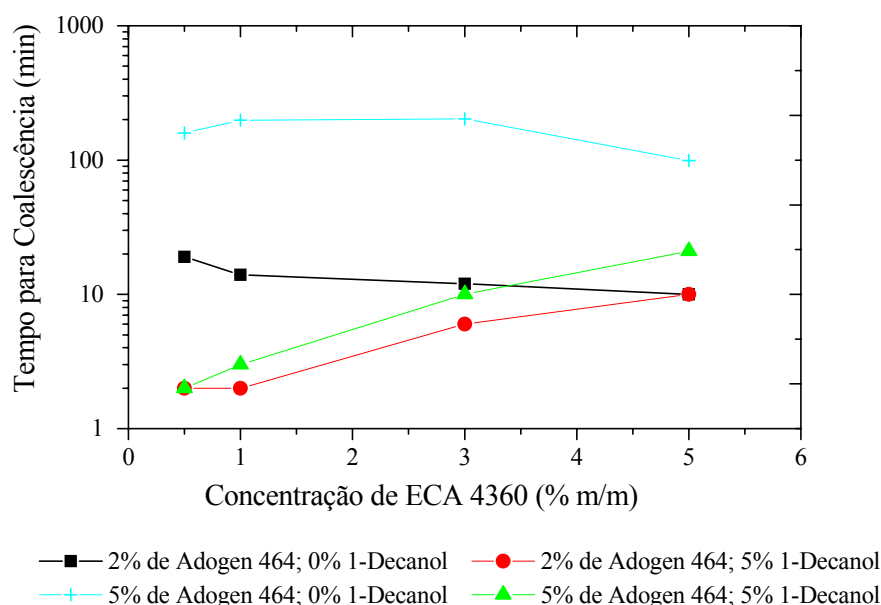


FIGURA 6.2 - Influência da concentração de surfatante no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de extratante e de modificador.

(Condições: velocidade agitação = 13.000 rpm, tempo de agitação = 5 min, FM/FI = 3/1, temperatura ambiente).

Avaliando-se a FIGURA 6.2, observam-se duas tendências diferentes. Nas membranas que não contêm álcool, curvas 2% Adogen 464 com 0% 1-Decanol e 5% Adogen 464 com 0% 1-Decanol, há uma redução no tempo para coalescência com o aumento da concentração de surfatante. Já nas membranas contendo álcool, curvas 2% Adogen 464 com 5% 1-Decanol e 5% Adogen 464 com 5% 1-Decanol, o aumento da concentração de ECA 4360 leva a um aumento do tempo para coalescência.

O efeito observado nas emulsões primárias em que a fase membrana não contém álcool pode ser explicado pelo comportamento do surfatante. Para uma mesma concentração de extratante, com o aumento da quantidade de surfatante, ocorre uma diminuição da estabilidade da membrana. Essa diminuição se deve, provavelmente, ao fato do surfatante, por possuir caráter ambifílico, poder contribuir para a melhoria da solvatação

do extratante no diluente, exercendo um efeito semelhante ao do álcool (agente modificador), conforme já explicado, porém em menor intensidade. Dessa forma, com o aumento da concentração de surfatante, haveria uma migração de parte do extratante e parte do surfatante para o interior da emulsão, implicando uma diminuição da quantidade desses reagentes na interface e, conseqüentemente, menor estabilidade da emulsão e menor tempo para coalescência. Ainda, para esses ensaios sem adição de álcool, foi observado que, quanto maior a concentração de extratante para uma mesma quantidade de surfatante, maior a estabilidade da emulsão, pois a atuação do surfatante na solvatação do extratante é a mesma, mas sobrarão mais extratante na interface para contribuir para a estabilização da emulsão.

Nas membranas em que o álcool foi adicionado, o intuito era melhorar a solvatação do Adogen 464 (amina quaternária) no diluente alifático, conforme explicado anteriormente. Conseqüentemente, com a adição do álcool, o surfatante fica, comparativamente com os experimentos sem o álcool, mais desimpedido para desempenhar o seu papel na interface de conferir maior estabilidade à emulsão. Desse modo, aumentando a concentração de surfatante, para uma dada concentração de extratante e de álcool, obtém-se uma membrana mais estável e, portanto, aumenta-se o tempo para coalescência da emulsão. Observa-se, ainda, que, para uma mesma concentração de surfatante e de álcool, há um aumento no tempo para coalescência com o aumento da concentração de extratante. Provavelmente porque, em concentrações mais elevadas de extratante, uma proporção maior desse reagente, comparativamente aos ensaios realizados em concentrações mais baixas, deve encontrar-se na interface, sendo um fator adicional para a estabilização da emulsão.

Comparando-se, agora, os ensaios realizados, com e sem a adição de álcool, com a mesma concentração de extratante, referentes aos dois pares de curvas: 2% Adogen 464 com 0% 1-decanol e 2% Adogen 464 com 5% 1-decanol; 5% Adogen 464 com 0% 1-decanol e 5% Adogen 464 com 5% 1-decanol, observa-se que, para um mesmo par, as curvas são convergentes. Para um dado par de curvas, na ausência de álcool, tem-se que o tempo para coalescência é maior que na presença desse reagente. Isto se dá, provavelmente, porque, no primeiro caso, o surfatante está presente na interface

juntamente com o extratante, apesar de parte deles migrar para o interior da emulsão, uma vez que o surfatante solvata parcialmente o extratante no diluente. Comparativamente, a emulsão na presença de álcool apresenta uma menor estabilidade. Nesse caso, apesar do surfatante estar em maior quantidade na interface, visto que o álcool é o responsável pela solvatação do extratante, esse último reagente deixa a interface. Conseqüentemente, a emulsão, ficará menos estável. Com o aumento da concentração de surfatante, nos ensaios com o álcool, uma quantidade cada vez maior desse reagente vai sobrando na interface, aumentando a estabilidade da membrana. Em contrapartida, nos ensaios sem o álcool, com o aumento da quantidade de surfatante, vai havendo uma melhoria da solvatação do extratante no diluente, retirando-o cada vez mais da interface e diminuindo a estabilidade da emulsão. As curvas vão, então, se aproximando, à medida que se aumenta a concentração de surfatante.

Na FIGURA 6.3, é mostrada a variação do tempo para coalescência em função da concentração de modificador, para diferentes concentrações de extratante e de surfatante.

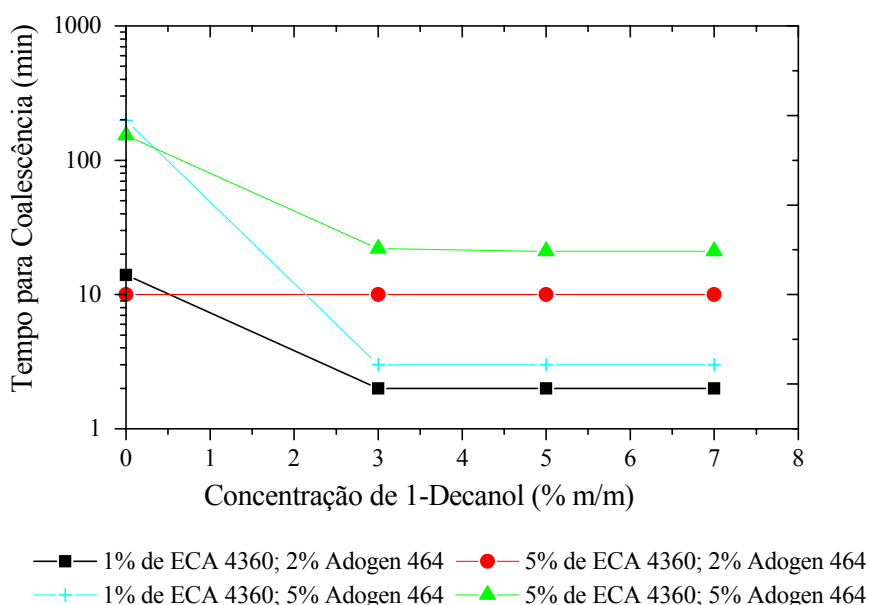


FIGURA 6.3 - Influência da concentração de modificador no tempo para coalescência das fases membrana e interna, para diferentes concentrações de surfatante e de extratante.

(Condições: velocidade agitação = 13.000 rpm, tempo de agitação = 5 min, FM/FI = 3/1, temperatura ambiente).

Ao se comparar as curvas 1% ECA 4360 com 5% Adogen 464 e 5% ECA 4360 com 5% Adogen 464 e as curvas 1% ECA 4360 com 2% Adogen 464 e 5% ECA 4360 com 2% Adogen 464, observa-se, primeiramente, que na ausência de álcool (primeiro ponto das curvas), o sistema que possui maior concentração de surfatante possui menor tempo para coalescência. Conforme já explicado, isto ocorre porque o surfatante, nessas condições, pode estar desempenhando papel semelhante ao do modificador. Em segundo lugar, observa-se que quando se adiciona álcool ao sistema (demais pontos das curvas), membranas que possuem maior concentração de surfatante são mais estáveis. Como o álcool tem a função de auxiliar na solvatação do extratante no diluente, nessas condições, o surfatante estará exercendo o seu principal papel, que é o de atuar na interface A/O, estabilizando-a.

Observa-se, ainda, pela FIGURA 6.3, que, para todas as curvas, com exceção da curva 5% ECA 4360 com 2% Adogen 464, o tempo para coalescência da emulsão primária diminui com o aumento da concentração de 1-decanol, até uma concentração de álcool igual a 3% m/m, a partir da qual, para todas as curvas, não há mais nenhuma variação no tempo para coalescência da emulsão. Como o álcool tem a propriedade de auxiliar a solvatação do Adogen 464 no diluente Escaid 110, acredita-se que, na sua presença, o extratante migre mais facilmente da interface para o interior da emulsão, deixando de auxiliar o surfatante na estabilização da interface, e diminuindo, assim, o tempo para coalescência. Provavelmente, concentrações de álcool iguais a 3% sejam suficientes para permitir a solvatação do extratante no diluente. Com relação à curva 5% ECA 4360 com 2% Adogen 464, tem-se que a quantidade de surfatante em relação à quantidade de extratante foi suficiente para permitir a solvatação do extratante no diluente e, simultaneamente, estabilizar a interface O/A, mesmo na ausência de álcool.

Em face do exposto, observa-se que a ordem de estabilidade das membranas, a partir de uma concentração de álcool de 3% é: 5% ECA 4360 com 5% Adogen 464 > 5% ECA 4360 com 2% Adogen 464 > 1% ECA 4360 com 5% Adogen 464 > 1% ECA 4360 com 2% Adogen 464. Sistemas que possuem concentração de surfatante igual a 5% m/m são mais estáveis que sistemas que possuem apenas 1% m/m de surfatante, para as duas concentrações de extratante investigadas. Além disso, observa-se que, em sistemas com mesma concentração de surfatante, quanto maior a concentração de extratante maior o tempo para coalescência, pelos motivos explicados anteriormente (atuação do extratante na estabilização da interface).

Cinco ensaios descontínuos de emulsificação adicionais foram realizados para confirmação dos papéis desempenhados pelo extratante, surfatante e álcool. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA VI.1.

Analisando-se, primeiramente, os dois experimentos iniciais realizados com fase membrana com as mesmas composições de surfatante e álcool, porém uma delas sem a presença de extratante, observa-se que o tempo para coalescência foi superior para a membrana contendo Adogen 464 (ensaio 1). Esse resultado vem corroborar a explicação

anteriormente apresentada com relação ao papel desempenhado por esse extratante. Acredita-se que essa amina quaternária, por ser uma molécula ambifílica, também atue na interface, juntamente com o surfatante ECA 4360, ajudando a estabilizar a emulsão, conforme resultados mostrados anteriormente. Obviamente, a presença do álcool leva a uma melhor solvatação do extratante no diluente, mas acredita-se que, mesmo assim, parte do Adogen 464 pode ficar na interface se a quantidade de álcool não for suficiente para retirá-lo de lá. Dessa forma, a membrana sem extratante será comparativamente menos estável.

TABELA VI.1 - Resultados dos ensaios finais de emulsificação \*.

<b>Experimento</b>	<b>% m/m ECA 4360</b>	<b>% m/m Adogen 464</b>	<b>% m/m 1-Decanol</b>	<b>% m/m Escaid 110</b>	<b>Tempo para coalescência (min)</b>
1	2	2	3	93	15
2	2	0	3	95	12
3	2	0	0	98	23
4	0	2	3	95	2
5	0	2	0	98	Coalesc.parcial**

\* Condições: velocidade agitação = 13.000 rpm, tempo de agitação = 5 min, FM/FI = 3/1, temperatura ambiente.

\*\*A emulsão primária ficou no coalescedor por um período de, aproximadamente, duas horas e meia. Após esse período, verificou-se que não houve coalescência total da emulsão. Maiores detalhes, vide explicação na seqüência.

Comparando-se, agora, os experimentos 2 e 3 (sistemas sem extratante), observa-se que a membrana que possui álcool tem uma menor estabilidade. O álcool de cadeia longa tem a propriedade de melhorar a solvatação, no diluente, de espécies que possuem caráter ambifílico. No experimento 2, o Adogen 464 (extratante) não está presente. Como o surfatante é uma molécula ambifílica, portanto, com características semelhantes às do extratante, acredita-se que ele também seja capaz de interagir com o álcool, solvatando-se parcialmente na fase orgânica. Com menos surfatante na interface, há uma redução no tempo para coalescência da emulsão primária.

Assim, tendo em vista os três primeiros experimentos, tem-se que o sistema mais estável é o que não possui álcool nem extratante, apenas surfatante (experimento 3), ou

seja, aquele em que todo o surfatante adicionado atua na interface, estabilizando a emulsão. Cabe, no entanto, ressaltar que, no processo MLS, não existe extração sem a presença de extratante, nem se evita a formação de terceira fase sem a adição de álcool. Portanto, os ensaios apresentados na TABELA VI.1 foram feitos na tentativa de se individualizar o efeito de cada um desses reagentes, para se compreender o seu impacto na estabilização da membrana.

No experimento 4, tem-se uma fase membrana composta apenas por extratante e pelo álcool. Nesse ensaio, a emulsão primária obtida mostrou-se altamente instável. Logo após a emulsificação, foi possível perceber a coalescência parcial das fases, mesmo antes de a emulsão ser levada ao coalescedor. Observou-se que a emulsão era quebrada pelo campo elétrico em, aproximadamente, 2 minutos. O álcool presente proporcionou a solvatação do extratante no diluente, promovendo o deslocamento total ou parcial das moléculas de extratante da interface fase aquosa / fase orgânica para o seio da fase orgânica, reduzindo, assim, a ação do extratante na estabilização da emulsão. Ressalta-se que, como o sistema, neste experimento, apresentou-se com uma instabilidade bem elevada, o mais adequado seria denominá-lo de dispersão em vez de emulsão.

Comparando-se o experimento 4 (extratante e álcool) com o experimento 2 (surfatante e álcool), observa-se que o tempo para coalescência é muito superior no ensaio 2, em que a emulsão apresenta uma certa estabilidade. Tem-se que a principal característica do surfatante é migrar para a interface de duas fases de naturezas opostas, atuando na mesma de modo a propiciar a redução da tensão interfacial e, assim possibilitando, caso haja a contactação efetiva dessas fases em condições adequadas, a formação de uma emulsão. No entanto, a presença do álcool pode promover uma solvatação parcial desse reagente no diluente, mas que ocorre em menor extensão do que para o extratante, possivelmente devido ao tamanho da molécula de surfatante e do tipo de grupamentos que a compõem.

No último ensaio (experimento 5), a fase membrana era constituída somente do extratante Adogen 464 (2% m/m) em Escaid 110. Foram realizados dois ensaios com essa membrana, porém adotando procedimentos diferentes para a quebra da emulsão. No primeiro ensaio, foram contactadas as fases interna e membrana. Depois de formada

a emulsão primária, ela era vertida para uma proveta, para que pudesse ser observada a separação de fases de forma espontânea. No segundo ensaio, realizado nas mesmas condições, a emulsão formada também era colocada em uma proveta, mas esta era levada ao coalescedor eletrostático, registrando-se o tempo para coalescência das fases. Os sistemas obtidos nos dois experimentos podem ser visualizados na FIGURA 6.4.

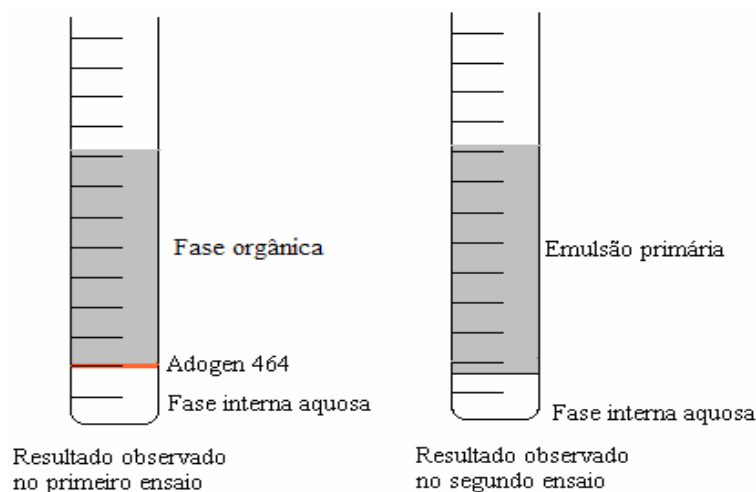


FIGURA 6.4 – Representação esquemática dos dois ensaios de quebra referentes ao experimento 5.

Observou-se, no primeiro ensaio, que, após aproximadamente 40 minutos, a emulsão primária coalescia completamente e que havia a formação de uma terceira fase intermediária, composta predominantemente por Adogen 464. Esse reagente, por ser uma amina quaternária, pode se apresentar na forma iônica e/ou molecular, o que faz com que possua baixa solubilidade em diluente alifático, favorecendo a formação de uma fase de densidade intermediária. No segundo ensaio, não foi observada a formação dessa fase intermediária. Verificou-se que cerca de 90% da emulsão formada se quebrava após 10 minutos no coalescedor eletrostático e, mesmo deixando esse equipamento ligado por mais duas horas seguidas, o restante da emulsão não coalescia. O volume de fase aquosa obtido após a coalescência era menor que o volume inicial dessa fase, indicando que a fase orgânica ainda continha gotículas de fase aquosa. E estas, visto a dificuldade para coalescerem, certamente eram bem pequenas, e provavelmente foram formadas por uma reemulsificação provocada pelo próprio campo elétrico. No coalescedor eletrostático, a emulsão primária ficou sob a ação de um campo



elétrico de alta intensidade, de elevada voltagem e de elevada frequência. Essa condição promove a vibração e a ruptura das gotículas aquosas que podem se dividir em gotículas menores, ou seja, pode provocar uma reemulsificação da emulsão. Esse efeito é favorecido, em detrimento da coalescência, pela baixa viscosidade da emulsão primária decorrente da pequena porcentagem de Adogen 464 e da ausência de surfatante. Este último, por suas características, estabilizaria o sistema de forma mais efetiva evitando a reemulsificação. O extratante, conforme já visto, também atua na interface, mas sua ação é mais acentuada, na presença do surfatante, por um efeito sinérgico na estabilização do sistema, sendo este efeito minimizado pela presença do álcool na fase orgânica, que, no sistema, tem a finalidade de retirar o extratante total ou parcialmente da interface por melhorar sua solvatação no diluente.

## **6.2. Ensaio de Permeação**

A realização dessa etapa experimental teve como meta inicial determinar o efeito dos parâmetros concentração de surfatante e extratante, razão fase membrana/fase interna, razão fase externa/emulsão primária, tempo de permeação, velocidade de agitação e concentração de KCl sobre o sistema MLS e, a partir dos dados obtidos, definir o nível de operação mais apropriado para cada variável.

### **6.2.1. Influência da concentração de surfatante**

O surfatante é um reagente que afeta não só a etapa de emulsificação (vide item 6.1), como também a etapa de permeação. A escolha da concentração de surfatante influi diretamente na extração de fenilalanina e na capacidade de concentração do processo, por afetar a estabilidade e viscosidade do sistema MLS e o inchamento da fase interna (vide item 4.2.1 e 4.2.2) (MIKUCKI, 1984; ROSEN, 1978; SANCTIS, 1999; SALUM, 1998).

Foram realizados cinco ensaios experimentais variando a concentração de ECA 4360 e, conseqüentemente, a concentração de Escaid 110, a fim de analisar a influência da concentração do surfatante ECA 4360 na extração de fenilalanina pelo processo MLS.

O tempo de permeação (5 minutos) e a temperatura (ambiente) escolhidos para a realização desses ensaios basearam-se em estudos anteriores realizados com sistema semelhante (ANDRADE *et al.*, 2003). Mais à frente é mostrada a influência do tempo para o sistema em questão. O mesmo procedimento foi adotado para as variáveis concentração de extratante, razão de volumes fase membrana/fase interna, razão de volumes fase externa/emulsão primária, concentração de KCl na fase interna e velocidade de agitação. A temperatura não foi um parâmetro avaliado.

Na figura 6.5, encontram-se os resultados da influência da concentração de surfatante na extração de fenilalanina presente inicialmente na fase externa e no inchamento da fase interna.

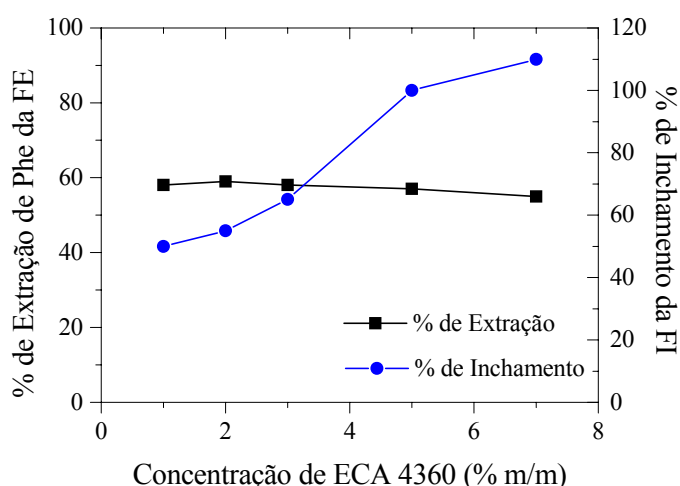


FIGURA 6.5 – Influência da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador, sobre a extração de fenilalanina da fase externa e sobre o inchamento da fase interna.

(Condições: concentração de extratante = 1% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 3:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Pela análise da FIGURA 6.5, observa-se que, no intervalo de concentração investigado, a extração de fenilalanina é praticamente constante, sofrendo uma leve influência da

concentração de surfatante, que resultou em um pequeno decréscimo na extração em concentrações mais elevadas. Este comportamento já foi observado nos trabalhos realizados por Mikucki (1984) e Salum (1998).

No trabalho realizado por Salum (1998), observou-se que, até 3% v/v ( $\approx 3,5\%$  m/m), havia um aumento na extração do soluto com o aumento da concentração de surfatante, o que não foi observado no trabalho em questão, conforme pode ser visto pela FIGURA 6.5. Esse aumento inicial esperado pode ser atribuído, principalmente, à estabilidade da membrana. Conforme explicado no item 4.2.1, quando dois líquidos puros são misturados com o intuito de formar uma dispersão, há um aumento acentuado da área interfacial entre eles, o que resulta em uma energia livre interfacial do sistema muito mais elevada. Dessa forma, a condição de energia interfacial mínima ocorre com a coalescência das gotículas da fase dispersa, ou seja, a emulsão é instável. A presença de um agente emulsificante promove a estabilização dessa emulsão pela diminuição da tensão interfacial e aumento da viscosidade da emulsão. Apesar da presença do surfatante ser condição necessária para a estabilidade da emulsão, a coalescência ocorre até que a quantidade de surfatante seja capaz de estabilizar todas as gotículas da fase interna. Com essa concentração de surfatante, a emulsão atinge uma estabilidade máxima, para as dadas condições de dispersão. Além disso, à medida que se aumenta a concentração desse reagente, ocorre a redução do diâmetro das gotículas de fase interna, o que acarreta um aumento da área interfacial interna. Conseqüentemente, é maior a transferência de massa do soluto (Phe) para a fase interna. Mas, salienta-se que a partir do momento em que se atinge essa estabilização não mais ocorre a redução no tamanho das gotículas de fase interna (SALUM, 1998).

No presente trabalho, não foi observado o aumento na extração de soluto com o aumento da concentração de surfatante discutido anteriormente, provavelmente porque, na concentração de 1% m/m de surfatante, a emulsão já se apresentava estável. Atribuiu-se o deslocamento da região de estabilidade para concentrações de surfatante mais baixas que as encontradas por Salum (1998) e outros pesquisadores (CARVALHO, 2006; KONZEN, 2000;) ao fato de o Adogen 464, por ser um extratante de difícil

solvatação em diluente alifático, ter uma tendência em migrar para a interface e atuar, juntamente com o ECA 4360, na estabilidade da emulsão.

Com relação ao efeito observado de diminuição do percentual de soluto extraído em concentrações mais elevadas de surfatante, pode-se dizer que ele é decorrente do aumento da resistência interfacial à reação química pela ocupação da interface pelo surfatante, e do aumento da viscosidade da membrana. Viscosidades mais elevadas dificultam a dispersão da emulsão primária na fase externa tornando os glóbulos de emulsão maiores, o que leva a uma redução na área interfacial externa. Além disso, conforme discutido no item 4.2.2, a viscosidade da membrana pode reduzir as taxas de extração de fenilalanina por afetar as taxas de difusividade, tanto do transportador quanto do complexo soluto-transportador dentro da fase membrana, e por aumentar a distância média (maior espessura efetiva da fase membrana) através da qual o complexo deve se difundir para alcançar as gotículas de fase externa (MIKUCKI, 1984). Na FIGURA 6.6, é mostrado o efeito da concentração de surfatante na viscosidade da fase membrana para o sistema em estudo. Observa-se que, realmente, há um aumento da viscosidade com o aumento da concentração de ECA 4360, conforme esperado, e que esse aumento é mais acentuado a partir de uma concentração de 3% m/m de surfatante.

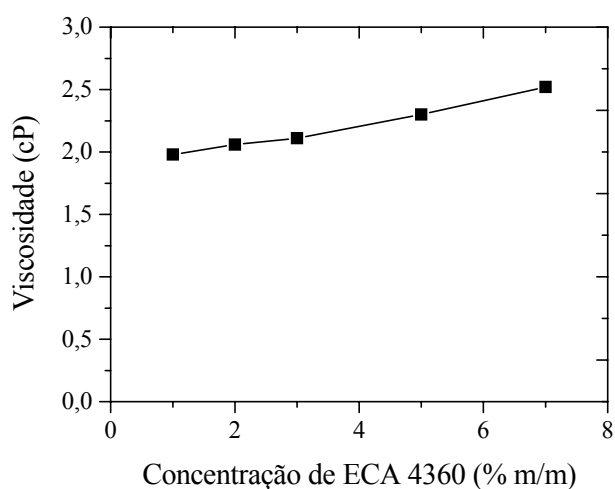


FIGURA 6.6 – Influência da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador, sobre a viscosidade da fase membrana.

(Condições: concentração de extratante = 1% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, temperatura ambiente).

Na FIGURA 6.7, é mostrada novamente a influência da concentração de surfatante na % de inchamento da fase membrana, mas agora conjuntamente com o efeito no índice de enriquecimento dessa fase.

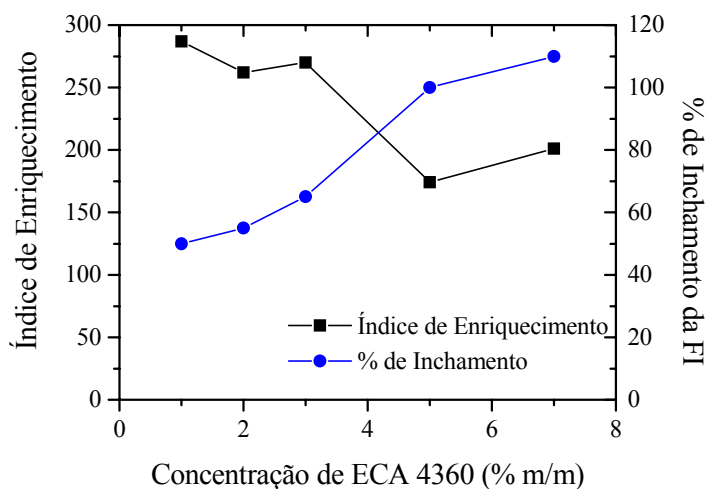


FIGURA 6.7 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da concentração de surfatante ECA 4360, na presença de modificador.

(Condições: concentração de extratante = 1% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 3:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Com relação ao inchamento da fase interna, pode-se verificar, de acordo com a FIGURA 6.7, que o aumento da concentração de surfatante leva a um aumento da percentagem de inchamento, sendo que esse inchamento tem um aumento acentuado, quando se passa de uma concentração de surfatante de 3 para 5% m/m, permanecendo em um patamar elevado quando se trabalha com 7% m/m desse reagente, porém sem uma variação significativa de 5 para 7%.

Conforme explicado no item 4.4.1.1, o transporte de água da fase externa aquosa para o interior das gotículas, com o aumento da concentração de surfatante, pode ocorrer devido à hidratação das moléculas desse reagente, ao arraste e emulsificação da fase externa nos glóbulos de emulsão (oclusão da fase externa) e, em concentrações mais elevadas, ao transporte de água auxiliado por micelas inversas de surfatante que encapsulam as moléculas de água (BART et al., 1992; SALUM, 1998; YAN & PAL,

2001). No entanto, cabe ressaltar que esse efeito de transporte de água pelo surfatante pode ser contrabalançado pelo aumento da viscosidade da fase membrana (vide FIGURA 6.6), levando à relativa estabilidade observada nas concentrações mais elevadas de surfatante.

Na FIGURA 6.7, é mostrada a curva do índice de enriquecimento da fenilalanina na fase interna e do percentual de inchamento dessa fase em função da concentração de surfatante. Observa-se que o comportamento do inchamento da fase interna reflete diretamente no índice de enriquecimento da fase interna. O fenômeno osmótico leva à diluição do soluto previamente concentrado na fase interna, provocando, conseqüentemente, uma diminuição no índice de enriquecimento. A queda acentuada observada no valor desse parâmetro, ao passar de concentração de 3% para 5% m/m de ECA 4360, é decorrente do aumento na % de inchamento encontrado.

Com base no exposto, observa-se que a concentração de surfatante igual a 1% poderia ser a escolhida para dar seqüência ao estudo proposto, pelo fato de que, nessa concentração, o sistema parece já possuir estabilidade suficiente para alcançar os maiores níveis de extração, além da fase membrana ser menos viscosa e os resultados mostrarem um menor inchamento e um maior índice de enriquecimento da fase interna. No entanto, nesse momento do trabalho, os parâmetros razão fase membrana/fase interna e razão fase externa/emulsão primária ainda não haviam sido avaliados. E sabe-se que, no sistema MLS, é desejável que se trabalhe com elevadas razões de fase para se obter concentrações mais elevadas de soluto na fase interna e para se tratar maiores volumes de licor com menores quantidades de fase orgânica. Como concentrações muito baixas de surfatante associadas a elevadas relações de fase podem levar a membranas muito finas, portanto, de baixa estabilidade, acreditava-se que a utilização da concentração de surfatante de 2% m/m para realização dos ensaios subseqüentes seria mais adequada. No entanto, decidiu-se avaliar a influência da concentração de extratante, próxima variável investigada, não só para essa concentração de ECA 4360 como também para a concentração de 1% m/m, em virtude da influência conjunta que essas duas variáveis poderiam apresentar no percentual de extração da Phe inicialmente presente na fase externa.

### 6.2.2. Influência da concentração de extratante

O extratante, conforme explicado no item 4.2.2, é o reagente responsável pelo transporte da fenilalanina da fase externa para a fase interna. O efeito da concentração de extratante sobre a extração de fenilalanina presente na fase externa, utilizando-se 1 e 2% m/m de ECA 4360, é apresentado na FIGURA 6.8.

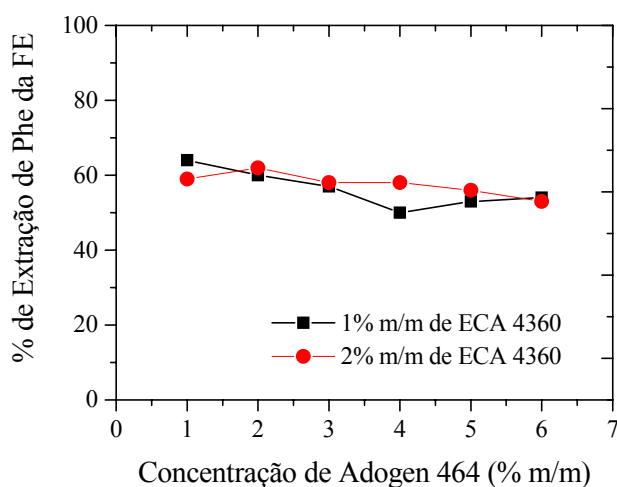


FIGURA 6.8 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre a extração de fenilalanina da fase externa para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 3:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Pela análise da FIGURA 6.8, observa-se que o comportamento apresentado pelas curvas de extração de fenilalanina, para 1 e 2% m/m de ECA 4360, é muito semelhante. Encontram-se em torno de 60% para concentrações de extratante iguais a 1 e 2% m/m, decrescendo ligeiramente, a partir daí, com o aumento da concentração de extratante.

A relação entre a eficiência de extração e a concentração de extratante na membrana reside no fato da cinética da reação que ocorre entre o soluto e o transportador, nas



interfaces da membrana, ser influenciada pela disponibilidade de transportador na fase orgânica. Como a etapa controladora do processo MLS é, normalmente, a difusão do complexo na membrana, o efeito da cinética de extração sobre a eficiência de separação só se torna evidente quando não há quantidade suficiente de extratante na interface fase externa/fase membrana para promover a retirada de soluto dessa fase, e o prosseguimento da reação passa a ser dependente do retorno do transportador (extratante) para essa interface. Dessa forma, a cinética da reação e, conseqüentemente, a extração são favorecidas pelo aumento da concentração do transportador somente enquanto a quantidade de extratante na interface fase externa/fase membrana for insuficiente para efetuar a complexação do soluto presente na fase externa. E essa situação não foi verificada nas condições estudadas. Pela FIGURA 6.8, observa-se que os maiores níveis de extração já foram alcançados para a concentração de extratante de 1% m/m, certamente porque o soluto encontra-se em baixa concentração na fase externa (2 g/L).

Com relação ao ligeiro decréscimo apresentado nas taxas de extração, a partir da concentração de extratante igual a 2-3%, pode-se dizer que o mesmo esteja associado ao próprio mecanismo de permeação do soluto. O Adogen 464, presente na fase membrana, difunde-se através dessa fase, em direção à interface fase externa/fase membrana, para reagir com o íon  $\text{Phe}^-$ , formando, nessa interface, o complexo aminoácido-extratante, conforme explicado no item 4.3. No momento em que essa interface se satura de extratante, a adição de mais reagente não propicia um aumento na percentagem de extração. Sabe-se, entretanto, que ela leva a um aumento da viscosidade da fase membrana, o que prejudica a extração por afetar a dispersão da emulsão primária na fase externa, tornando os glóbulos de emulsão maiores. Além disso, as taxas de difusão do transportador e do complexo soluto-transportador dentro da fase membrana ficam comprometidas, e há um aumento da distância média (maior espessura efetiva da fase membrana) através da qual o complexo deve se difundir para alcançar as gotículas de fase externa (conforme já discutido nos resultados obtidos pela influência da concentração de surfatante) (MIKUCKI, 1984).

Na FIGURA 6.9, é mostrado o efeito da concentração de extratante na viscosidade da fase membrana, para uma concentração de surfatante igual a 1 e 2% m/m. Observa-se que, conforme esperado, há um aumento da viscosidade com o aumento da concentração de Adogen 464, sendo as viscosidades para 2% m/m de ECA 4360 muito próximas às de 1% m/m, sendo ligeiramente superiores. Correlacionando os dados de viscosidade com os percentuais de extração para diferentes concentrações de extratante, verifica-se que o aumento da viscosidade leva a uma diminuição do percentual de extração pelos motivos discutidos anteriormente. Cabe, ainda, ressaltar que, em virtude desse aumento de viscosidade não ser elevado, a diminuição no percentual de extração com o aumento do percentual de Adogen 464 é pouco significativo. Observa-se também que a pequena diferença existente entre os valores de viscosidade observados para as concentrações de surfatante não se traduziram em diferenças significativas para os percentuais de extração.

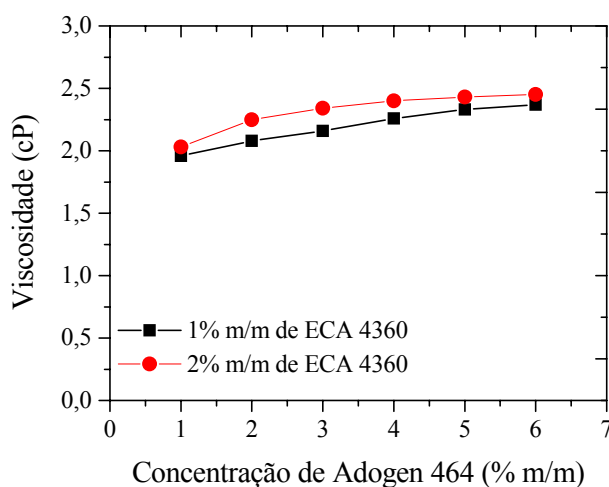


FIGURA 6.9 – Influência da concentração do extratante Adogen 464, na presença de modificador, sobre a viscosidade da fase membrana, para uma concentração de surfatante igual a 1 e 2% m/m. (Condições: concentração de 1-Decanol = 3% m/m, temperatura ambiente).

O efeito da concentração de extratante sobre o inchamento da fase interna e o índice de enriquecimento dessa fase, utilizando-se 1 e 2% m/m de ECA 4360, é apresentado nas FIGURAS 6.10 e 6.11, respectivamente.

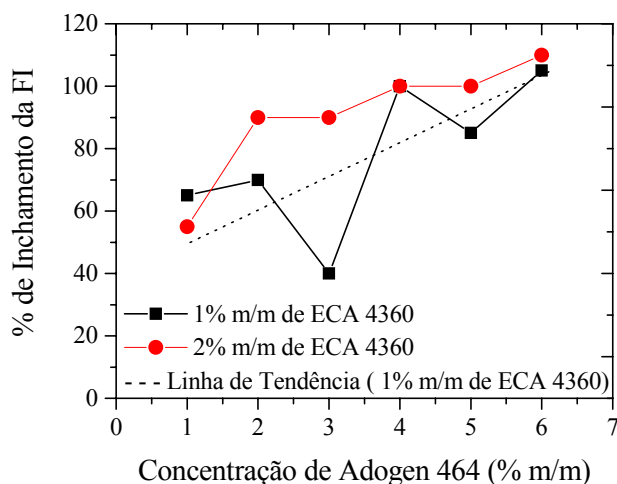


FIGURA 6.10 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre a porcentagem de inchamento da fase interna para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de 1-Decanol = 3% m/m, razão de volumes FM/FI = 3:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

No que concerne ao inchamento (FIGURA 6.10), observa-se que este cresce com o aumento da concentração de extratante, mas não substancialmente. Esse comportamento já era esperado. Sendo o extratante uma molécula ambifílica, quando presente em maior quantidade, passa a carregar, além do soluto, água da fase externa para a fase interna, acarretando, dessa forma, em um aumento do inchamento da membrana (SALUM, 1998; YAN & PAL, 2001). No entanto, esse efeito de transporte de água pelo extratante, assim como para elevadas concentrações de surfatante, pode ser contrabalançado total ou parcialmente pelo aumento da viscosidade da fase membrana (vide FIGURA 6.9).

Observa-se, ainda, que a curva com concentração de surfatante igual a 2% apresentou inchamento um pouco superior à curva com 1 % de ECA 4360. Conforme explicado no item 6.2.1, o surfatante favorece a osmose pela hidratação das moléculas desse reagente, pelo encapsulamento de fase externa pelos glóbulos de emulsão, podendo até, em concentrações mais elevadas de surfatante, promover o transporte de água por micelas inversas de surfatante (BART et al., 1992; SALUM, 1998; YAN & PAL, 2001).

É válido ressaltar que, na curva em que a fase membrana é composta por 1% m/m de surfatante, há pontos que apresentam comportamento discrepante do esperado, devido, possivelmente, a erros experimentais, uma vez que o percentual de inchamento é afetado por pequenas variações na leitura dos volumes finais de fase externa. Nesse caso, optou-se por traçar uma curva de tendência, que representa um valor médio da distribuição desses pontos, indicado pela linha pontilhada na FIGURA 6.10. Essa curva indica que a porcentagem de inchamento aumenta com a concentração de surfatante e que este percentual é inferior à curva com 2% m/m de ECA 4360.

Com relação ao índice de enriquecimento apresentado na FIGURA 6.11, observa-se que ele diminui, para ambas as curvas, com o aumento da concentração de extratante. Essa queda está relacionada, conforme explicado no item 6.2.1, ao fenômeno osmótico, que leva à diluição do soluto previamente concentrado na fase interna, provocando, conseqüentemente, uma diminuição no índice de enriquecimento. Além disso, observa-se que o índice de enriquecimento apresentado pelo experimento que contém 1 % m/m de ECA 4360 é superior, em todos os níveis de extratante, ao experimento com 2% m/m de surfatante. Isto era esperado uma vez que o inchamento influencia, de maneira inversa, o índice de enriquecimento.

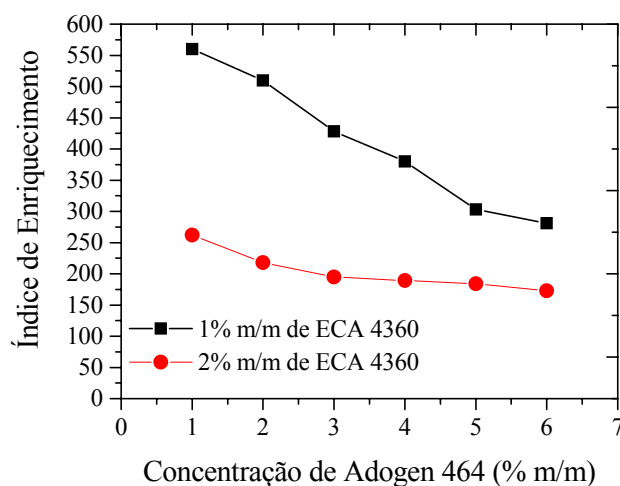


FIGURA 6.11 – Influência da concentração de Adogen 464, na presença de modificador, sobre o índice de enriquecimento para concentrações de surfatante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 3:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Com base no exposto, observa-se que a melhor concentração de Adogen 464, em termos de percentagem de extração, viscosidade da fase membrana, percentual de inchamento e índice de enriquecimento da fase interna é a de 1% m/m. No entanto, mais uma vez por causa da interrelação de variáveis, os ensaios subseqüentes (efeito da razão de volumes fase membrana/fase interna, da razão de volumes fase externa/emulsão) serão realizados para as concentrações de Adogen 464 de 1 e 2% m/m.

Com relação à concentração de surfatante, a única variável-resposta que mostrou variação significativa foi o índice de enriquecimento, sendo menor para a concentração de surfatante de 2% m/m. No entanto, como o foco do trabalho é a obtenção de uma fase externa isenta de fenilalanina, e como outros parâmetros a serem investigados na seqüência dependem do uso de uma membrana mais estável, conforme explicado anteriormente, optou-se pela utilização de uma concentração de 2% m/m de surfatante.

Adicione-se a isto que a análise da fase interna, feita por espectrofotometria de UV-visível, leva a um erro maior em concentrações mais elevadas de soluto, em virtude das diluições necessárias, além de ter sido observado que leituras realizadas em momentos diferentes apresentavam alguma discrepância. Portanto, a análise dos dados com base no índice de enriquecimento serve apenas como um parâmetro de comparação, não sendo aconselhável a utilização dos valores absolutos para efeito de análise.

### **6.2.3. Influência do tempo de permeação**

Outra variável importante na extração de soluto pelo processo MLS é o tempo de permeação. Conforme já dito, para todos os ensaios realizados anteriormente, o tempo de permeação, com base em estudos anteriores realizados com sistema semelhante, foi fixado em 5 minutos (ANDRADE *et al.*, 2003). Nesta etapa do trabalho, o tempo de permeação foi avaliado para 2% de ECA 4360, 2% de Adogen 464, temperatura ambiente, relação FM/FI = 2:1 e relação FE/EP = 3:1,  $[KCl]_{FI} = 2,0$  M, para uma velocidade de agitação de 120 rpm. Na FIGURA 6.12, são apresentadas a variação da concentração final de fenilalanina na fase externa e a percentagem de extração de fenilalanina presente inicialmente na fase externa em função do tempo de permeação.

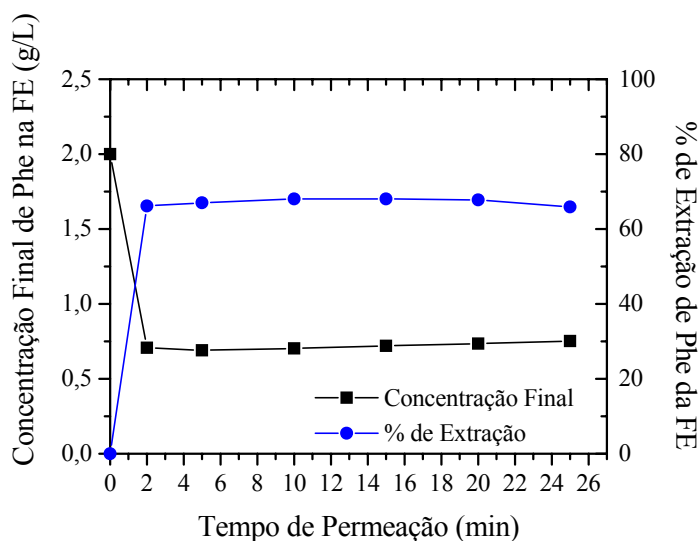


FIGURA 6.12 – Influência do tempo de permeação na concentração final de fenilalanina na fase externa e na extração de fenilalanina inicialmente presente na fase externa.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCl na FI = 2 mol/L, temperatura ambiente).

Pela FIGURA 6.12, observa-se que a percentagem de extração de fenilalanina permanece praticamente constante com o aumento do tempo de permeação, na faixa investigada, o que corresponde a uma elevadíssima taxa de extração nos primeiros 2 minutos, a partir dos quais não ocorre mais extração do soluto. No entanto, o nível selecionado para essa variável foi 5 minutos, por se considerar que este seja um tempo mínimo para que o sistema entre em regime, ou seja, para que se obtenham glóbulos de diâmetro uniforme.

THIEN *et al.* (1988) verificaram que, para uma fase externa com concentração inicial de fenilalanina de 11,5 g/L, a taxa de extração do soluto era acentuada nos primeiros minutos de permeação, diminuindo até atingir a estabilização, sendo essas taxas iniciais

maiores para concentrações mais elevadas de extratante e concentrações mais elevadas de cloreto (vide FIGURA 4.10 e 4.12).

No presente estudo, a influência do tempo de permeação para as condições estudadas não se mostrou significativa na faixa investigada para esse parâmetro (de 2 a 25 minutos), diferentemente do que foi observado por THIEN *et al.* (1988), certamente devido à baixa concentração inicial de fenilalanina na fase externa utilizada (2,0 g/L) em comparação à concentração utilizada por Thien e colaboradores (11,5 g/L). Essa baixa concentração faz com que sejam necessários tempos menores para realizar a extração, para uma dada concentração de extratante, uma vez que não são necessários tantos ciclos de complexação do extratante, difusão na fase membrana, e liberação do mesmo na interface interna, difundindo de volta para a interface externa, para novamente captar o soluto. Isto pode ser mais bem compreendido pelo mecanismo de contra-transporte para a extração de fenilalanina, mostrado na FIGURA 6.13.

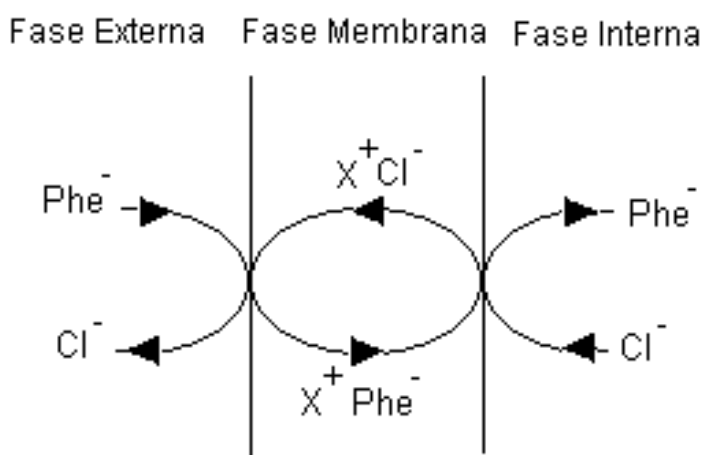


FIGURA 6.13 - Representação esquemática do mecanismo de contra-transporte para extração da fenilalanina.

Fonte: THIEN *et al.* (1988)

Em sistemas MLS, normalmente, a etapa controladora do processo é a difusão do complexo na fase membrana. Portanto, quando não há quantidade suficiente de extratante na interface externa para promover a retirada de soluto dessa fase, o prosseguimento da reação é ainda mais dependente do retorno do transportador



(extratante) para essa interface. Em face do exposto, nessa condição, são necessários mais ciclos do transportador e, com isso, um maior tempo de permeação. Para as condições estudadas neste trabalho, envolvendo uma baixa concentração de fenilalanina na fase externa, os resultados mostram que a quantidade de extratante é suficiente para levar aos maiores níveis de extração já nos primeiros minutos.

Cabe ressaltar que a opção pela concentração de 2,0 g/L se justifica uma vez que este trabalho visa à determinação das melhores condições para extração de fenilalanina para que, em estudo posterior, possa ser avaliada a extração desse aminoácido de hidrolisados protéicos, em que a concentração está em torno desse valor. No estudo realizado por THIEN *et al.* (1998), a escolha da concentração de 11,5 g/L deve-se à concentração de Phe presente no mosto fermentado.

Outro fator que pode ter contribuído para que o tempo de permeação não exercesse uma grande influência na extração de fenilalanina da FE é a provável variação do pH da FE com a extração de  $\text{Phe}^-$ . Conforme explicado no item 5.1, o pH da fase externa, foi ajustado inicialmente para 9,5, pH em que prevalece a espécie aniônica  $\text{Phe}^-$ , espécie extraível com o extratante Adogen 464. No entanto, nesse pH, está também presente, embora em menor quantidade, a espécie “zwitterion” Phe (vide FIGURA 6.14). Com a extração de  $\text{Phe}^-$ , durante o processo de permeação, há uma queda na concentração dessa espécie na fase externa, o que provoca o deslocamento do equilíbrio entre essas duas espécies, no sentido de formar mais moléculas de fenilalanina na forma aniônica, ou seja, formar mais moléculas capazes de se complexar com o extratante, conforme mostrado na FIGURA 6.14. Com isso, há liberação de íons  $\text{H}^+$ , com conseqüente diminuição do pH, o que dificulta a formação de  $\text{Phe}^-$ . E se a fenilalanina não estiver na forma aniônica na FE, ela não poderá ser transportada através da fase membrana pelo extratante, o que implica queda nas taxas de extração.

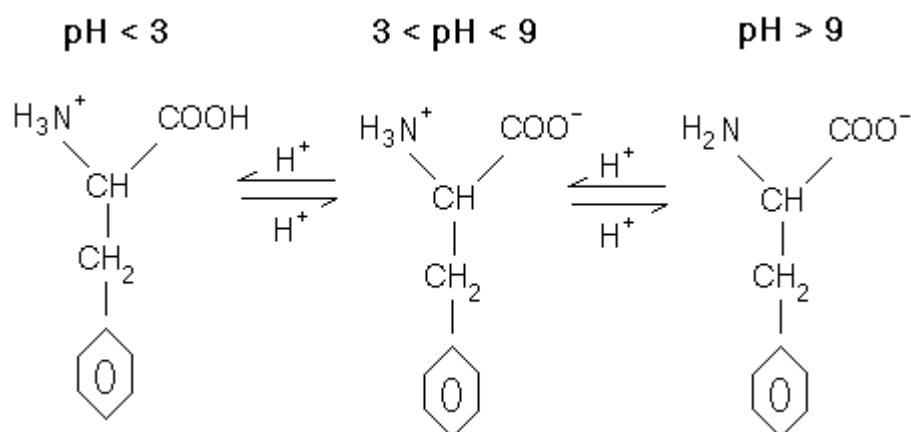


FIGURA 6.14 - Formas iônicas da fenilalanina.

Para o estudo em questão, como os resultados de extração de fenilalanina da fase externa em função da concentração de extratante mostraram que os níveis de extração obtidos, utilizando-se uma fase membrana com 1 ou 2% m/m de Adogen 464 eram praticamente iguais, optou-se por avaliar a influência do tempo de permeação para apenas uma dessas concentrações. Quanto ao efeito da concentração inicial do íon cloreto na fase interna, este, até esta etapa do trabalho, ainda não havia sido avaliado. A condição de 2,0 M para a concentração de KCl foi escolhida com base em estudos anteriores com sistema semelhante (ANDRADE *et al.*, 2003) e, se necessário, dependendo dos resultados do estudo da influência dessa variável na extração de fenilalanina, novos ensaios para determinação do tempo de permeação seriam realizados.

Na FIGURA 6.15, são mostradas as curvas de variação da porcentagem de inchamento da membrana e do índice de enriquecimento da fase interna em fenilalanina em função do tempo de permeação.

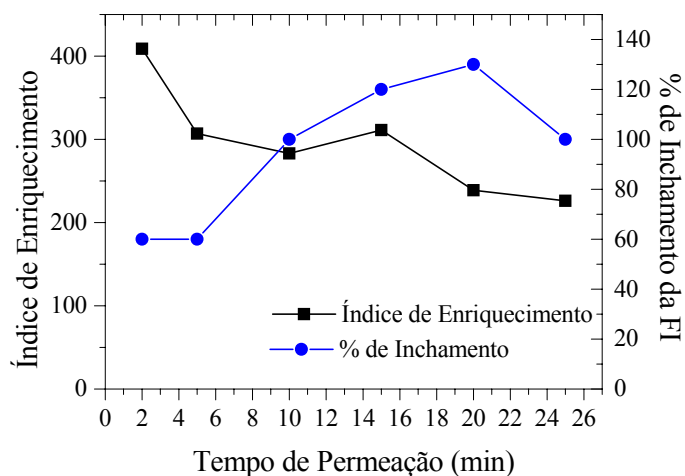


FIGURA 6.15 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função do tempo de permeação.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Por essa figura, observa-se que a percentagem de inchamento é igual a, aproximadamente, 60% para os tempos de 2 e 5 minutos. Era de se esperar, a princípio, que, com 2 minutos de permeação, a percentagem de inchamento da fase membrana fosse menor que para 5 minutos, uma vez que maiores tempos permitem a permeação de maiores quantidades de água. Mas como, em tempos muito curtos, ocorre a oclusão, que consiste na entrada de fase externa para dentro dos glóbulos através de um mecanismo de arraste no momento de sua formação, pode ter havido uma elevação desse percentual de inchamento, coincidindo com o inchamento observado para 5 minutos de permeação. Para um tempo de 5 minutos ou superior, o efeito de oclusão é atenuado, pois no processo de formação de glóbulos mais uniformes de menor diâmetro, há a liberação de parte da fase externa retida e também de gotículas de fase interna localizadas próximas à interface.

A partir de 5 minutos, os glóbulos em uma condição de maior estabilidade, tornam-se mais homogêneos e o comportamento da curva obtida corresponde ao esperado. Como, durante toda a permeação, há uma diferença de força iônica entre as fases, devido ao excesso de íons cloreto na fase interna, a entrada de água na membrana é favorecida pela diferença de pressão osmótica entre as fases. Paralelamente, a ação contínua do surfatante e do extratante, aceleradores osmóticos no processo, é favorecida pelos tempos maiores. No entanto, como, com o passar do tempo, devido à diluição da fase interna, há uma diminuição da diferença de força iônica entre as fases, há uma redução nas taxas de inchamento, comportamento observado, na FIGURA 6.15, através da diminuição da inclinação da curva de percentual de inchamento. Quando o tempo aumenta de 20 para 25 minutos, observa-se uma queda na porcentagem de inchamento, que está, possivelmente, relacionada à quebra da membrana com conseqüente perda de fase interna, devido ao elevado inchamento das gotículas de fase interna e ao maior cisalhamento imposto ao sistema.

Com relação ao índice de enriquecimento, verifica-se que ele decresce com o tempo, em virtude do aumento do percentual de inchamento da fase interna. Esse resultado era esperado, uma vez que a porcentagem de extração foi praticamente constante e, por conseguinte, o índice de enriquecimento deveria ser afetado somente pela porcentagem de inchamento. Entretanto, quando o tempo varia de 20 para 25 minutos, observou-se que há pequena diminuição no índice de enriquecimento mesmo tendo sido observada uma queda na porcentagem de inchamento. Esse fato se deve, provavelmente, como explicado acima, à quebra da membrana que leva, além da perda de fase aquosa, à perda de soluto já extraído. Novamente, cabe lembrar que estão sendo avaliadas apenas tendências em virtude dos problemas, já discutidos, associados com esse parâmetro.

#### **6.2.4. Influência da velocidade de agitação na etapa de permeação**

Nesta etapa, foi realizada uma série de quatro experimentos, variando-se a velocidade de agitação na etapa de permeação de 120 a 250 rpm. Na FIGURA 6.16, é mostrada a influência desse parâmetro na extração da fenilalanina inicialmente presente na fase externa e no percentual de inchamento da membrana.

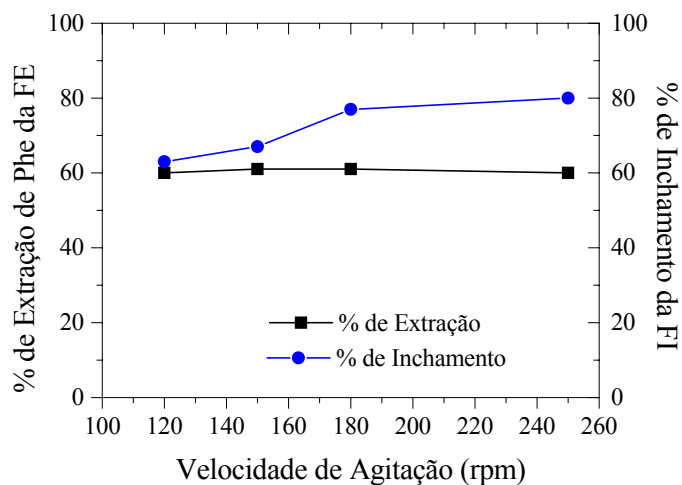


FIGURA 6.16 – Influência da velocidade de agitação sobre a extração de fenilalanina da fase externa e sobre o percentual de inchamento da fase interna.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Pela análise da figura, observa-se que o aumento da velocidade de agitação não influencia nas taxas de extração de fenilalanina da fase externa, porém favorece o transporte de água para a fase interna, aumentando, assim, o inchamento da fase interna.

Esperava-se que o aumento da agitação afetasse as taxas de extração de fenilalanina, porém tal efeito não foi observado. O aumento da agitação na etapa de permeação favorece a convecção do soluto na fase externa e a formação de glóbulos menores que proporcionam um aumento da área interfacial fase externa/glóbulo de emulsão. Em consequência, melhoram-se as condições de transporte de massa e da cinética de formação complexo-soluto na interface externa, obtendo-se percentuais de extração de soluto mais elevados. No entanto, existe um limite acima do qual a agitação pode afetar, também, a estabilidade da membrana. Velocidades mais elevadas podem deformar os glóbulos que tendem a se romper, comprometendo as taxas de extração devido à perda

de fase interna contendo soluto já extraído. Tem-se que a presença de uma maior quantidade de KCl na fase interna favorece a reação de reextração na interface interna. Justifica-se o resultado obtido pelo aumento do inchamento da fase interna, que, provavelmente, foi ocasionado pelo aumento da área interfacial (menores glóbulos) e aumento do coeficiente de transferência de massa. O inchamento causa uma diluição da fase interna que, por sua vez, interfere na força-motriz do processo, diminuindo-a. Essa menor força-motriz, no mecanismo de contra-transporte, responsável pelo transporte do soluto no sistema em questão, leva a um menor transporte do soluto fenilalanina. Se, por um lado, o aumento da área interfacial e do coeficiente de transferência de massa favorecem a extração, por outro, a diminuição da força-motriz produz um efeito contrário. E acredita-se que o somatório desses fatores, na faixa de velocidades de agitação investigada, tenha se traduzido em um percentual de extração praticamente constante.

Com base no exposto, a condição selecionada para os ensaios subseqüentes foi de 120 rpm, por proporcionar a melhor condição de extração associada ao menor inchamento observado.

Na FIGURA 6.17, são apresentadas as curvas de percentual de inchamento e de índice de enriquecimento da fase membrana. Com relação a essa última variável-resposta, pode-se dizer que, conforme o esperado, ela apresenta comportamento contrário ao do inchamento.

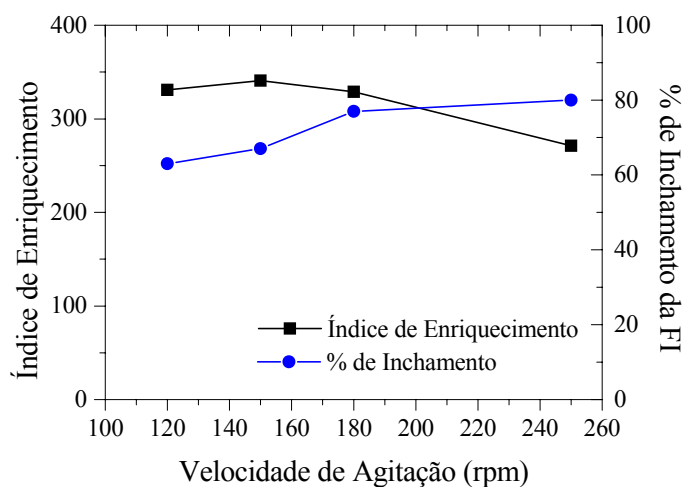


FIGURA 6.17 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da velocidade de agitação.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Para esse conjunto de ensaios, foi também avaliada a porcentagem de quebra da membrana em função da velocidade de agitação na etapa de permeação, cujos resultados são mostrados na FIGURA 6.18. Pode-se dizer que a quebra, por ser inferior a 1%, para a toda a faixa de velocidade de agitação investigada, é pouco significativa para o processo. Cabe, no entanto, ressaltar que, mesmo nesses baixos níveis de quebra, foi observado um leve aumento desse parâmetro com o aumento da agitação, conforme esperado, devido ao maior cisalhamento imposto ao sistema.

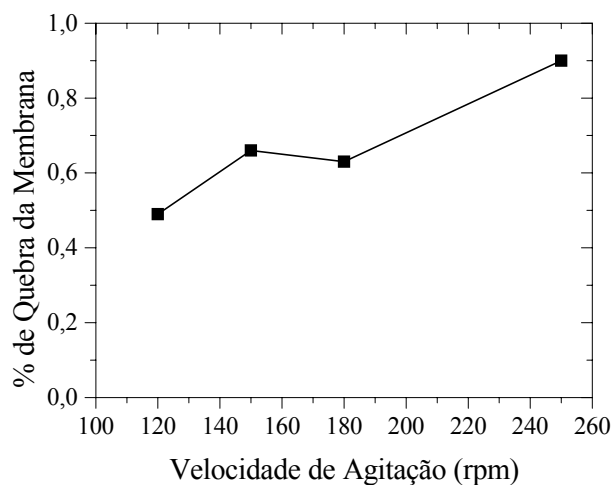


FIGURA 6.18 – Percentual de quebra da membrana em função da velocidade de agitação.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

### 6.2.5. Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna

O efeito da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre a extração de fenilalanina inicialmente presente na fase externa, utilizando-se 1 e 2% m/m de Adogen 464, é apresentado na FIGURA 6.19.



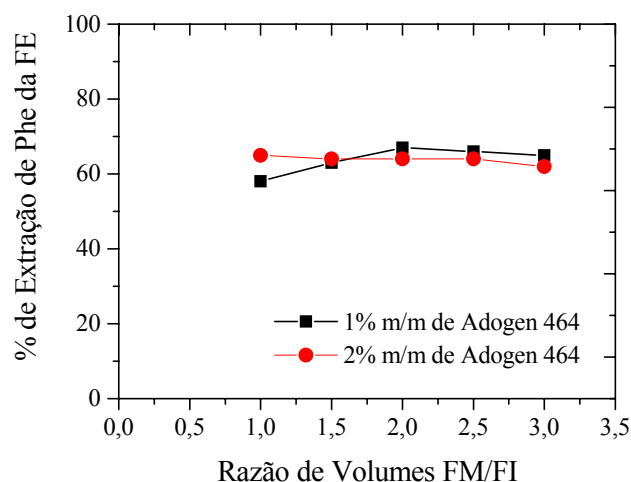


FIGURA 6.19 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre a porcentagem de extração de fenilalanina da fase externa para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

Pela análise da FIGURA 6.19, observa-se uma ligeira diferença nas curvas obtidas nos ensaios com 1% e 2% m/m de Adogen 464. Verifica-se que, na curva de 1% m/m de extratante, a porcentagem de extração de fenilalanina aumenta levemente com o aumento da razão de fases até uma razão igual a 2:1, condição a partir da qual a taxa de extração torna-se praticamente constante. Para a curva de 2%, é verificado que a porcentagem de extração é praticamente constante para todas as razões de fase membrana / fase interna.

Para razões FM/FI iguais 1:1 e 1,5:1, foram observadas menores taxas de extração de fenilalanina para uma concentração de Adogen 464 igual a 1% m/m. Em geral, baixas relações FM/FI estão associadas a membranas instáveis devido à quantidade insuficiente de surfatante para recobrir a interface fase membrana/fase interna, formando uma monocamada de surfatante adsorvido. No entanto, como os ensaios

realizados com uma concentração de Adogen 464 de 2% m/m continham a mesma quantidade de surfatante e não apresentaram esse comportamento, existe uma causa adicional para que haja essa falta de surfatante. Acredita-se que essa causa seja a diferença de viscosidade da fase membrana para as duas diferentes concentrações de extratante investigadas. A fase membrana contendo 1% m/m de extratante apresenta uma viscosidade de 2,03 cP e a de 2% m/m, uma viscosidade de 2,25 cP (vide FIGURA 6.9 e TABELA AIV).

Relações FM/FI baixas levam à obtenção de membranas mais finas, com gotículas de fase interna maiores, em virtude de se ter, comparativamente, mais fase interna para uma mesma quantidade de surfatante e uma mesma energia imposta ao sistema (mesma velocidade de agitação). E quando, para baixas relações FM/FI, a fase membrana utilizada para preparar a emulsão primária é menos viscosa, como é o caso da membrana com 1% m/m de extratante, os glóbulos e as gotículas de fase interna são comparativamente menores e em maior número (maior área interfacial a ser recoberta pelo surfatante), de modo que a espessura da fase membrana se torna menor, favorecendo a coalescência das gotículas de fase interna e também a oclusão, com conseqüente quebra da membrana, fato observado, conforme discutido mais à frente. Um outro fator que poderia ser responsável por esse aumento no percentual de extração em virtude do aumento da relação FM/FI, para baixos valores desse parâmetro, está associado à quantidade de extratante para promover a extração do soluto. Apesar das áreas interfaciais serem maiores para as membranas com 1% Adogen 464 e baixas relações FM/FI, o que poderia proporcionar maiores taxas de extração e de reextração do soluto, há, comparativamente, menos extratante para complexar o soluto, e caso houvesse falta do mesmo, isto poderia justificar o resultado encontrado. Em virtude dos resultados encontrados para o percentual de inchamento da fase interna em função da razão FM/FI (quebra observada para as relações FM/FI iguais a 1:1 e 1,5:1), mostrados na FIGURA 6.20 e discutidos mais à frente, acredita-se que a menor viscosidade da membrana decorrente da insuficiência de surfatante seja a explicação mais plausível para os resultados encontrados para os ensaios com 1% m/m de extratante e relação FM/FI de 1:1 e 1,5:1. Isto poderia ser comprovado em estudos posteriores, se fossem

realizados ensaios de extração de Phe, para diferentes concentrações de surfatante, superiores a 2% m/m, em função da relação FM/FI, com 1% m/m de Adogen 464.

Com o aumento da razão de fases, entretanto, há, também, uma diminuição da área superficial das gotículas de fase interna pelo reduzido volume dessa fase e pelo aumento de viscosidade da emulsão primária em virtude da maior quantidade de fase membrana, que levam a menores taxas de extração e de reextração. Adicionalmente, há um aumento da distância que o complexo soluto-extratante deve percorrer da interface externa à interface interna, e o extratante no sentido contrário para reagir novamente com o soluto. Dessa forma, apesar de haver mais extratante, sua disponibilização necessita de um maior tempo. Assim, para razões FM/FI mais elevadas, acredita-se que haja uma compensação desses dois efeitos, proporcionando níveis de extração praticamente constantes. Sabe-se, porém, que, para relações FM/FI ainda mais elevadas (SALUM, 1998), o efeito da viscosidade sobrepuja o aumento da quantidade de extratante, levando a uma redução no percentual de extração, não observado na faixa estudada neste trabalho. Para os ensaios realizados com 2% m/m de Adogen 464, é provável que níveis mais baixos de extração estejam associados a relações FM/FI inferiores à faixa aqui investigada.

Com relação à porcentagem de inchamento da fase interna apresentada na FIGURA 6.20, conforme já dito, para a membrana com 1% de Adogen 464, houve quebra quando se trabalhou com as relações FM/FI de 1:1 e 1,5:1 (vide os valores registrados de -5% e 3%, respectivamente, para o percentual de inchamento da membrana). Observando-se as curvas obtidas para os ensaios com 2% m/m de extratante e para 1%, neste caso, a partir de uma relação FM/FI igual a 2:1, verifica-se uma mesma tendência, um ligeiro acréscimo no percentual de inchamento com o aumento da relação de fases. Isto pode ser explicado pelo aumento relativo do volume de fase membrana e, portanto, pela maior quantidade de surfatante e de extratante, reagentes carreadores de água, que contribuiriam, portanto, para esse aumento do inchamento. Em contrapartida, o fato de se ter proporcionalmente mais fase membrana em detrimento da fase interna, faz com que a membrana se torne mais espessa e a emulsão primária mais viscosa, o que dificultaria o transporte de água. Daí, o efeito do aumento da relação FM/FI não ser tão

pronunciado. Comparando-se os resultados obtidos para as duas concentrações de extratante, observou-se, que, o inchamento da fase interna foi maior quando se utilizou uma fase membrana com 1% de Adogen 464, provavelmente em virtude da maior área interfacial dos glóbulos de emulsão e das gotículas de fase interna neste caso, decorrente da menor viscosidade, conforme discutido anteriormente.

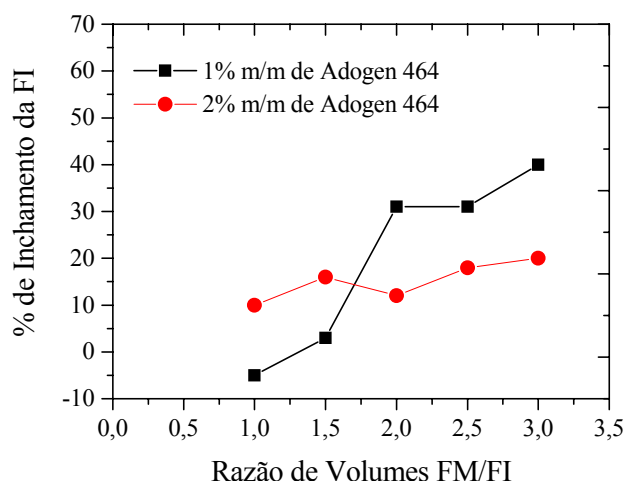


FIGURA 6.20 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre a porcentagem de inchamento da fase interna para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

O efeito da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre o índice de enriquecimento, utilizando-se 1 e 2% m/m de Adogen 464, é apresentado na FIGURA 6.21. Pela figura, observa-se que esse índice aumenta, para ambas as curvas, com o aumento da razão de fases. Isto se deve, provavelmente, ao pequeno aumento verificado no percentual de inchamento com a razão FM/FI, associado à redução do volume de fase interna. Conforme já dito, na análise do índice de enriquecimento, estão sendo observadas apenas as tendências e seus resultados não devem ser utilizados na definição da melhor concentração de extratante, em virtude do grau de diluição necessário para leitura de concentrações no espectrofotômetro UV-visível e pelo fato deste parâmetro se

tratar de uma razão, que é, portanto, muito afetada por pequenas diferenças na leitura das concentrações de soluto na fase interna.

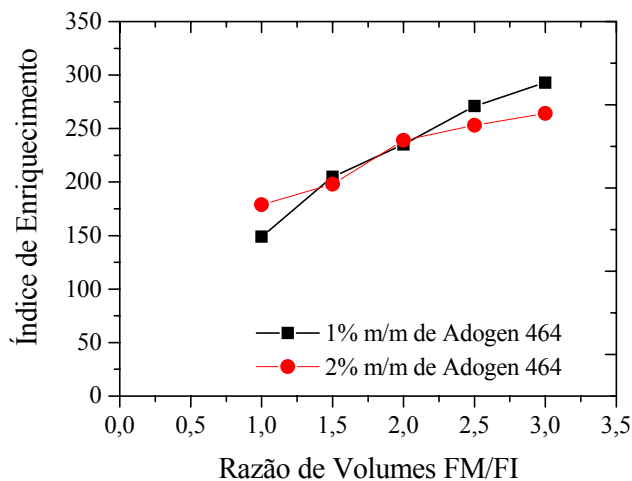


FIGURA 6.21 – Influência da razão de volumes fase membrana / fase interna sobre o índice enriquecimento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FE/emulsão primária = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

De acordo com o explicado, optou-se por utilizar uma razão de volumes fase membrana / fase interna igual a 2:1. Esta apresenta um elevado nível de extração de fenilalanina, sem, no entanto, representar quantidades de extratante e surfatante tão elevadas, tanto para 1 quanto para 2% m/m de extratante. Dessa forma, evitam-se condições de baixa estabilidade, como as observadas para relações FM/FI de 1:1 e 1,5:1 para concentração de extratante de 1% m/m, e também gastos desnecessários de reagente, associados a razões muito elevadas, sem proporcionar inchamento muito elevado da fase interna que poderia prejudicar, de forma significativa, o índice de enriquecimento.

### 6.2.6. Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária

O efeito da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre a massa de fenilalanina extraída da fase externa, utilizando-se 1 e 2% m/m de Adogen 464, é apresentado na FIGURA 6.22. Na TABELA VI.2, são apresentadas as massas iniciais de Phe para cada uma das razões de volumes FE/EP. A massa inicial de Phe na fase externa variava de acordo com a razão de volumes, pois utilizou-se uma concentração de  $Phe_{FE}$  constante, aproximadamente igual a 2,0 g/L, para todas as razões de volumes FE/EP e, também, manteve-se constante o volume total (fase externa mais emulsão primária). Sendo assim, à medida que a razão de volumes FE/EP aumentava, maior era o volume de fase externa utilizado, e conseqüentemente, maior a massa inicial de Phe.

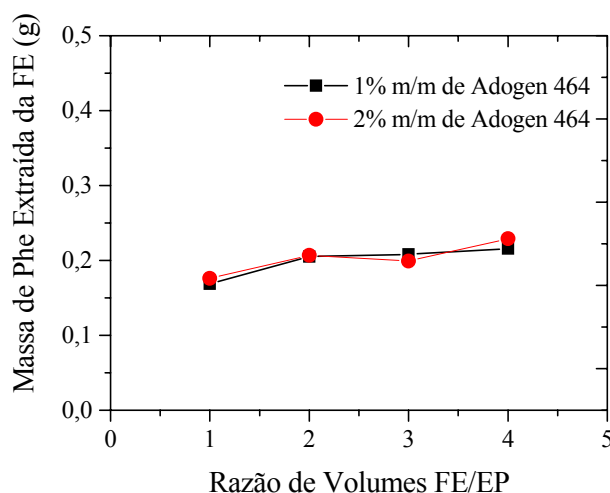


FIGURA 6.22 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre a massa de fenilalanina extraída da fase externa para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

TABELA VI.2 - Massas iniciais de Phe<sub>FE</sub> para as diferentes razões de volumes FE/EP.

<b>Razão de Volumes FE/EP</b>	<b>Massa inicial (g)</b>
1/1	0,240
2/1	0,320
3/1	0,360
4/1	0,384

Pela análise da FIGURA 6.22, observa-se que o comportamento apresentado pelas curvas contendo 1 e 2% m/m de Adogen 464 é, aproximadamente, igual. Verifica-se que, para ambas as curvas, a massa de fenilalanina extraída da fase externa aumenta quando se passa da relação FE/EP de 1:1 para 2:1, mantendo-se no mesmo patamar para a relação de 3:1 e subindo novamente ao se passar de 3:1 para 4:1.

Analisando-se as condições da membrana para as diferentes relações FE/EP, tem-se que, à medida que se aumenta essa relação, a quantidade de soluto presente inicialmente na fase externa se torna maior (vide TABELA VI.2) em decorrência da utilização de um maior volume de fase externa nos ensaios (ensaio com relação FE/EP = 1:1). Em contrapartida, o aumento da relação de fases implica uma redução relativa de fase membrana ou, em outras palavras, em menor quantidade de extratante e de surfatante. Portanto, verifica-se um aumento da relação massa de soluto/massa de extratante com o aumento da relação FE/EP, de modo a facilitar a formação do complexo soluto-extratante pelo aumento da disponibilidade de Phe. Mas, em contrapartida, o processo torna-se mais sensível à difusão do complexo na fase membrana e ao retorno do extratante para reagir novamente na interface externa. Isto pode explicar o patamar observado para as relações FE/EP de 2:1 e 3:1. O aumento da razão de volumes fase externa / emulsão primária proporciona uma diminuição da viscosidade da emulsão múltipla, que leva à formação de glóbulos cada vez menores e com uma menor espessura de fase membrana. Portanto, para a relação FE/EP igual a 4:1, pode ter ocorrido que a redução da espessura da fase membrana, ou seja, da distância entre as duas interfaces tenha sido suficiente para compensar a menor quantidade de extratante proporcionada pela maior relação de fases. Quando essa distância é encurtada, mais rapidamente o extratante se disponibiliza na interface externa para captar o soluto e

mais rapidamente é regenerado na interface interna para difundir de volta para a interface externa, completando o ciclo. Esse motivo pode ser o responsável pelo ligeiro aumento na massa de soluto extraída da fase externa.

Com relação à porcentagem de inchamento, mostrado na FIGURA 6.23, observa-se que ela diminui, para ambas as curvas, com o aumento da razão de fases. Para relações FE/EP menores, têm-se as maiores quantidades de extratante e surfatante, componentes que aceleram o processo osmótico. Associado a isto, o volume de emulsão primária a ser disperso na fase externa é maior, o que pode levar a maiores áreas interfaciais. No entanto, a emulsão múltipla apresenta uma maior viscosidade, o que levaria à formação de um menor número de glóbulos. À medida que se aumenta a relação FE/EP, diminuem-se as quantidades de extratante e surfatante comparativamente. Em contraposição, há um menor volume de emulsão primária a ser dispersa e a viscosidade da emulsão múltipla é menor, o que melhora as condições de dispersão dos glóbulos na fase externa e favorece a formação de elevadas áreas interfaciais. Pelos resultados apresentados na FIGURA 6.23, parece que o efeito predominante é a disponibilidade de extratante e surfatante. Por isso, os maiores percentuais de inchamento foram obtidos para as menores relações FE/EP. Isto também explica o fato de se ter obtido um maior inchamento para os ensaios realizados com a maior concentração de extratante (2% m/m).



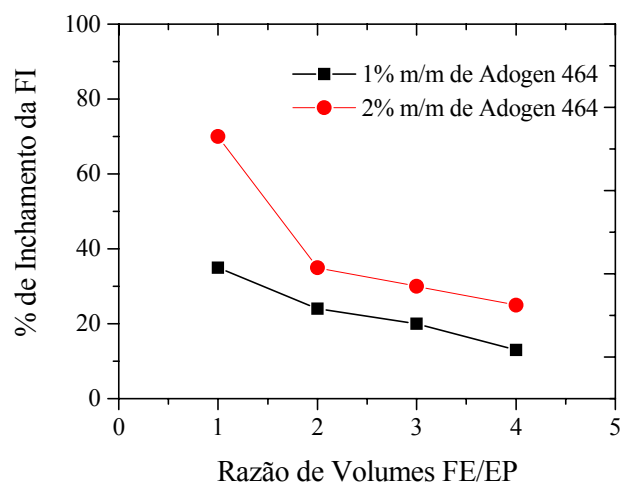


FIGURA 6.23 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre a porcentagem de inchamento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2 % m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

O efeito da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre o índice de enriquecimento, utilizando-se 1 e 2% m/m de Adogen 464, é apresentado na FIGURA 6.24. Conforme pode ser observado, o índice de enriquecimento aumenta, para ambas as curvas, com o aumento da razão de fases, estando em um patamar mais elevado para os ensaios realizados com 1% m/m de Adogen 464. Mais uma vez isto pode ser explicado com base no percentual de inchamento, já que essas duas variáveis-resposta apresentam comportamento inverso.

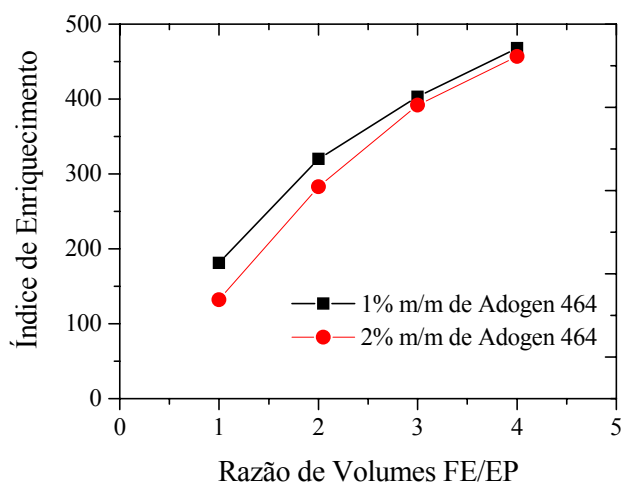


FIGURA 6.24 – Influência da razão de volumes fase externa / emulsão primária sobre o índice de enriquecimento para concentrações de extratante iguais a 1 e 2% m/m.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de agitação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, concentração de KCl na FI = 2 M, temperatura ambiente).

De acordo com o exposto acima, optou-se pela utilização de uma proporção FE:EP igual a 3:1 e concentração de Adogen 464 igual a 2% m/m, uma vez que esses níveis de operação proporcionam boas condições de extração de Phe, mantendo-se um inchamento relativamente baixo e um elevado índice de enriquecimento. Cabe enfatizar que, apesar da razão de fases e da concentração de extratante escolhidas não fornecerem a condição ótima de operação em termos das respostas estudadas, as mesmas oferecem maior flexibilidade para variação de outros parâmetros operacionais, evitando possíveis perdas de eficiência do processo em virtude da operação em condições limites das variáveis aqui avaliadas.

### 6.2.7. Influência da concentração da solução de KCl na fase interna

Na FIGURA 6.25, encontram-se os resultados da influência da concentração de KCl na fase interna na extração de fenilalanina inicialmente presente na fase externa e no percentual de inchamento da fase interna.

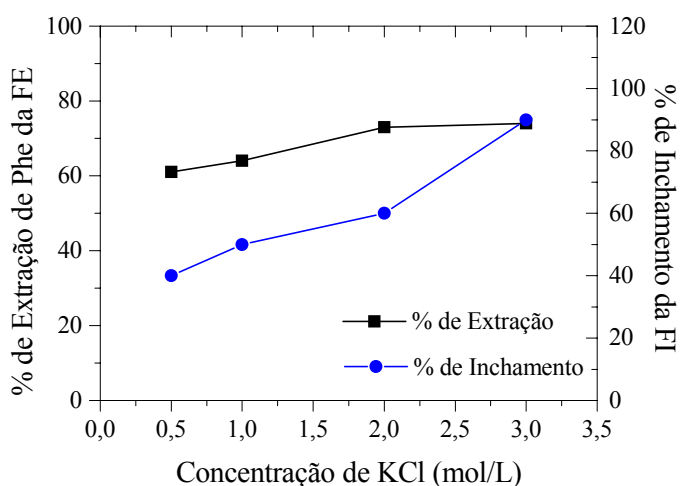


FIGURA 6.25 – Influência da concentração de KCl na extração de fenilalanina da fase externa e sobre o inchamento da fase interna.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2 % m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de permeação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1,).

Pela análise da FIGURA 6.25, observa-se que tanto a porcentagem de extração da fenilalanina da fase externa quanto a porcentagem de inchamento da fase membrana aumentam com o aumento da concentração de KCl na fase interna.

De acordo com o explicado no item 4.3, a extração de Phe pelo processo MLS, cujo mecanismo de permeação do soluto é o de contra-transporte, tem como força-motriz para a transferência de massa a diferença de potencial químico entre as fases externa e interna, afetada diretamente pela concentração de íons cloro na fase interna, responsável pelo bombeamento de Phe da fase externa para a interna. Estando a força-motriz

relacionada ao fluxo do soluto através da membrana por uma equação fenomenológica na forma de proporcionalidade, conclui-se que, ao se aumentar a força-motriz do processo, a transferência de massa do soluto também aumenta.

Atenção especial deve ser dada aos resultados de extração de fenilalanina, obtidos para as concentrações de KCl na fase interna iguais a 2,0 e 3,0 M. De acordo com a tendência observada na FIGURA 6.25 (vide resultados apresentados na TABELA AIII.10 - ANEXO AIII), esperava-se que, ao se aumentar a concentração de KCl na fase interna de 2,0 para 3,0 M, houvesse um aumento mais acentuado na percentagem de extração de fenilalanina. Entretanto, verificou-se uma estabilização do percentual de extração, associado a um aumento de 50% do inchamento. Esse elevado inchamento provoca uma diluição da fase interna, o que, conseqüentemente, acarreta em uma diminuição da força-motriz do processo, motivo provável pelo qual não se verificou uma maior percentagem de extração de fenilalanina com o aumento da concentração do sal na fase interna de 2,0 para 3,0 M.

Com relação ao percentual de inchamento da fase interna, pode-se dizer que a força-motriz responsável pela ocorrência desse fenômeno é a pressão osmótica, que, neste estudo, é provocada, principalmente, pela alta concentração do sal na fase interna aliada a uma fase externa altamente diluída. Assim, com o aumento da concentração do sal na fase interna, tem-se o aumento de transferência de água para o interior das gotículas.

O efeito da concentração de KCl na fase interna sobre o índice enriquecimento, é apresentado na FIGURA 6.26, juntamente com o percentual de inchamento da fase interna. O índice de enriquecimento apresenta, mais uma vez, o comportamento esperado pela sua interdependência com o percentual de inchamento.

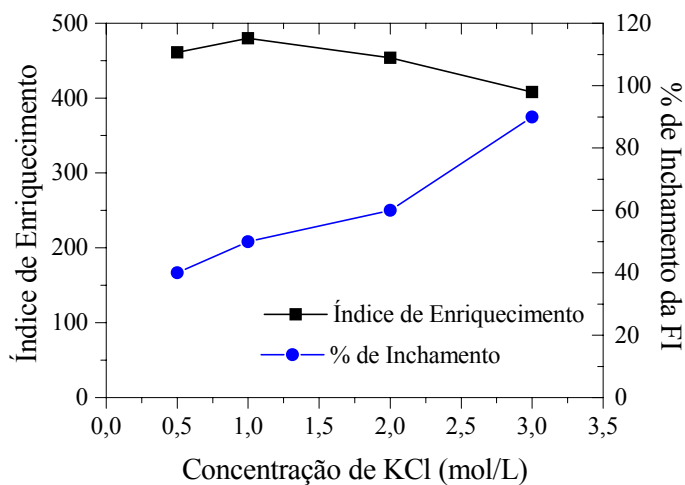


FIGURA 6.26 – Índice de enriquecimento de fenilalanina na fase interna e inchamento da fase interna em função da concentração de KCl na fase interna.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2 % m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, tempo de permeação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm).

Com base nos resultados apresentados, selecionou-se a concentração de 2,0 M de KCl na fase interna. Para as concentrações de KCl na fase interna iguais a 2,0 e 3,0M, obteve-se o mais alto nível de extração de Phe obtido. No entanto, com a concentração de 2,0M, o inchamento foi significativamente menor e o índice de enriquecimento foi mais elevado.

### 6.3. Ensaio de Permeação Utilizando Membranas Recicladas

Esta etapa foi realizada com o intuito de se avaliar a capacidade extrativa de uma membrana reciclada e sua estabilidade, além da reprodutibilidade dos experimentos. Os ensaios foram realizados nas condições estabelecidas pelos estudos anteriores, a saber: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2% m/m, tempo de permeação = 5 minutos, velocidade de agitação = 120 rpm, relação FM/FI = 2:1, relação FE/EP = 3:1 e concentração de KCl na fase interna = 2,0 M. A fase externa, em todos os experimentos, deveria apresentar uma concentração de 2,0 g/L, concentração escolhida

a partir de uma solução de leite em pó destinada a consumo alimentício, conforme cálculos apresentados no Anexo AI desse trabalho. Em virtude da necessidade de se preparar várias soluções de alimentação (fase externa) para realização dos ensaios, foram observadas variações nessa concentração. Para que a análise dos resultados não fosse prejudicada, os mesmos foram expressos em termos de massa extraída em vez de percentual de extração, conforme apresentado na FIGURA 6.27. Nessa figura, cada ponto representa o valor médio de 3 ensaios realizados sob as mesmas condições. Na TABELA VI.3, são apresentadas, para cada um dos experimentos, as massas iniciais de Phe na FE, as massas médias extraídas de Phe da FE após contactação com as fases membranas fresca e reciclada, e as massas médias residuais de Phe na FE.

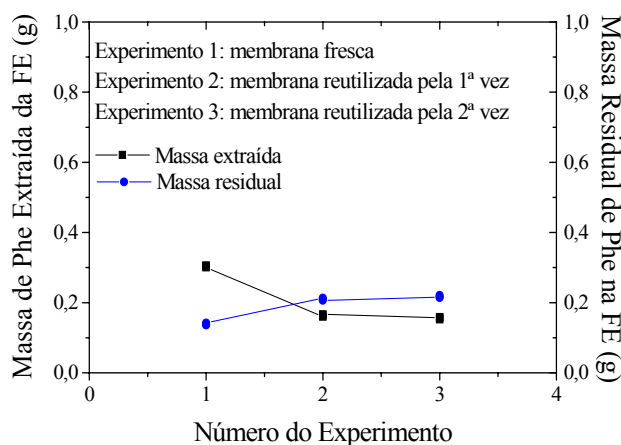


FIGURA 6.27 – Influência do uso de membranas recicladas na extração de fenilalanina da fase externa.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2 % m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de permeação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCL na fase interna = 2 M).

TABELA VI.3 - Massas iniciais, massas médias extraídas e massas médias residuais de Phe<sub>FE</sub> nos ensaios com fase membrana reciclada .

Experimento	Massa inicial (g)	Massa extraída (g)	Massa residual (g)
1	0,442	0,304	0,139
2	0,373	0,164	0,209
3	0,373	0,156	0,217

Conforme já descrito na metodologia, a diferença entre o ensaio realizado com a membrana virgem e as recicladas reside na fase membrana utilizada. O experimento 1 corresponde a um ensaio de permeação, com três repetições, utilizando-se uma fase membrana fresca, nas condições acima apresentadas. Os experimentos 2 e 3 também foram realizados com três repetições, porém utilizando a fase membrana obtida após a desemulsificação no experimento anterior.

Comparando-se o desempenho da membrana fresca ou virgem (experimento 1) com o da membrana reciclada pela primeira vez (experimento 2), observa-se que a primeira apresenta um desempenho melhor, confirmado pela maior massa extraída. A membrana reciclada uma vez apresentou uma capacidade extrativa de cerca de 55% da membrana fresca. Já a membrana reciclada pela segunda vez apresentou a mesma capacidade extrativa da reciclada apenas uma vez. Esse resultado está dentro do esperado, uma vez que a fase membrana, após uma primeira utilização, mantém parte do soluto extraído retido na fase membrana sob a forma de complexo, o que diminui a disponibilidade do extratante para complexar o soluto presente na fase externa fresca. Além disso, como o complexo possui um tamanho elevado, sua presença na fase membrana deve afetar a difusividade das espécies nessa fase. Adicionalmente, se o sistema operar com grandes quantidades de soluto e extratante, a própria viscosidade da fase membrana pode ser significativamente alterada. Acredita-se que essa quantidade seja mais ou menos a mesma quando se continua a reciclar a fase membrana, pois essa retenção é decorrente do próprio mecanismo de permeação. No entanto, pode ocorrer que, se a fase membrana continuar a ser reciclada indefinidamente, haja alguma degradação.

Nas FIGURAS 6.28 e 6.29, são mostradas as curvas de percentual de inchamento e de índice de enriquecimento da fase interna, respectivamente.

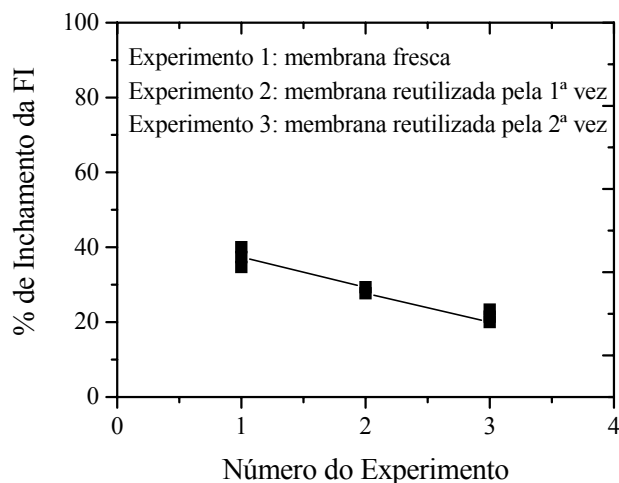


FIGURA 6.28 – Influência do uso de membranas recicladas na porcentagem de inchamento da fase interna.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2 % m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de permeação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCL na fase interna = 2 M).



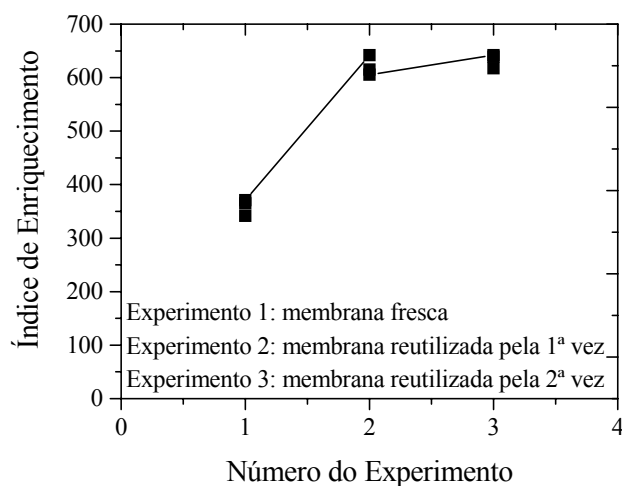


FIGURA 6.29 – Influência do uso de membranas recicladas no índice de enriquecimento.

(Condições: concentração de surfatante = 2% m/m, concentração de extratante = 2 % m/m, concentração de 1-Decanol = 3% m/m, tempo de permeação = 5 min, velocidade agitação = 120 rpm, razão de volumes FM/FI = 2:1, razão de volumes FE/emulsão primária = 3:1, concentração de KCL na fase interna = 2 M).

Pelas figuras, verifica-se que a membrana fresca apresenta um maior percentual de inchamento e, conseqüentemente, um menor índice de enriquecimento que a membrana reciclada uma única vez, visto que a difusividade nessa membrana é melhor e a disponibilidade do extratante é maior.

Comparando-se os experimentos 2 e 3, observa-se uma queda no percentual de inchamento, que pode ser conseqüência das variações das massas iniciais de Phe, em virtude de fases externas distintas, ou de variações experimentais inerentes ao processo.

## 7. CONCLUSÕES

Para o sistema estudado constituído por uma fase membrana composta pelos reagentes ECA 4360 (surfatante), Adogen 464 (extratante), Escaid 110 (diluyente) e 1-Decanol (modificador); fase interna composta por uma solução de KCl, com pH igual a 9,5, ajustado com  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ; e fase externa composta por uma solução sintética de fenilalanina com uma concentração de 2,0 g/L, com pH 9,5, ajustado com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , pode-se concluir:

- *do estudo de emulsificação realizado, que:*

- ♦ sistemas constituídos por aminas em diluyente de baixa polaridade necessitam de adição de um álcool, atuando como agente modificador, para melhorar a solubilização do extratante no diluyente;
- ♦ concentrações de 1-decanol iguais a 3% m/m já são suficientes para promover a solvatação do extratante no diluyente;
- ♦ a adição de álcool ao sistema, por melhorar a solubilidade mútua do extratante no diluyente, permite que o surfatante fique liberado para exercer o seu papel de estabilização da membrana;
- ♦ o surfatante, além de estabilizar a membrana, parece ter um papel semelhante ao do álcool, no que tange à solubilização da amina no Escaid 110, quando não há modificador (álcool) no sistema;
- ♦ na ausência de modificador, o aumento da concentração de extratante aumenta a estabilidade do sistema e, por consequência, o tempo para coalescência, devido ao papel semelhante ao do surfatante desempenhado pela amina quaternária, Adogen 464;

- *do estudo de permeação, que:*

- ♦ concentrações baixas de surfatante e extratante, 2% m/m de cada, são suficientes para estabilizar a membrana, nas condições estudadas, e promover níveis de extração do soluto de, aproximadamente, 75%;
- ♦ o aumento das concentrações de surfatante e extratante contribui significativamente para o transporte de água para o interior da fase interna pelo

fato desses reagentes atuarem como aceleradores osmóticos, mesmo não sendo os níveis avaliados tão elevados;

- ♦ tempos de permeação da ordem de 5 minutos, para o dado sistema, são suficientes para promover os mais altos níveis de extração devido à baixa concentração de fenilalanina utilizada na fase externa;
- ♦ o aumento da velocidade de agitação, na faixa estudada (120 a 250 rpm), levou a um percentual de quebra inferior a 1%, não alterou as porcentagens de extração, porém contribuiu para o fenômeno osmótico;
- ♦ quanto menor a razão fase membrana/fase interna, menor a estabilidade do sistema, sendo que a relação FM/FI igual a 2:1 levou a um alto nível de extração de fenilalanina, evitando condições de baixa estabilidade e gasto elevado de reagentes;
- ♦ quanto maior a razão fase externa/emulsão primária, melhor a dispersão dos glóbulos, tendo sido escolhida a razão FE/EP de 3:1, por fornecer boas condições de extração de Phe, associadas a um inchamento relativamente baixo e um elevado índice de enriquecimento, proporcionando maior flexibilidade para variação de outros parâmetros operacionais;
- ♦ o aumento da concentração de KCl na fase interna promove o aumento da força-motriz do sistema, auxiliando tanto o transporte de soluto para o interior da fase interna como também o de água, sendo que a condição considerada mais adequada para o sistema estudado foi a concentração de 2,0 M, que proporciona uma maior extração associada a um menor percentual de inchamento;
- ♦ com as condições estudadas, foi possível obter uma fase interna com concentração 4,5 vezes maior que a concentração inicial desse soluto na fase de alimentação e obter uma fase externa com concentração igual a, aproximadamente, 0,5 g/L. Em outras palavras, o processo estudado reduziu o percentual de Phe na solução sintética de, aproximadamente, 2,0% m/m para 0,05% m/m. Segundo a portaria 874 do Ministério da Saúde, é necessário que a fonte protéica utilizada para consumo dos fenilcetonúricos contenha uma concentração de Phe de até 0,1% m/m, sendo assim, conclui-se que a técnica de extração utilizada é capaz de atender às recomendações exigidas pela portaria 874 e, conseqüentemente, às necessidades dos pacientes.

- *do estudo de reciclagem da fase membrana, que:*

- ♦ o uso de fases membranas recicladas levaram a uma redução de 45% na capacidade de extração de Phe quando comparadas com a fase membrana fresca;
- ♦ as fases membranas foram reutilizadas em dois ciclos de extração subsequentes apresentando desempenhos similares em ambos os ciclos.

Este estudo demonstrou que a técnica de extração por MLS pode ser usada eficientemente como forma de separação e concentração da fenilalanina a partir de uma solução sintética. Porém, para que se comprove a viabilidade do processo, ainda deve ser avaliada a seletividade do extratante utilizando um hidrolisado protéico.

## 8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Este trabalho constitui-se em um passo importante para conhecimento e aplicação do processo de extração de fenilalanina utilizando membranas líquidas surfatantes. No entanto, ele necessita de uma complementação, para que posteriormente possa ser aplicado a um hidrolisado protéico. Portanto, para enriquecer o presente estudo e dar continuidade ao mesmo, algumas pesquisas são aqui sugeridas.

São elas:

- ♦ verificação do efeito da quebra da emulsão nas variáveis concentração de surfatante e extratante, razão de fases fase membrana / fase interna, razão de fases fase externa/ emulsão primária e concentração molar de KCl na fase interna;
- ♦ estudo do efeito da concentração inicial de fenilalanina na fase externa, para se avaliar o aumento nas porcentagens de extração relacionado ao aumento da disponibilidade de soluto;
- ♦ realização de ensaios complementares, com concentrações mais elevadas de surfatante, para verificar se, no experimento em que a razão de volumes fase membrana/fase interna foi avaliada, o aumento da extração verificado para as três primeiras razões (1:1, 1,5:1, 2:1) está relacionado com a cinética de extração (devido ao aumento relativo de extratante) ou com a estabilidade da membrana;
- ♦ estudo e controle do pH da FE durante a extração de fenilalanina (etapa de permeação);
- ♦ avaliação do efeito, nas porcentagens de extração de fenilalanina da fase externa, de ensaios de permeação realizados em série, simulando uma operação em corrente cruzada.
- ♦ avaliação da seletividade da técnica MLS, através da extração de fenilalanina a partir de uma mistura sintética de aminoácidos aromáticos;
- ♦ aplicação das condições obtidas neste trabalho e nos estudos subsequentes sugeridos, de modo a se tratar um hidrolisado protéico, à base de leite em pó, visando à obtenção de um hidrolisado com baixa concentração de fenilalanina.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, P.B. Nutrient Intake and Grow of Infants With Phenylketonuria Undergoing Therapy. **J. Ped. Grastr. Nutr.** n. 27, p.287-291,1998.

ANDRADE, F. M.; GUIMARÃES, J. P.; NASCIMENTO, L. C.; LOPES, P. M. C. Extração de Fenilalanina, pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes – Estudo Preliminar. Relatório Técnico referente à Disciplina Laboratório de Operações e Processos. 82p. Escola de Engenharia da UFMG. 2003.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 23/11/2005.

ARAI, S.; MAEDA, A.; MATSUMURA, M.; HIRAO, N.; WATANABE, M. Enlarged Sacale Production of a Low-phenylalanine Peptide Substance as a Foodstuff for Patients with Phenylketonuria. **Agric. Biol. Chem.**, v.50, p.2929-2931, 1986.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1995. 335p.

BART, H.-J., RAMASEDER, C., HASELGRÜBLER, T., MARR, R. The Investigation of Osmosis in the Liquid Membrane Technique. Influence of Key Parameters. **Hydrometallurgy**, v.28, p.253-267, 1992.

BEHRMAN, Richard E; KLIERGMAN, Robert M.; JENSON, Hal B. **Tratado de Pediatria**. 16. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 2353 p.

CANTAROW, Abrahan. **Bioquímica: Química das Proteínas**. São Paulo: Atheneu, 1968. 912 p.

CARVALHO, A. L. Estudo da Extração de Fenilalanina pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes, Utilizando D2EPHA como Extrator, Visando a Produção de um

Concentrado Protéico para a Dieta de Fenilcetonúricos. Dissertação de Mestrado. 120p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2006.

CONN, Eric E.; STUMPF, P. K. **Introdução à Bioquímica**: a Química dos Compostos Biológicos. São Paulo: Edgard Blücher, 1980. 525 p.

CUSSLER, E. L. **Diffusion**: Mass Transfer in Fluid Systems. Cambridge University Press, NY, USA, 1984. 525 p.

DE HOLANDA & VASCONCELLOS. Method for Removing Phenylalanine from Acid Hydrolysate of Casein. **Biothec Bioeng.**, v.56, p.1324-1329, 1989.

DING, Z., HARDING, C. O., THÖNY, B. State-of-the-art 2003 on PKU Gene Therapy. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.81, p.3-8, 2004.

DRAXLER, J. & MARR, R. Emulsion Liquid Membranes. Part I: Phenomenon and Industrial Application. **Chemical Engineering and Processing**, v. 20, p. 319-329, 1986.

ELLER, R., OTHMER, D. F., GRAYSON, M. Emulsions. **Encyclopedia of Chemical Technology**, 3rd ed., New York, John Wiley & Sons, p. 900-929, 1978-1984. 1979.

EVANGELISTA JR., J. M. G. Estudo da Extração Seletiva de Ferro Presente em Efluentes Clorídicos Oriundos da Decapagem de Aços em Usina Siderúrgica, pela Técnica de Extração Líquido-líquido. Dissertação de Mestrado. 106p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2002.

HONG, S., YANG, J. Process Development of Amino Acid Concentration by a Liquid Emulsion Membrane Technique. **Journal of Membrane Science**, v.86, p.181-192, 1994.

HSU, E. C. & LI, N. N. On the Frequency Dependence of Electrically Enhanced Emulsion Separation. **Chem. Eng. Res. Des.**, v. 63, p. 305-311, 1985.

JUANG, R., WANG, Y. Amino Acid Separation with D2EHPA by Solvent Extraction and Liquid Surfactant Membranes. **Journal of Membrane Science**, v.207, p.241-252, 2002.

KARLSON, Peter. **Bioquímica: Aminoácidos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1970. 499 p.

KIM, W., ERLANDSEN, H., SURENDRAN, S., STEVENS, R. C., GAMEZ, A., MICHOLS-MATALON, K., TYRING, S. K., MATALON, R. Trends in Enzyme Therapy for Phenylketonuria. **Molecular Therapy**, v.10, p.220-224, 2004.

KINUGASA, T., WATANABE, K., TAKEUCHI, H. Stability of (W/O) Emulsion Drops and Water Permeation Through a Liquid Membrane. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v.25, p.128-133, 1992.

KONZEN, C. Estudo da Técnica de Extração por Membranas Líquidas Surfatantes Aplicada à Separação de Ácido Cítrico. Dissertação de Mestrado. 169p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2000.

LAKSHMINARAYANAIAH, N. **Transport Phenomena in Membranes**. Academic Press, USA. 1969.

LEÃO, Ennio et al. **Pediatria Ambulatorial**. 3<sup>a</sup> ed. Belo Horizonte: Coopmed, 1998. 923p.

LEHNINGER, Albert L. **Fundamentos de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1980. 463p.



LI, W., SHI, Y. Water-permeation Swelling of Emulsion Liquid Membrane. **Separation Science and Technology**, v.28, p.241-254, 1993.

LOPES, D. C. F. Perfil Peptídico e Remoção de Fenilalanina de Hidrolisados de Leite em Pó Desnatado: Tratamento em Solução com Carvão Ativado. Dissertação Mestrado. 90 p. Faculdade de Farmácia da UFMG. Belo Horizonte. 2002

LOPES, D. C. F., DELVINO, F. M., SILVESTRE, M. P. Use of Activated Carbon for Removing Phenylalanine from Reconstituted Skim Milk Powder Hydrolysates. **S.S. Food Sci. Technology**, 2004

LOPES-BANJONERO, L. J.; LARA CALDERON, P.; GALVEZ-MARISCAL, A.; VELASQUEZ-ARELANNNNO, A.; LOPES-MUNGUIA, A. Enzymatic Production of a Low-phenilalanine Product from Shim Milk Powder and Caseinate. **J. Food Sci.**, v.56, n.4, 1991.

MANSUR, M. B. Modelagem e Simulação da Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes Aplicada à Extração de Zinco. Dissertação de Mestrado. 114 p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 1994.

MARR, R. & KOPP, A. Liquid Membrane Technology – A Survey of Phenomena, Mechanisms, and Models. **International Chemical Engineering**. v.22, n. 1, p. 45-52, 1982.

MIKUCKI, B. Metal Extraction with Liquid Surfactant Membranes: The Role of Emulsifying Agent. Dissertação de mestrado. The Pennsylvania State University, 315 p., USA.1984.

MIRA, N. V. M. e MARQUEZ, U. M. L. Importância do Diagnóstico e Tratamento da Fenilcetonúria. **Rer. Saú. Pub.**, v.34, n.1, p. 86-96, 2000.

NAKASHIO, F., GOTO, M., MATSUMOTO, M., IRIE, J., KONDO, K. Role of Surfactants in The Behavior of Emulsion Liquid Membranes – Development of New Surfactants. **Journal of Membrane Science**, v. 38, 1988.

OUTINEN, M. T.; TOSSAVAINEN, O.; HARJU, M.; LINKO, P. Method for Removing Phenilalanine from Proteinaceous Compositions, a Product so Obtained and Use Thereof. ValioOy, Helsink, Finland, Patents US 5547687, A23J3/34b4; A23J3/34C; A23L1/015E2; A61K38101B; A61K38/01D6. 12/09/1994; 20/08/1996.

PATNAIK, P.R. Liquid Emulsion Membranes: Principles, Problems and Applications in Fermentation Processes. **Biotechnology Advances**, v.13, p. 175-208, 1995.

PICKERING, P. J., CHAUDHURI, J. B. Enantioselective Extraction of (D)-phenylalanine from Racemic (D/L)-phenylalanine Using Chiral Emulsion Liquid Membranes. **Journal of Membrane Science**, v.127, p.115-130, 1997.

ROSEN, M. J. **Surfactants and Interfacial Phenomena**. New York: Jonh Wiley & Sons. p.224-248. 1978.

SALUM, A., Estudo da Permeação de Cobalto e da Separação Cobalto/Níquel em Meios Sulfúrico, com Cyanex 272, pela Técnica de Membranas Líquidas Surfataentes. Tese de Doutorado. 258p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 1998.

SANCTIS, D. S. Emulsões para Uso Externo. Revista Racine, v.53. p.53-62, 1999.

SCRIVER, C. ‘R.; KAUFMAN, S.; EISENSMITH, R. C.; WOO, S. L.. The **Hyperphenylalaninemias**. In: SCRIVER, C.R.; BEAUDET, L.; SLY., VALLE, D. eds. *Metabolic and Molecular Bases of Inherited Dieases*. New York: McGraw-Hill. p.1015-1075, 1997.

SHIMIDT, V.S. **Amine Extraction**. 1971. 207 p.

SOARES, Rosângela Del Lama. Hidrolisados Enzimáticos de Leite em Pó Desnatado: Perfil Peptídico e Otimização das Condições de Remoção de Fenilalanina pelo Carvão Ativado. Dissertação Mestrado. 112 p. Faculdade de Farmácia da UFMG. Belo Horizonte. 2003.

STRATHMANN, H. Membrane Separation Process (review). *Journal of Membrane Science*, v.9, p.121-189, 1998.

STRYER, L. **Bioquímica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1992. 881 p.

SUMNER, C. G. **The Theory of Emulsions and their Technical Treatment**. London: J. & A. Churchill Ltd. p.255-296. 1954.

THIEN, M. P. Separation and Concentration of Amino Acids Using Liquid Emulsion Membrane. Tese de Doutorado. 571p. Massachusetts Institute of Technology. 1988.

THIEN, M. P., HATTON, T. A., WANG, D. I. C., Separation and Concentration of Amino acids Using Liquid Emulsion Membranes. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 32, p. 604-615, 1988b.

TRINDADE, M.C., Estudo da Recuperação de Ácido Lático Proveniente do Soro de Queijo pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes. Dissertação de Mestrado. 112p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2002.

TULASI, G. L., KUMAR, S. Amino-acid Extraction Using D2EHPA: New Description of Equilibrium Behavior. **AIChE Journal**, v.45, p.2534-2540, 1999.

VIEIRA, Enio Cardillo; GAZZINELLI, G.; MARES-GUIA, Marcos. **Bioquímica Celular e Biologia Molecular**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1991. 360 p.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3. ed. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 2001.

WAN, Y., ZHANG, X. Swelling Determination of W/O/W Emulsion Liquid Membranes. **Journal of Membrane Science**, v.196, p.185-201, 2002.

WILLARD, Thompson Mainnes. **Genética Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 339p.

WYNGAARDEN, J. B.; SMITH JR., L.H. **Tratado de Medicina Interna**. 16. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. v 1. 1338 p.

YAN, J., PAL, R. Osmotic Swelling Behavior of Globules of W/O/W Emulsion Liquid Membrane. **Journal of Membrane Science**, v.190, p.79-91, 2001.

YAN, N. A Mass Transfer Model for Type-II-facilitated Transport in Liquid Membranes. **Chemical Engineering Science**, v.22, p.3835-3842, 1993.

**ANEXO A.I –  
CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE FENILALANINA NA FASE  
EXTERNA**

### - Cálculo da concentração de fenilalanina na fase externa

De acordo com as instruções no rótulo de uma lata de leite em pó, deve-se acrescentar 26 g do pó em 200 mL de água para obtenção do leite a ser ingerido.

$$\begin{array}{r} 26 \text{ g de leite em pó} \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 200 \text{ mL de água} \\ m_1 \quad \quad \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 100 \text{ mL de água} \end{array}$$

$$m_1 = 13 \text{ g de leite em pó}$$

Tem-se que, segundo o rótulo do mesmo leite em pó, em cada 26 g de pó, 7 g é proteína, assim:

$$\begin{array}{r} 7 \text{ g de proteína} \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 26 \text{ g de leite em pó} \\ m_2 \quad \quad \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 13 \text{ g de leite em pó} \end{array}$$

$$m_2 = 3,5 \text{ g de proteína}$$

Sendo o teor de Phe, em 100 g de proteína, igual a 5,69 g (LOPES, 2002) obtém-se:

$$\begin{array}{r} 5,69 \text{ g de Phe} \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 100 \text{ g de proteína} \\ m_3 \quad \quad \quad \underline{\hspace{10em}} \quad 3,5 \text{ g de proteína} \end{array}$$

$$m_3 = 0,19915 \text{ g de Phe}$$

De acordo com os cálculos apresentados essa massa de Phe, 0,199 g, está presente em , aproximadamente, 100 mL de solução. Assim, estabeleceu-se que a concentração de fenilalanina da fase externa, utilizada nos experimentos referentes às etapas 3 e 4, seria igual a 2,0 g/L.

**ANEXO A.II –  
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE EMULSIFICAÇÃO**

TABELA AII.1- Ensaios de emulsificação.

ENSAIOS DE EMULSIFICAÇÃO							
Tempo de agitação = 5 min			Velocidade de agitação = 13.000 rpm			FM/FI = 3:1	
Ensaio	ECA 4360 (% m/m)	Adogen 464 (% m/m)	1-Decanol (% m/m)	Escaid 110 (% m/m)	Tempo para coalescência (min)	V <sub>FM</sub> (final)	V <sub>FI</sub> (final)
1	0,5	2	0	97,5	19	60	20
2	0,5	2	5	92,5	2	60	20
3	0,5	5	0	94,5	159	60	20
4	0,5	5	5	89,5	2	60	20
5	1	2	0	97	14	60	20
6	1	2	3	94	2	60	20
7	1	2	5	92	2	60	20
8	1	2	7	90	2	60	20
9	1	3	0	96	63	60	20
10	1	3	5	91	2	60	20
11	1	5	0	94	198	60	20
12	1	5	3	91	3	60	20
13	1	5	5	89	3	60	20
14	1	5	7	87	3	60	20
15	1	7	0	92	203	60	20
16	1	7	5	87	4	60	20
17	3	2	0	95	12	60	20
18	3	2	5	90	6	60	20
19	3	5	0	92	203	60	20
20	3	5	5	87	10	60	20
21	5	2	0	93	10	60	20
22	5	2	3	90	10	60	20
23	5	2	5	88	10	60	20
24	5	2	7	11	10	60	20
25	5	3	0	92	12	60	20
26	5	3	5	87	11	60	20
27	5	5	0	90	153	60	20
28	5	5	3	87	22	60	20
29	5	5	5	85	21	60	20
30	5	5	7	83	21	60	20
31	5	7	0	88	183	60	20
32	5	7	5	83	69	60	20



**ANEXO A.III –  
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE PERMEAÇÃO**

TABELA AIII.1- Ensaios de permeação para o parâmetro surfatante.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		%Adogen 464 = 1% m/m		[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L
Razão FM/FI = 3/1		Razão FE/Emulsão primária = 2/1		Velocidade de agitação = 120 rpm		Tempo de permeação = 5 min		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	% m/m Eca 4360	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
1	1	30	150	4,355	0,677	58	50	287
2	2	31	149	3,975	0,669	59	55	262
3	3	33	147	4,100	0,698	58	65	270
4	5	40	140	2,648	0,754	57	100	174
5	7	42	138	3,055	0,793	55	110	201

TABELA AIII.2 - Ensaio de permeação para o parâmetro extratante (% ECA 4360 = 1% m/m).

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 1% m/m	[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L	
Razão FM/FI = 3/1		Razão FE/Emulsão primária = 2/1		Velocidade de agitação = 120 rpm		Tempo de permeação = 5 min		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	% m/ m Adogen 464	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
6	1	33	147	10,076	0,713	64	65	560
7	2	34	146	9,174	0,786	60	70	510
8	3	28	152	7,700	0,807	57	40	428
9	4	40	140	6,840	1,020	50	100	380
10	5	37	143	5,446	0,946	53	85	303
11	6	41	139	5,058	0,962	54	105	281

TABELA AIII.3 - Ensaio de permeação para o parâmetro extratante (% ECA 4360 = 2 % m/m).

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m	[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L	
Razão FM/FI = 3/1		Razão FE/Emulsão primária = 2/1		Velocidade de agitação = 120 rpm		Tempo de permeação = 5 min		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	% m/ m Adogen 464	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
12	1	31	149	3,975	0,669	59	55	262
13	2	38	142	3,305	0,651	62	90	218
14	3	38	142	2,955	0,718	58	90	195
15	4	40	140	2,866	0,729	58	100	189
16	5	40	140	2,785	0,756	56	100	184
17	6	42	138	2,633	0,824	53	110	173

TABELA AIII.4 - Ensaio de permeação para o parâmetro tempo de permeação.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m	% Adogen 464 = 2% m/m	
Razão FM/FI = 2/1		Razão FE/Emulsão primária = 3/1		[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		Velocidade de agitação = 120 rpm		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Tempo de permeação (min)	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
18	2	32	168	7,976	0,707	66	60	409
19	5	32	168	5,980	0,690	67	60	307
20	10	40	160	5,528	0,702	68	100	283
21	15	44	156	6,074	0,720	68	120	311
22	20	46	154	4,662	0,735	68	130	239
23	25	40	160	4,412	0,752	66	100	226

TABELA AIII.5 - Ensaio de permeação para o parâmetro velocidade de agitação.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m	% Adogen 464 = 2% m/m	
Razão FM/FI = 2/1		Razão FE/Emulsão primária = 3/1		Tempo de permeação = 5 min		[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Velocidade de agitação (rpm)	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
24	120	49	161	6,292	0,858	60	63	331
25	150	50	160	6,476	0,840	61	67	341
26	180	53	157	6,256	0,843	61	77	329
27	250	54	156	5,148	0,873	60	80	271

TABELA AIII.6 - Ensaio de permeação para o parâmetro razão de volumes fase membrana / fase interna.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m		% Adogen 464 = 1% m/m
[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		Razão FE/Emulsão primária = 2/1		Velocidade de agitação = 120 rpm		Tempo de permeação = 5 min		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Razão FM/FI	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
28	1/1	38	162	3,508	0,982	58	-5	149
29	3/2	33	159	4,838	0,868	63	3	205
30	2/1	35	152	5,562	0,826	67	31	235
31	5/2	30	153	6,398	0,834	66	31	271
32	3/1	28	152	6,930	0,868	65	40	293

TABELA AIII.7 - Ensaio de permeação para o parâmetro razão de volumes fase membrana / fase interna.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m		% Adogen 464 = 2% m/m
[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		Razão FE/Emulsão primária = 2/1		Velocidade de agitação = 120 rpm		Tempo de permeação = 5 min		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Razão FM/FI	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
33	1/1	44	156	4,230	0,838	65	10	179
34	3/2	37	155	4,686	0,868	64	16	198
35	2/1	30	156	5,638	0,864	64	12	239
36	5/2	27	156	5,980	0,883	64	18	253
37	3/1	24	156	6,246	0,925	62	20	264



TABELA AIII.8 - Ensaio de permeação para o parâmetro razão de volumes fase externa / emulsão primária.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m		% Adogen 464 = 1% m/m
[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		Razão FM / FI = 2		Velocidade de agitação = 120 rpm			Tempo de permeação = 5 min	
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Razão FE/Emulsão primária	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
38	1/1	54	106	3,532	0,664	70	35	181
39	2/1	33	154	6,234	0,749	63	24	320
40	3/1	24	176	7,864	0,862	57	20	403
41	4/1	18	190	9,124	0,883	55	13	468

TABELA AIII.9 - Ensaio de permeação para o parâmetro razão de volumes fase externa / emulsão primária.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m		% Adogen 464 = 2% m/m
[KCl] <sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L		Razão FM / FI = 2		Velocidade de agitação = 120 rpm			Tempo de permeação = 5 min	
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	Razão FE/Emulsão primária	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
42	1/1	68	92	2,568	0,701	72	70	132
43	2/1	36	150	5,530	0,749	64	35	283
44	3/1	26	174	7,642	0,923	54	30	392
45	4/1	20	187	8,920	0,827	59	25	457

TABELA AIII.10 - Ensaio de permeação para o parâmetro concentração molar de KCl.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS								
pH = 9,5		T = 25 °C		[Phe]FE <sub>in</sub> = 2,0 g/L		% ECA 4360 = 2% m/m	% Adogen 464 = 2% m/m	
Razão FM/FI = 2/1		Razão FE/Emulsão primária = 3/1		Tempo de permeação = 5 min		Velocidade de agitação = 120 rpm		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS								
Experimento	[KCl] <sub>FI</sub> (inicial) (mol/L)	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE			
46	0,5	28	172	8,986	0,804	61	40	461
47	1,0	30	170	9,362	0,752	64	50	480
48	2,0	32	168	8,860	0,566	73	60	454
49	3,0	38	162	7,968	0,563	74	90	408

**ANEXO AIV –  
RESULTADOS OBTIDOS NOS ESTUDOS DE REOLOGIA**

**- Metodologia utilizada para determinação da viscosidade da fase membrana**

A viscosidade da fase membrana (viscosidade dinâmica) foi medida através do viscosímetro de Ostwald (FIGURA D.1).

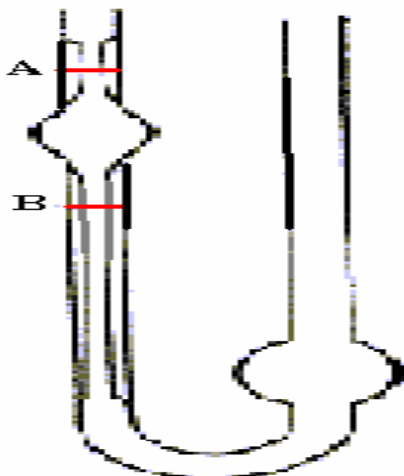


FIGURA D.1 – Viscosímetro de Ostwald.

Esse viscosímetro baseia-se na determinação do tempo gasto para o escoamento do líquido (fluido newtoniano, como é o caso da fase membrana) de um reservatório superior, de volume  $V$  definido, para um segundo reservatório inferior, sob a influência da gravidade, através de um tubo capilar, de raio e comprimento conhecidos. O coeficiente de viscosidade,  $\eta$ , pode ser, então, determinado pela equação de Poiseuille.

$$\eta = \frac{\pi.r^4.\rho.g.h}{8.V.l}t \quad (D.1)$$

Nessa equação,  $r$  é o raio do tubo capilar;  $g$  é a aceleração da gravidade,  $h$  é a diferença de altura entre as superfícies do líquido nos reservatórios superior e inferior,  $\rho$  é a densidade do líquido,  $t$  é o tempo gasto pelo líquido para escoar através do capilar de um reservatório para outro,  $V$  é o volume do reservatório superior e  $l$  é o comprimento do tubo capilar.

Devido à dificuldade da determinação direta da viscosidade absoluta, adotou-se como procedimento a medida da viscosidade em relação a uma substância de referência (viscosidade relativa), no caso a água, em uma dada temperatura. Obtiveram-se os valores de  $\eta$ , medindo-se, no mesmo viscosímetro, os tempos de escoamento de volumes iguais do líquido em estudo e da água, e aplicando-se a equação D.2.

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{(\rho_1 \cdot t_1)}{(\rho_2 \cdot t_2)} \quad (D.2)$$

Os índices 1 e 2, nessa equação, referem-se ao fluido em estudo e à água, respectivamente. Utilizou-se a água como padrão, devido à grande precisão dos parâmetros  $\eta$  e  $\rho$  para essa substância, para várias condições, disponíveis na literatura.

TABELA AIV.1 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de surfatante.

<b>% m/m ECA 4360</b>	<b>Densidade da FM</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Viscosidade da FM (cP)</b>
1	0,818	472,0	21,6	1,977
2	0,819	491,0	21,6	2,059
3	0,820	502,5	21,6	2,110
5	0,821	546,5	21,6	2,297
7	0,823	597,5	21,6	2,518

\* Condições: 1 % m/m de Adogen 464, 3% m/m de 1-Decanol.

TABELA AIV.2 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de extratante.

<b>% m/m Adogen 464</b>	<b>Densidade da FM</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Viscosidade da FM (cP)</b>
1	0,818	466,9	22,5	1,955
2	0,820	496,3	20,5	2,083
3	0,820	513,4	21,0	2,155
4	0,821	536,7	21,0	2,256
5	0,821	554,8	21,0	2,332
6	0,821	563,7	22,0	2,369

\* Condições: 1 % m/m de ECA 4360, 3% m/m de 1-Decanol.

TABELA AIV.3 – Medida da viscosidade da fase membrana para experimentos variando a concentração de extratante.

<b>% m/m Adogen 464</b>	<b>Densidade da FM</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Viscosidade da FM (cP)</b>
1	0,819	483,5	22,3	2,027
2	0,820	535,5	20,4	2,248
3	0,821	557,0	20,0	2,341
4	0,822	570,0	20,4	2,399
5	0,822	578,5	21,4	2,435
6	0,822	582,5	22,3	2,451

\* Condições: 2 % m/m de ECA 4360, 3% m/m de 1-Decanol.



**ANEXO AV –  
RESULTADOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE RECICLAGEM DA  
FASE MEMBRANA**

TABELA AV.1 - Ensaios de permeação utilizando fase membrana reciclada.

CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS									
<b>pH = 9,5</b>	<b>T = 25 °C</b>	<b>[Phe]FE<sub>in</sub> = 2,0 g/L</b>		<b>% ECA 4360 = 2% m/m</b>		<b>% Adogen 464 = 2% m/m</b>		<b>[KCl]<sub>FI (inicial)</sub> = 2,0 mol/L</b>	
<b>Razão FM/FI = 2/1</b>		<b>Razão FE/Emulsão primária = 3/1</b>			<b>Tempo de permeação = 5 min</b>		<b>Velocidade de agitação = 120 rpm</b>		
RESULTADOS EXPERIMENTAIS									
Experimento	Triplicata	Volume final (mL)		[Phe] fin (g/L)		% Extração Phe	Massa Extraída (g)	% Inchamento	Índice de Enriquecimento
		FI	FE	FI	FE				
1	a	51	212	6,716	0,643	69	0,306	35	342
	b	53	210	7,166	0,651	69	0,305	40	365
	c	52	212	7,290	0,668	68	0,300	37	371
2	a	49	214	10,648	0,758	57	0,160	29	642
	b	49	214	10,198	0,741	57	0,164	29	615
	c	42	205	10,034	0,762	56	0,167	28	605
3	a	36	174	10,648	0,807	53	0,157	20	642
	b	37	173	10,596	0,844	51	0,152	23	639
	c	34	172	10,240	0,803	53	0,159	21	618

