

MAURO CAMPOS TRINDADE

**ESTUDO DA RECUPERAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO PROVENIENTE
DO SORO DE QUEIJO 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^a Dr^a Tânia Lúcia Santos Miranda

Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG
2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA QUÍMICA

“Estudo da Recuperação de Ácido Láctico Proveniente do Soro de Queijo pela
Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes”

Autor: Mauro Campos Trindade
Orientadora: Prof^a Dr^a Tânia Lúcia Santos Miranda

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
2002

À minha amada Alessandra Duarte
e ao meu querido Heitor.

AGRADECIMENTOS

Ao departamento de Engenharia Química pela oportunidade de aprendizado, crescimento pessoal e desenvolvimento deste trabalho. Agradeço em especial a Tânia Lúcia pela confiança e orientação. Agradeço também aos Professores Eloízio Ribeiro e Adriane Salum pelas sugestões durante a apresentação da proposta do trabalho.

A Deus, a quem eu peço apenas a sabedoria de sempre me lembrar de agradecer.

RESUMO

A busca de tecnologias eficientes e de baixo impacto ambiental tem norteado muitas pesquisas. Nesse sentido, este trabalho apresenta um estudo da extração do ácido láctico por meio da técnica de separação denominada membranas líquidas surfatantes. Além disto, é feita uma avaliação da possibilidade do emprego desta técnica na separação de ácido láctico contido em soro de queijo “in natura” e em mostos fermentados a partir de soro de queijo. Objetivando a determinação das melhores condições de extração de ácido láctico por membranas líquidas surfatantes, foram estudadas as variáveis concentração de extratante (alamina 336), pH inicial da fase externa, tempo e temperatura de extração, além da concentração inicial de ácido láctico na solução de alimentação (fase externa). A metodologia adotada para a condução dos estudos de extração envolveu duas etapas. A primeira delas envolveu a realização de experimentos fatoriais que tinham como variáveis-resposta a concentração de ácido láctico na solução de recuperação (fase interna) e o inchamento dessa fase após a extração. A segunda etapa dos estudos de extração foi realizada com a obtenção e interpretação de curvas de comportamento frente às variáveis-chave do processo de extração de ácido láctico. Nas condições utilizadas no planejamento de experimentos, a melhor condição para a recuperação do ácido láctico foi observada com o pH = 2,5, tempo = 7 minutos, concentração de extratante = 15% v/v e temperatura = 40 °C. Sob essas condições, foram obtidas concentrações de ácido láctico na solução de extração (fase interna) iguais a 0,44 mol/L e inchamento dessa fase igual a 22 % v/v. As curvas de comportamento mostraram um grande efeito das variáveis tempo, pH, concentração de extratante e concentração inicial de ácido láctico no processo de extração por membranas líquidas surfatantes.

ABSTRACT

The use of efficient separation techniques with low environmental impact has been investigated in several researches. In this context, this work presents a study of the extraction of lactic acid using the liquid surfactant membrane technique. This technique was used to separate lactic acid from cheese's whey and broth leavend from the cheese's whey. The following variables has been investigated in order to find the best operational conditions to extract lactic acid by liquid surfactant membranes: concentration of extractant (Alamina 336), initial pH of the external phase, permeation time, temperature of extraction and initial concentration of lactic acid in the feed solution (external phase). The methodology adopted in this study to carry out the extraction experiments has involved two steps. In the first step, factorial design of experiments has been used to investigate the lactic acid recovery in the internal phase and the swelling of internal droplets after extraction. The second step of the study has involved the analysis of the influence of key parameters on the behaviour of the extraction of lactic acid. According to the study, the best condition to recover lactic acid has been found at pH = 2.5, permeation time = 7 minutes, extractant concentration = 15% v/v and temperature = 40°C. Extraction experiment in this operational condition lead the concentration of lactic acid in the internal phase to 0.44 mol/L and swelling of droplets of 22% v/v. The analysis of key parameters has shown that variables permeation time, pH, extractant concentration and initial concentration of lactic acid in the feed phase are strongly correlated in the extraction process of lactic acid by liquid surfactant membranes. Other favourable operational conditions have been found in this analysis for the extraction of lactic acid.

ÍNDICE

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÍNDICE.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
NOMENCLATURA.....	ix
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS	6
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 - Soro de Queijo	7
3.1.1 - USO DO SORO	8
3.1.2 - DISPOSIÇÃO DO SORO	9
3.2 - Ácido Lático	12
3.2.1 - USOS DO ÁCIDO LÁTICO.....	15
3.2.2 - PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO	16
3.2.2.1 - Fermentação	17
3.2.2.2 - Síntese	22
3.3 - Formas de Separação de Ácido Lático	25
3.3.1 - PRECIPITAÇÃO	25
3.3.2 - DESTILAÇÃO	26
3.3.3 - EXTRAÇÃO POR SOLVENTE.....	27
3.3.4 - ELETRODIÁLISE.....	29
3.3.5 - OSMOSE REVERSA.....	31
3.4 - A Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes	33
3.4.1 - MECANISMOS DE PERMEAÇÃO	37
3.4.2 - FATORES IMPORTANTES NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO POR MLS	42
3.4.3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A TÉCNICA DE MLS	47
3.5 - Métodos Analíticos para a Determinação de Ácido Lático	48

4 - METODOLOGIA.....	50
4.1 - Definição do Sistema de Extração.....	50
4.2 - Procedimento Experimental.....	51
4.3 - Materiais e Equipamentos Utilizados	56
4.4 - Planejamento dos Experimentos.....	57
4.5 - Estudo do Comportamento do Sistema de Extração	59
4.6 - Métodos Analíticos.....	60
4.6.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO	60
4.6.2 - MEDIDA DA QUEBRA DA FASE INTERNA.....	61
4.6.3 - MEDIDA DO INCHAMENTO DA FASE INTERNA.....	61
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1 - EXPERIMENTOS FATORIAIS	62
5.1.1 - ANÁLISE DO EXPERIMENTO FATORIAL PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO NA FASE INTERNA.....	63
5.1.2 ANÁLISE DO EXPERIMENTO FATORIAL PARA O INCHAMENTO DA FASE INTERNA	69
5.1.3 - DEFINIÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO	72
5.2 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO SISTEMA DE EXTRAÇÃO	74
5.2.1 - TEMPO DE PERMEAÇÃO	75
5.2.2 - pH DA FASE EXTERNA.....	77
5.2.3 - CONCENTRAÇÃO DO EXTRATANTE.....	79
5.2.4 - CONCENTRAÇÃO INICIAL DE ÁCIDO LÁTICO NA FASE EXTERNA	81
5.3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
6 - CONCLUSÃO.....	87
7 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	90
8 - REFERÊNCIAS	92

ANEXO A - Método de Análise de ácido Lático por Espectrometria	99
A.1 - Procedimento de Análise	99
A.2 - Considerações sobre o Método	100
ANEXO B – Respostas Obtidas nos Ensaio Realizados	101
B.1 - Resultados Estatísticos dos Experimentos Fatoriais	103
B.1.1 - Avaliação da Concentração de Ácido Lático na Fase Interna	103
B.1.2 - Avaliação do Inchamento da Fase Interna.....	105

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama esquemático de uma emulsão de membrana líquida.	2
Figura 2: Formas espaciais dos isômeros do ácido láctico.....	14
Figura 3: Representação de uma membrana líquida surfatante.	34
Figura 4: O processo MLS.	35
Figura 5: Perfil de concentração através de uma membrana líquida plana.	38
Figura 6: Mecanismo de transporte facilitado simples com reação química.	41
Figura 7: Mecanismo de co-transporte.	41
Figura 8: Mecanismo de contra-transporte.	42
Figura 9: Representação da etapa de permeação e das características do reator de extração.	53
Figura 10: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS. Variável resposta: concentração de ácido láctico na fase interna.	64
Figura 11: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS, segundo modelo de planejamento. Variável resposta: concentração de ácido láctico na fase interna..	65
Figura 12: Gráfico cubo para análise da interação entre concentração de extratante, pH e temperatura na extração de ácido láctico por MLS..	65
Figura 13: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e temperatura na concentração de ácido láctico na fase interna em diferentes valores de pH.....	66
Figura 14: Gráfico dos efeito principais da concentração de extratante, tempo, pH e temperatura na concentração de ácido láctico na fase interna.....	69
Figura 15: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS. Variável resposta: porcentagem de inchamento da fase interna.	70
Figura 16: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e tempo na porcentagem de inchamento da fase interna em diferentes valores de pH.	71

Figura 17: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e a temperatura na porcentagem de inchamento da fase interna.....	71
Figura 18: Efeito do tempo de permeação no processo de extração de ácido láctico.	75
Figura 19: Efeito do pH inicial da fase externa no processo de extração de ácido láctico..	77
Figura 20: Efeito da concentração de extratante na fase membrana no processo de extração de ácido láctico..	80
Figura 21: Efeito da concentração inicial de ácido láctico na fase externa no processo de extração..	82
Figura 22: Curva de nível para o estudo da influência do tempo de permeação e pH da fase externa na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna.	84
Figura 23: Curva de nível para o estudo da influência da concentração de extratante e pH da fase externa na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna.....	85
Figura 24: Curva de nível para o estudo da influência da concentração de extratante e tempo de permeação na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna.....	85

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1: Composição do soro doce e do soro ácido.</u>	8
<u>Tabela 2: Constituição do sistema de extração.</u>	50
<u>Tabela 3: Condições experimentais típicas.</u>	51
<u>Tabela 4: Fatores e níveis adotados para a condução da investigação</u>	58
<u>Tabela 5: Valores adotados nos ensaios realizados no ponto central.</u>	59
<u>Tabela 6: Fatores e níveis adotados no planejamento de experimento</u>	62
<u>Tabela 7: Melhor condição de operação do processo de extração de ácido láctico de acordo com os experimentos fatoriais para a concentração de ácido láctico na fase interna e inchamento da fase interna.</u>	72
<u>Tabela 8: Valores adotados nos ensaios realizados no ponto central.</u>	73
<u>Tabela 9: Condições utilizadas na geração das curvas de comportamento do sistema de extração.</u>	75
<u>Tabela 10: Padrões usados na construção da curva de calibração</u>	100
<u>Tabela 11: Resultados dos ensaios realizados para condução do planejamento de experimentos.</u>	101
<u>Tabela 12: Resultados de concentração de sódio medida nos ensaios para condução do planejamento de experimentos.</u>	102
<u>Tabela 13: Resultados dos ensaios para gerar as curvas de comportamento do sistema de extração.</u>	106

NOMENCLATURA

A/O	Emulsão formada por fase aquosa dispersa em uma fase orgânica
A/O/A	Emulsão múltipla formada pela dispersão de uma emulsão A/O em uma fase aquosa
Aq	Fase aquosa
C	Concentração final do produto de fermentação
Conc FI	Concentração de ácido láctico na FI em mol/L
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DOE	Design of experiments ou planejamento de experimentos
[extr]	Concentração de extratante em % p/p
FDA	Food and Drug Administration
FE	Fase externa
FEAM	Fundação Estadual do Meio Ambiente
FI	Fase interna
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
MLS	Membrana líquida surfatante
NAD	Nicotina adenina dinucleotídio
O/A	Emulsão formada por uma fase orgânica dispersa em uma fase aquosa
Org	Fase orgânica
PVC	Cloreto de polivinila
Q	Produtividade volumétrica do produto de fermentação
Y	Rendimento do produto de fermentação em termos de massa de substrato

1 - INTRODUÇÃO

Uma relação harmoniosa entre processos produtivos e a proteção do meio ambiente vai além das relações legais. Hoje ela representa uma oportunidade de negócios que elimina desperdícios, gera empregos, torna empresas mais competitivas e assegura o desenvolvimento com o uso sustentável dos recursos naturais.

Assim, a utilização de tecnologias limpas vem substituir o já ultrapassado conceito de controle da poluição, exigindo mudanças nos processos e produtos de forma a evitar a geração de resíduos. O princípio da tecnologia limpa tem como objetivo a satisfação das necessidades da sociedade por produtos que sejam fabricados com materiais e processos que não ofereçam risco à biodiversidade do planeta. Desta maneira, existe uma crescente preocupação para a redução do lançamento de resíduos industriais ao meio ambiente e economia no uso de materiais, água e energia.

Neste sentido, os processos de separação por membranas líquidas, que combinam as etapas de extração e reextração de solutos em um único estágio, têm despertado grande atenção dos pesquisadores. Estudos realizados por Patnaik (1995), Hong e Yang (1994), Draxler e Marr (1986) e Kakoï e colaboradores (1996) entre outros mostram a possibilidade de recuperação de muitas espécies com baixo custo de instalação e operação, principalmente ao que concerne ao consumo de matérias-primas e energia, com a técnica de membranas líquidas surfatantes (MLS).

Uma membrana líquida é uma barreira líquida, geralmente uma fase orgânica, que separa duas fases aquosas. A fase aquosa mais externa contém a espécie (molécula ou íon) desejada, enquanto a fase aquosa interna, também chamada fase receptora, é o meio onde será recuperada esta espécie. Esta emulsão múltipla, que pode ser representada de acordo com a Figura 1, é formada primeiramente pela dispersão da fase interna na fase membrana. Em seguida, a

emulsão primária formada é dispersada sob agitação na fase externa dando origem a emulsão múltipla (Chaudhuri & Pyle, 1992a). Após a adição à fase externa, a emulsão primária toma a forma de glóbulos de fase membrana, que contém em seu interior gotículas da fase interna, dispersos na fase externa contínua de acordo com o representado na Figura 1.

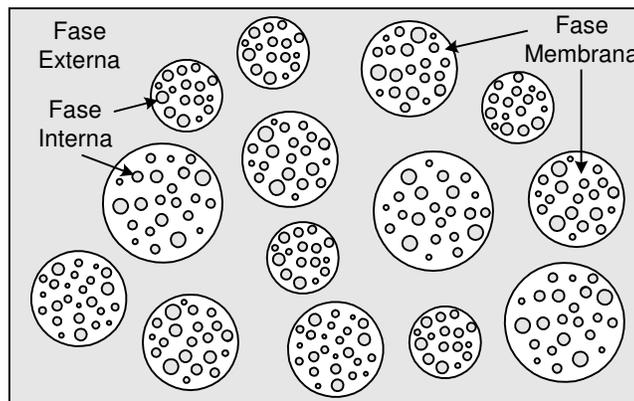


Figura 1: Diagrama esquemático de uma emulsão de membrana líquida.

Além de baixo custo de materiais e energia, a técnica MLS possui muitos outros atrativos. Uma das mais atraentes vantagens da MLS é a elevada especificidade de separação que pode ser conseguida pelo uso de uma fase membrana e transportadores apropriados para condução do soluto desejado da fase externa para a fase interna. Outro atrativo é a alta eficiência do processo, pois é possível concentrar, em pouco tempo e com alto percentual de remoção, solutos em soluções diluídas sem a necessidade de qualquer tratamento prévio. Além disto, na técnica de MLS são obtidas reduzidas emissões de efluentes como conseqüência da utilização de membranas imiscíveis, e recicláveis no processo, com a fase de alimentação. Esta característica evita que a fase externa seja contaminada e precise de tratamento para descarte ou reutilização (Pickering & Southern, 1997).

Por todas essas vantagens, a técnica de MLS tem ganhado importância como uma alternativa para substituição dos processos tradicionais de extração de metais, separação de ácidos orgânicos, aminas e produtos farmacêuticos, além do tratamento de efluentes industriais (Rousseau, 1987).

Posto isto, é fácil perceber que a recuperação de produtos de valor econômico como o ácido láctico a partir do soro de queijo, um subproduto das indústrias de laticínios com considerável potencial poluidor, através de uma técnica com reduzido consumo de materiais e energia, como é o caso da membrana líquida surfatante, se encaixa perfeitamente nos conceitos adotados para tecnologia limpa. Esta constatação se constitui, assim, em uma motivação para o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa sobre a extração do ácido láctico.

A origem do soro deve ser analisada dentro do contexto do setor lácteo, pois permite uma compreensão dos fatores técnicos e econômicos associados com a sua disposição para o uso. Nessa análise, é possível perceber que há uma grande variedade de produtos nas indústrias de laticínios, que abrange desde o processamento de leite até a fabricação de produtos mais elaborados, tais como queijos, requeijão, cremes, sorvetes, leite em pó, leite condensado, alimentos infantis e outros (Minas Ambiente, 1998b).

De maneira geral, a taxa de crescimento da produção de leite, o principal produto lácteo, é baixa, 1 a 2% por ano (Diagnóstico, 1997; Nofal & Wilkinson, 2000). Deste modo, a produção mundial de leite nos principais países produtores em 2000 atingiu $4,83 \times 10^8$ toneladas, com um crescimento inferior a 2% sobre o ano anterior (EMBRAPA). A principal razão para o reduzido crescimento é que 65% da produção de leite se concentra nos países desenvolvidos, que operam no limite das restrições produtivas das empresas e do crescimento do mercado.

O leite fluido e os derivados frescos de leite possuem grande limitação para a comercialização, pois apresentam elevada perecibilidade. Os elevados custos de transporte e de estocagem, bem como os grandes riscos de perdas impõem limites ao comércio mundial de leite fluido e outros produtos. Estes fatores fazem com que o comércio mundial de produtos lácteos seja crescente principalmente de derivados concentrados ou desidratados de leite e queijos, que possuem custos de transporte e riscos de perdas menores que os derivados frescos de leite (Diagnóstico, 1997).

Assim sendo, os queijos representam um dos principais produtos lácteos consumidos em todo o mundo. Do total de leite produzido pelos principais países produtores em 1999, 87% em massa foi consumido sob a forma de leite fluido, enquanto 7% foi consumido na forma de queijos ou requeijão. O restante da produção de leite foi consumido na forma de leite em pó (3%) e manteiga ou outras matérias gordas (3%) (EMBRAPA).

Nos dias atuais, praticamente todos os países do mundo produzem queijos. Esta produção está diretamente ligada a condições de clima, disponibilidade de insumos e pastagens, nível cultural e social e até mesmo políticas econômicas desenvolvidas pelos governos desses países.

Os principais produtores de queijo são a União Européia e os EUA, que juntos são responsáveis por 76% da produção mundial de queijo. Os EUA são o maior produtor de queijo do mundo, respondendo por 28,5% da produção mundial, seguidos da França (13,3%), Alemanha (8,3%) e Itália (7,9%). Por possuírem excepcionais condições climáticas e tecnológicas, os países da União Européia se destacam dos demais pela variedade e excelência de seus produtos.

Associados com a produção de queijos, a produção de soro em pó e lactose nos EUA é a mais significativa do mundo. O total da produção americana de soro em pó em 1995 foi de 870 mil toneladas, em torno de 25% da produção mundial, das quais 20% são exportados. O soro e a lactose, da mesma forma que o ácido láctico, passaram a se tornar ingredientes cada vez mais importantes nos produtos lácteos e outros alimentos. Os EUA possuem vantagens neste mercado tanto em função da grande produção de queijo como também devido à existência neste país de tecnologia para a concentração e aproveitamento dos constituintes do soro (Nofal & Wilkinson, 2000).

Na América Latina, os maiores produtores de queijo são o Brasil e a Argentina, Estes dois países são responsáveis pela quase totalidade da produção do MERCOSUL e por considerável parte da produção da América Latina. A

produção brasileira de queijos em 1998 foi de 425 mil toneladas, que correspondeu a 3,5% da produção mundial, enquanto a produção argentina foi de 420 mil toneladas (EMBRAPA).

Aproximadamente, 75 a 85% do volume do leite destinado à fabricação de queijos resultam em soro. Por apresentar enorme efeito poluidor, demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 30000 a 60000 mg/L de O₂, o soro pode provocar sérios problemas ambientais, principalmente quando descartado de forma indevida em cursos d'água. O problema ambiental associado com a disposição do soro é preocupante não só pelo seu potencial poluidor, que pode ser quantificado pela DBO, mas também pelo expressivo volume produzido, estimado em 2×10^9 litros a partir da produção nacional de $4,5 \times 10^5$ toneladas de queijo em 2000 (Braile & Cavalcanti, 1979; Minas Ambiente, 1998b).

O que motiva ainda mais a condução deste projeto é a enorme aplicação para o ácido láctico descrita na literatura, que está sendo impulsionada pelo recente desenvolvimento de polímeros biodegradáveis produzidos a partir do ácido láctico puro ou em combinação com outros polímeros. Um estudo detalhado das propriedades e usos do ácido láctico, bem como as formas de produção, serão apresentadas na revisão bibliográfica, item 3.

2 - OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho proposto é o estudo do processo de extração de ácido láctico em uma solução aquosa através da técnica de membrana líquida surfatante, no sentido de se obter informações para a separação de ácido láctico presente no soro “in natura” e no mosto fermentado a partir do soro de queijo.

Especificamente, os objetivos deste trabalho são: (i) Estudo, através da utilização da ferramenta estatística planejamento de experimentos, das melhores condições de operação das variáveis concentração de extratante, tempo de permeação, temperatura de permeação e pH inicial da fase externa no processo de extração de ácido láctico. (ii) Estudo do comportamento do sistema de extração por MLS para as variáveis tempo e temperatura de permeação, pH inicial da fase externa e concentração de ácido na fase externa sobre o percentual de extração de ácido láctico e o inchamento da fase interna.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - Soro de Queijo

O soro de queijo, também conhecido como soro de leite, é o líquido residual da elaboração do queijo. A composição do soro varia com a qualidade do leite utilizado e com o tipo de queijo produzido. Também a forma como é feita a coagulação do leite, que pode ser tanto por acidificação como pela adição de coalho (constituído de enzimas de origem bovina), produz significativa variação da composição do soro, principalmente no que se refere à concentração de cálcio e de outras substâncias minerais presentes originalmente no leite (Madrid et al, 1995).

O soro chamado doce, que é obtido pela coagulação com coalho, é o mais comum e contém, além de cálcio, caseinato, proteínas, lactose, lipídeos e sais minerais, conforme apresentado na Tabela 1. As proteínas contidas no soro – em sua maior parte globulina e albumina – são de alto valor nutricional, constituindo-se de matéria-prima para produção de enzimas, anticorpos e outras substâncias necessárias ao metabolismo humano. Os sais minerais contidos no soro são essencialmente os mesmos presentes no leite, entre os mais importantes estão os de cálcio, magnésio e fósforo (Madrid et al, 1995).

O soro pode criar um grave problema ambiental em função da grande carga orgânica ainda remanescente. Este problema ocorre principalmente em pequenas queijarias que descartam o soro nos cursos d'água ou na rede de coleta de esgoto municipal sem qualquer tratamento prévio. Para o uso economicamente viável do soro de queijo, é necessário, além de elevados custos tecnológicos e de equipamentos, grandes quantidades de soro – mais de 200 000 L/dia (Madrid et al, 1995). Esta realidade é explicada pela necessidade de plantas industriais com tamanhos que permitam economia na escala de produção e a obtenção de derivados do soro com preços competitivos no mercado.

Tabela 1: Composição do soro doce e do soro ácido.

Constituintes	Tipo de Soro	
	Soro doce (%p/p)	Soro ácido (%p/p)
Água	93-94	94-95
Lipídio	0,3-0,5	0,3-0,6
Proteína	0,8-1,0	0,8-1,0
Lactose	4,5-5,0	3,8-4,2
Sais minerais	0,5-0,7	0,7-0,8
Ácido láctico	0,1	0,1-0,8

Fonte: Madrid et al, 1995

Algumas soluções possíveis para contornar o problema de escala na produção de soro seriam a utilização do mesmo para alimentação animal, o que já ocorre, principalmente com suínos. Esta solução, apesar, de aparentemente simples e pouco dispendiosa, possui o inconveniente de se perder o potencial econômico contido no soro de queijo, principalmente no que se refere às proteínas, lactose e lactatos presentes.

Uma outra solução seria a união das pequenas queijarias de uma determinada região com o propósito da utilização do soro produzido em uma instalação única, conforme uma cooperativa, e assim conseguirem não só uma quantidade de soro que permita o processamento, mas também a obtenção de capital para compra de equipamentos e desenvolvimento de tecnologia.

3.1.1 - USO DO SORO

As técnicas existentes para o aproveitamento do soro têm como objetivo a obtenção de diversos produtos finais, tais como produtos de fermentação, ricota e outros queijos, bebidas lácteas e nutricionais, soro concentrado e em pó, concentrado protéico, lactose e caseína.

O soro pode ainda ser usado como substrato para produção de extrato de leveduras, usado como realçador do sabor de alimentos em substituição ao monoglutamato de sódio (Révillion et al, 2000). Uma outra possibilidade é o aproveitamento da lactose contida no soro como substrato para leveduras na produção de etanol. Desde 1930, o soro é empregado industrialmente para produção de ácido láctico e lactatos através de fermentação, sendo hoje o substrato mais comum para esse fim, conforme discutido no item 3.3.1 (Shreve & Brink, 1977). O soro pode ainda ser fermentado como alternativa para a redução de sua carga poluidora, que produz como subprodutos biogás e biomassa, podendo ser utilizados como fonte de energia (Ponsano & Castro-Gómes, 1995).

3.1.2 - DISPOSIÇÃO DO SORO

O termo disposição do soro não pode ser confundido com utilização do soro. Assim, entende-se como disposição do soro o lançamento sobre o campo, oxigenação em lagoas ou sistemas de tratamento de efluentes, bombeamento para um curso d'água ou outra destinação semelhante (Kosikowski, 1979).

Em países desenvolvidos industrialmente, a disposição do soro está se tornando menos comum. Porém, em muitos países, entre eles o Brasil, a disposição ainda representa a mais freqüente destinação dada ao soro de queijo (Minas Ambiente, 1998a; Torquetti et al, 1999).

No Brasil, ainda é comum o lançamento dos efluentes das indústrias de laticínios contendo soro diretamente nos cursos d'água sem qualquer tratamento prévio. Entretanto, devido a maior atuação dos órgãos ambientais, pressionados pela maior reivindicação por parte da sociedade, o lançamento desses efluentes sem tratamento é cada vez menos utilizado pelas indústrias.

Esta mudança de comportamento é notadamente percebida no estado de Minas Gerais, maior produtor de queijo e conseqüentemente de soro do país, onde a Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM) tem aumentado a fiscalização e

buscado, junto aos produtores, soluções para a destinação do soro, tendo como objetivo a preservação ambiental conciliada com o desenvolvimento econômico.

Quando o soro é incorporado aos efluentes líquidos de um laticínio, ele deixa de ser considerado por suas qualidades químicas e passa a ser analisado apenas por seu potencial poluidor em função do seu volume e carga orgânica. As outras fontes de efluentes líquidos em uma indústria de laticínio são águas de limpeza de equipamentos e piso; perda de leite em ajustes de equipamentos; vazamento em linhas de transporte; erros operacionais dos processos e subprodutos de processos como o leitelho, um subproduto da elaboração da manteiga.

Apesar da elevada biodegradabilidade dos efluentes de laticínios, o tratamento biológico desses efluentes não é simples devido à elevada carga orgânica, deficiência de nitrogênio e altas variações nos fluxos e composições químicas das águas residuárias dos processos produtivos dos laticínios (Braile & Cavalcanti, 1979; Danalewich et al, 1995; Erguder et al, 2001).

O tratamento de efluentes ricos em matéria orgânica, como é o caso dos efluentes dos laticínios que contêm soro de queijo, é obtido através da utilização de processos aeróbicos, anaeróbicos ou de arranjos contendo processos aeróbicos e anaeróbicos. O objetivo do tratamento é a remoção da matéria orgânica presente no efluente líquido, que é feita por intermédio de transformações bioquímicas conduzidas por microrganismos em condições ambientais e nutricionais favoráveis. O processo de tratamento é realizado pelo contato entre os organismos, em sua maior parte bactérias, e a matéria orgânica presente no efluente, que se torna substrato para o desenvolvimento destes microrganismos (Minas Ambiente, 1998a).

Os processos anaeróbicos e aeróbicos são definidos em função das condições de oxigenação do meio líquido, que dará condições mais favoráveis ao desenvolvimento de organismos, anaeróbicos e aeróbicos, mais aptos a se desenvolverem no meio fornecido. Na prática, procura-se combinar os processos anaeróbicos e aeróbicos, como ocorre nas lagoas facultativas, de acordo com as

características do efluente e de modo a obter aumento de eficiência e redução dos custos a partir dos recursos disponíveis. É possível ainda, o uso de sistemas de tratamento em série, que utilizam dois reatores anaeróbicos ou aeróbicos, e sistemas conjugados, que fazem uso de um sistema anaeróbico, seguido de um tratamento aeróbico.

Apesar de solucionar o problema legal associado ao lançamento do soro sem tratamento em cursos d'água, a disposição do soro pelos métodos de tratamento de efluentes fornece produtos com baixo ou nenhum valor econômico. Desta maneira, o tratamento do soro se constitui apenas em uma fonte de trabalho e custo, que são refletidos diretamente nos preços dos produtos para o consumidor.

Alguns benefícios podem ser conseguidos com o soro quando este é lançado sobre o pasto ou terras cultivadas. Entretanto, esta prática não pode ser conduzida por um longo período, pois com o tempo, grandes depósitos de sais podem ocorrer, o que reduz a fertilidade das terras e compromete o crescimento do pasto ou da colheita. Assim, há a necessidade de grandes áreas disponíveis para o recebimento do soro, além do cuidado com agentes patogênicos que podem se desenvolver no soro antes do lançamento ao solo (Kosikowski, 1979; Minas Ambiente, 1998a).

Tradicionalmente, o soro "in natura" é utilizado na alimentação e como substituto de água para bovinos e, principalmente, suínos. No Brasil, esta prática ainda é muito difundida, sendo o soro recebido pelos produtores rurais, que geralmente possuem criação de bovinos leiteiros associados com suínos, quando entregam o leite nas cooperativas.

Além de uma destinação de reduzido impacto ambiental, a utilização do soro pode prover uma parte significativa da nutrição dos animais e redução do consumo de água nos criatórios. Porém, o uso de soro "in natura" na alimentação animal é pouco explorado em sua potencialidade, sendo utilizado de forma rudimentar na maioria das propriedades rurais, apesar de muito vantajoso

segundo muitos estudos. De acordo com Schingoethe, citado por Kosikowski (1979), ruminantes podem adquirir até 30% da dieta em matéria seca como soro líquido, enquanto suínos podem receber até 20% da matéria seca da sua dieta a partir do soro líquido.

Entretanto, é necessário que as fazendas estejam próximas das indústrias para que o soro possa ser utilizado de forma econômica para a alimentação animal. Caso contrário, os custos de transporte tornam o soro uma opção não atrativa (Kosikowski, 1979).

Outras alternativas para a utilização do soro de queijo vêm sendo estudadas por diversos pesquisadores. Estas alternativas tentam responder ao interesse da utilização de forma econômica da grande quantidade de soro produzida pela indústria de laticínios e a necessidade de redução do efeito poluidor associado aos efluentes industriais contendo soro.

O grande problema ambiental associado ao soro é causado pela elevada concentração de matéria orgânica presente, essencialmente constituída de lactose, proteína e ácido láctico, que confere ao soro demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 30000 a 60000 mg/L de O₂. A matéria orgânica presente no soro pode ser plenamente aproveitada em processos integrados que permitam a recuperação das proteínas, de elevado valor econômico e nutricional, por ultrafiltração. O permeado do processo de separação das proteínas, que contém praticamente toda a lactose e ácido láctico contidos no soro, pode ser fermentado por bactérias para a produção de ácido láctico. Assim, os efluentes da indústria de queijos podem gerar subprodutos de elevado valor agregado, proteínas e ácido láctico, além de possibilitar a redução da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 70 a 90 % (Cowan e Ho, 1987; Ponsano, 1995).

3.2 - Ácido Láctico

O ácido láctico – ácido 2-hidroxi-propanóico – foi descoberto em 1780 pelo químico sueco C. W. Scheele (Datta,1995), que, em seus trabalhos, o isolou

como um concentrado impuro a partir do leite ácido. Na época da descoberta, muitos cientistas suspeitaram que a substância descoberta por Scheele fosse, na verdade, uma mistura de compostos já conhecidos. Porém, outro químico sueco, J. Berzelius, repetiu os experimentos de Scheele e concluiu que o ácido láctico era um composto simples. Berzelius encontrou ainda o ácido láctico no leite fresco, carne bovina, no sangue e em outros fluidos de origem animal (Elvers,1990).

Em 1817, o químico alemão J. Vogel provou a identidade e a composição química do ácido descoberto por Scheele. Em 1839, E. Fremy produziu o ácido láctico pela fermentação de carboidratos como a sacarose, lactose, manitol, amido e dextrina. A produção industrial do ácido láctico se estabeleceu em Littleton, Massachussets, em 1881 por C. E. Avery (Elvers et al, 1990; Kirk & Othmer, 1950).

Quanto à estrutura, o ácido láctico é um ácido alfa-hidroxi simples com um carbono assimétrico. Assim, o ácido láctico possui duas formas enantioméricas com atividade ótica, ou seja, duas formas que são capazes de desviar o sentido da rotação do plano de polarização da luz. Um dos enantiômeros – chamado dextrógiro – desvia a luz polarizada para direita, enquanto o outro enantiômero – chamado levógiro – desvia a luz polarizada para a esquerda. As formas dextrógira e levógira do ácido láctico são chamadas de isômeros espaciais, ou estereoisômeros, pois elas diferem entre si apenas pela maneira pela qual os átomos que compõem o ácido láctico estão dispostos no espaço, mas são idênticas no que se refere à ordenação dos átomos e às ligações atômicas presentes (Morrison & Boyd, 1990).

Os enantiômeros são isômeros em que uma das formas é a imagem especular da outra, conforme representado na Figura 2. As propriedades físicas, tais como ponto de fusão, solubilidade, densidade, constante de dissociação e outras, são idênticas para esses tipos de isômeros. Dois enantiômeros possuem também propriedades químicas idênticas, excetuando-se as reações em que outros compostos com atividade ótica estejam presentes. Porém, cada um dos

enantiômeros se comporta de maneira diferente nos tecidos vivos, sendo o ácido láctico encontrado mais freqüentemente nos seres vivos na forma levógira. No homem, por exemplo, somente a forma levógira é produzida na contração muscular (Morrison & Boyd, 1990).

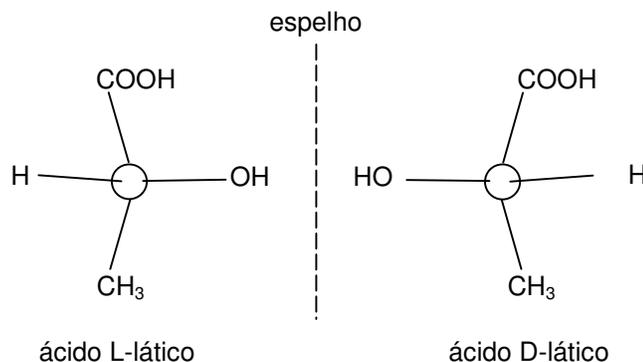


Figura 2: Formas espaciais dos isômeros do ácido láctico.

Uma consequência prática importante da igualdade das propriedades físicas e químicas dos enantiômeros é a impossibilidade de separá-los pelos métodos tradicionais de separação como destilação, cristalização fracionada e cromatografia. A separação de uma mistura que contenha dois enantiômeros, chamada resolução da mistura de enantiômeros, requer técnicas apropriadas, através do uso de substâncias que também possuam atividade ótica.

O ácido láctico é o principal componente do leite ácido e, no corpo humano, pode ser encontrado no sangue, músculo, pele e cabelo. A conversão metabólica do ácido L-láctico no homem é mais rápida do que a do ácido D-láctico e, portanto, a forma levógira é preferida nas aplicações em alimentos e medicina. O ácido láctico produzido por síntese fornece apenas a mistura racêmica, em que as concentrações das formas D e L do ácido láctico são iguais, enquanto a fermentação permite a obtenção de um dos estereoisômeros do ácido láctico (Lee et al, 1998). Porém, neste último caso, pode haver a produção de uma pequena quantidade do outro isômero (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

3.2.1 - USOS DO ÁCIDO LÁTICO

Por possuir diversas características como moderada acidez, presença de grupo carboxílico e hidroxílico que possibilitam uma grande variedade de transformações químicas, estabilidade química e térmica, biodegradabilidade e ser reconhecidamente não tóxico em até consideráveis doses, conforme certificado pela FDA (Food and Drug Administration), o ácido lático possui uma grande variedade de aplicações (Datta et al, 1995). Tem sido reportada a sua utilização nas indústrias químicas, na agricultura, indústria de alimentos, bem como em vários campos da medicina.

Na indústria química, o ácido lático pode ser transformado em etanol, propilenoglicol e polímeros acrílicos (San-Martín & Cheryan, 1992). O ácido lático também tem aplicação na indústria de couro e peles, no processo de descalcinação, na indústria têxtil como mordente (fixador) para tinturaria e como anticongelante em substituição ao etileno-glicol com maior eficiência e menor custo. Os derivados do ácido lático, ésteres e sais, são usados como solventes, emulsificantes e plastificantes.

Já na agricultura, tem sido utilizado, após a transformação em filmes poliméricos, na produção de embalagens e como agente para liberação controlada de pesticidas e nutrientes, que permite redução nos custos de aplicação e uma melhor distribuição da quantidade de espécies desejáveis ao longo do desenvolvimento e crescimento dos produtos agrícolas (Lipinsk & Sinclair, 1986).

A maior demanda por ácido lático, cerca de 85% do ácido produzido (Datta et al, 1995), está associada a indústria de alimentos, onde possui vasta aplicação, sendo utilizado como acidulante, anti-oxidante, estabilizante e conservante naturais e como agente de limpeza (Danalewich et al, 1995; Ju & Verma, 1994). Porém, o ácido lático é a substância essencial nos alimentos fermentados como iogurte, manteiga, vegetais em conservas e muitos outros (Datta et al, 1995).

O emprego do ácido lático na produção de biopolímero para aplicações médicas tem aumentado significativamente sua demanda mundial. Este crescimento é

motivado pela possibilidade de substituição de materiais plásticos que não sejam biodegradáveis ou biocompatíveis por biomateriais que possam ser aplicados em próteses artificiais, liberação controlada de medicamentos em aplicações médicas como reconstituições em vítimas de queimaduras, fraturas e de grandes escoriações (Ju & Verma, 1994; Honda et al, 1995; Lee et al, 1998; San-Martín & Cheryan, 1992). Na indústria farmacêutica, da mesma forma, o ácido láctico tem papel importante na produção de loções, medicamentos para esterilização e uso tópico, como esfoliante e humectante para a pele (Datta et al, 1995).

Apesar do vasto campo de aplicação, o uso do ácido láctico é limitado pelo preço de mercado do produto. Seu consumo seria consideravelmente aumentado, principalmente na indústria de plásticos onde o custo da matéria-prima é decisivo, nas aplicações descritas anteriormente e em muitas outras nas quais o ácido láctico possui enorme potencial. O custo final de produção do ácido láctico está associado, em sua maior parte, aos processos de separação do produto final, que requerem muitas etapas e têm elevados custos (Datta et al, 1995; Lipinsk & Sinclair, 1986).

3.2.2 - PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁCTICO

O ácido láctico ocorre naturalmente como metabólito em muitos organismos vivos, incluindo o homem, podendo ainda ser produzido por fermentação de carboidratos ou por síntese química a partir de carvão, produtos derivados do petróleo, gás natural e de produtos naturais (Lipinsk & Sinclair, 1986).

A produção do ácido láctico em escala industrial pode ser feita tanto por fermentação, como por métodos sintéticos. Nos últimos dez anos, a demanda por ácido láctico produzido por fermentação tem aumentado, principalmente para destinação à indústria de alimentos, pois o mercado está interessado no uso de alimentos de origem natural, sem o risco de contaminação por substância, matéria-prima ou subprodutos, tóxicos à saúde.

3.2.2.1 - Fermentação

A matéria-prima, ou substrato, utilizada no processo fermentativo para a produção do ácido láctico consiste predominantemente de hexoses (carboidratos com seis carbonos em sua estrutura) como a glicose, frutose e galactose ou compostos que podem ser facilmente transformados em hexoses. Assim, os dissacarídeos como a sacarose e lactose e os polissacarídeos como a celulose e o amido podem ser usados, após conversão em seus monossacarídeos, na fermentação. Além desses compostos, também são utilizados pentoses (carboidratos com cinco átomos de carbono) e os seus dissacarídeos e polissacarídeos como matéria-prima para produção do ácido láctico.

Um grande número de substratos tem sido utilizado para essa fermentação. O ácido láctico puro, sem a presença de subprodutos como acetato e etanol, é produzido quando substratos contendo essencialmente hexoses puras, semelhantes ao açúcar de cana ou beterraba, são utilizados. Esta fermentação resulta em produto fermentado com baixo custo de purificação, porém este processo não é economicamente viável em função do elevado custo do açúcar. Em detrimento do uso de açúcares puros, são utilizados produtos residuais das indústrias de alimentos, agrícola e florestal (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

O substrato mais comum utilizado na produção do ácido láctico por fermentação é o soro de queijo, um subproduto da produção de queijo tradicionalmente empregado na alimentação animal, que contém proteínas, sais e lactose. A lactose presente no soro pode ser hidrolisada em glicose e galactose, desproteïnada e desmineralizada. Os nutrientes presentes no soro têm sido complementados com extrato de leveduras, peptona (produto solúvel em água obtido pela hidrólise de proteínas), leite em pó, farinha de soja ou licor extraído de milho. A cultura empregada para produção de ácido láctico a partir de soro é a bactéria *Lb. delbrueckii*, porém, existem estudos com o emprego de *Lb. helveticus* e *Lb. casei* (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

O melaço, um subproduto dos processos de produção de açúcar, é usado como alimento para animais e para produção de etanol e fermento, podendo ser

utilizado também para a produção de ácido láctico via fermentação. O açúcar mais abundante no melaço é a sacarose, que é responsável pela sua elevada viscosidade. Geralmente, a bactéria *Lb. delbrueckii* é empregada para produção de ácido láctico através da fermentação do melaço (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

O amido obtido de resíduos industriais ou agricultura é outro substrato comum para produção de ácido láctico. Ele é hidrolisado para maltose e glicose para possibilitar a fermentação. Algumas fontes empregadas para obtenção de amido para uso em fermentações são trigo, milho, mandioca, batata, arroz, centeio, sorgo e cevada. Entretanto, o amido necessita ser complementado com nutrientes para uso como substrato, que é feito principalmente com extrato de leveduras ou peptona. Quando a hidrólise e fermentação são conduzidas em uma única etapa podem ser utilizadas as bactérias *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbrueckii*, *Lc. lactis* e *Lb. helveticus* (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

Em alguns processos, a etapa de hidrólise é conduzida separadamente da etapa de fermentação. Neste processo, é possível o uso de condições mais propícias de temperatura e pH para as enzimas que realizam a hidrólise do amido, que normalmente são diferentes das condições ideais para a fermentação. A etapa de pré-hidrólise também é realizada na fermentação de outros polissacarídeos como a celulose (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

Materiais lignocelulósicos têm também sido empregados para a produção de ácido láctico em rotas similares àquelas que utilizam o amido como substrato. Eles consistem, principalmente, das hexoses (glicose, galactose e manose) e pentoses (xilose e arabinose) que são hidrolisados em monômeros para serem fermentados. Os materiais lignocelulósicos incluem resíduos do processo de produção ou recuperação de papel, material vegetal e madeira.

Conforme apresentado anteriormente, para a maioria dos substratos usados na produção do ácido láctico, é preciso a complementação com os nutrientes necessários ao metabolismo das bactérias responsáveis pela fermentação. O

tipo de nutriente a ser adicionado depende do tipo de microrganismo utilizado na fermentação e da quantidade já presente no substrato disponível. Proteínas solúveis, fosfato e nitrogênio, sob a forma de sais de amônio ou aminoácidos, são necessários como fonte de nutrientes para as bactérias. Os nutrientes requeridos podem ser fornecidos pela adição de grãos maltados ou extratos de leveduras.

Na fermentação láctica, assim como em todos os processos industriais em que há a utilização de organismos vivos, o pH e a temperatura devem ser monitorados e controlados. Durante a fermentação, o pH do meio é reduzido devido à formação de ácido láctico, que se constitui em um dos fatores de limitação do rendimento da reação.

A faixa de pH ideal para as bactérias que produzem ácido láctico nos processos industriais de fermentação está entre 5 e 7 (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000) e em fermentações de soro de queijo por *Lb. helveticus* a atividade bacteriana é máxima em valores de pH entre 4,2 e 3,5. Assim, o valor ideal do pH depende da temperatura em que ocorre a fermentação, do microrganismo utilizado e da matéria-prima utilizada. Entretanto, o crescimento bacteriano e, conseqüentemente, a produção de ácido láctico são significativamente reduzidos quando o pH atinge valores inferiores a 3 (Tango & Ghaly, 1999).

A adição de soluções básicas para correção de pH para valores dentro da melhor faixa de operação permite a obtenção de rendimentos maiores que os conseguidos sem esse controle. O controle de pH é realizado tradicionalmente com a adição de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, que gera como produto secundário uma grande quantidade de CaSO_4 sólido. Como alternativa para o ajuste de pH, dentre outros carbonatos, é empregado o $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, que gera como subproduto o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ utilizado em larga escala como fertilizante. Para a definição da substância que será utilizada para o controle de pH, deve-se levar em consideração o método com o qual se fará a separação do ácido láctico após a fermentação. Processos de separação que utilizam membranas, como osmose reversa e eletrodialise, possuem graves problemas de obstrução quando se utilizam compostos de

cálcio (principalmente carbonatos e hidróxidos) como agente controlador de pH, em função da formação do lactato de cálcio pouco solúvel. Nestes casos, são preferíveis os compostos de sódio ou amônio (Liew & Tanaka, 1995). Para aumentar o rendimento da reação de fermentação é feita, em algumas plantas industriais, a separação do ácido láctico produzido do mosto fermentado por extração, adsorção ou eletrodialise (Cowan & Ho, 1987; Dai & King, 1996; Hartl & Marr, 1993; Lee et al, 1998).

Na análise do efeito da temperatura na fermentação láctica, é importante ter em vista que a temperatura em que há o maior rendimento, em termos de conversão do substrato empregado, é diferente, na maioria das vezes, da temperatura em que ocorre a maior produção de ácido láctico (Lee et al, 1998).

Em sistemas biológicos, de maneira geral, a temperatura influencia a velocidade das reações e a atividade celular dos organismos envolvidos. Em processos de fermentação industrial, a temperatura de operação do fermentador é freqüentemente mantida em valores que permitam a máxima atividade bacteriana. Este valor de temperatura ideal varia com o tipo de microrganismo utilizado na fermentação, do substrato empregado e das condições ambientais de oxigenação e pH. Desta forma, quando a temperatura do meio está abaixo ou acima do requerido para um ótimo crescimento, a atividade microbiana é reduzida, podendo levar os organismos à morte. Sendo assim, é importante que a temperatura durante a fermentação seja mantida constante, uma vez que o desenvolvimento das bactérias é máximo dentro de uma estreita faixa e estas são significativamente afetadas por variações súbitas de temperatura (Tango & Ghaly, 1999).

As melhores condições de fermentação não são sempre as mais favoráveis sob o ponto de vista econômico. Isto ocorre porque os custos do substrato e dos processos posteriores à fermentação são elevados em relação ao custo do ácido láctico. A escolha do substrato é uma questão de análise geográfica, pois a instalação da planta para produção de ácido láctico através de fermentação é fortemente dependente da disponibilidade da matéria-prima. O uso de

subprodutos da produção agro-industrial é preferível ao uso de carboidratos puros para que seja possível a produção de ácido láctico a baixo custo. Desta forma, é possível um acréscimo ao valor econômico de parte dos subprodutos do processamento industrial de trigo como ocorre no norte da Europa, milho nos EUA, mandioca e sorgo na África e cana-de-açúcar, assim como os efluentes de laticínios, no Brasil.

É reportado por Tango (1998), que, quando fermentados por bactérias em condições apropriadas, 10 moléculas de lactose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) dão origem a 27 moléculas de ácido láctico ($C_3H_6O_3$) sob condições anaeróbicas. Desta forma, o rendimento estequiométrico para o ácido láctico é estimado em 0,71 grama de ácido láctico por grama de lactose fornecida. O restante da massa de lactose fornecida é convertido em outras substâncias, como o CO_2 e H_2O , e usado para o crescimento bacteriano.

Durante a fermentação para a produção de ácido láctico, a produção de outros ácidos orgânicos dependerá da qualidade, sobretudo da pureza, do inóculo utilizado e das condições do processo, que devem evitar a possibilidade de contaminação externa. Apesar da elevada especificidade dos microrganismos, conseguidas através de seleção das melhores linhagens e de modificações genéticas, pode haver durante a fermentação a produção de subprodutos, principalmente o ácido acético, ácido fórmico e etanol, dependendo do substrato utilizado e das condições de operação do processo (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

A efetividade do processo de fermentação pode ser medida como a concentração final do produto (C medido em g/L), como rendimento do produto em termos de massa de substrato usada (Y em g/g) ou ainda como produtividade volumétrica (Q medido em $g L^{-1}h^{-1}$). Em seus estudos sobre processos de fermentação industrial para produção de ácido láctico, Hofvendahl e Hahn-Hagerdal (2000) apresentam que a concentração final do ácido láctico (C), quando se utiliza o soro como substrato e diversas bactérias, está entre 13 e 117 g/L, enquanto o rendimento (Y) está compreendido entre 0,28 e 1,2 g/g. Por sua

vez, a produtividade volumétrica máxima (Q) se situa entre 0,65 e 12 g L⁻¹h⁻¹. A justificativa para essas largas faixas de rendimento é atribuída aos diferentes modos de fermentação, que podem ser contínuo e batelada, bem como com células livres ou imobilizadas.

As fermentações em bateladas apresentam maiores rendimentos, porém menores produtividades volumétricas, do que as fermentações em reatores contínuos (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000; Roy et al, 1987). Bateladas repetidas ou semicontínuas permitem o aumento do rendimento final da fermentação. Se o substrato empregado é caro, o rendimento deve ser maximizado, como ocorre em operações semicontínuas ou em bateladas, enquanto a produtividade volumétrica é maximizada em operações contínuas se os custos de investimentos em equipamentos são elevados (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000).

A produção mundial de ácido láctico é de 8×10⁴ toneladas/ano, das quais 90% são produzidos por fermentação. O restante da produção é obtido sinteticamente pela hidrólise da lactonitrila (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000). Nos EUA, a Sterling Química fornece, através da rota sintética, aproximadamente 50% da produção americana de ácido láctico. A empresa Musashino Química usa a mesma rota sintética para fornecer todo o ácido láctico produzido no Japão. A CCA Bioquímica, empresa holandesa, usa a fermentação de carboidratos nas plantas instaladas na Holanda, Brasil e Espanha para fabricar cerca da metade da produção mundial de ácido láctico, que é comercializada para todo o mundo (Datta et al, 1995; Elvers et al, 1990).

Desta forma, os maiores problemas da produção industrial do ácido láctico são a sua separação do mosto fermentado quando produzido por fermentação ou o custo da matéria-prima quando produzido sinteticamente.

3.2.2.2 - Síntese

Até o início de 1960, praticamente toda a produção mundial de ácido láctico era feita através da fermentação de carboidratos derivados da dextrose, soro de

queijo, melação ou outra fonte natural. A partir de então, o ácido láctico passou a ser produzido em quantidade considerável através de rota sintética. Muitos métodos para produção industrial têm sido considerados até o presente (Anônimo, 1964).

O processo comercial adotado atualmente tem como ponto de partida a lactonitrila, que é usada por ser um subproduto da síntese da acrilonitrila a partir do acetileno. Esta rota de síntese foi descoberta em 1863 por Wislicenus que, a partir de acetaldeído e HCN, obteve lactonitrila, hidrolisando-a em seguida para produzir ácido láctico (Anônimo, 1964; Kirk & Othmer, 1981).

A primeira empresa a produzir o ácido láctico sinteticamente em quantidade significativa foi a Monsanto, no Texas, em 1963, produzindo, na época, 40% ($4,5 \times 10^6$ kg) do ácido láctico consumido nos EUA. Entretanto, 15 anos antes já existia em operação no Japão uma planta industrial, porém em escala menor que a americana, que produzia ácido láctico da lactonitrila obtida em uma planta que produzia acetaldeído, metanol e outros produtos do gás natural (Anônimo, 1964).

Hoje, o processo utilizado é o mesmo desenvolvido por Wislicenus, e envolve basicamente a adição catalisada de cianeto de hidrogênio ao acetaldeído para produzir a lactonitrila. Esta reação ocorre em fase líquida, sendo conduzida a pressão atmosférica. A lactonitrila é recuperada, purificada por destilação e hidrolisada a ácido láctico usando HCl ou H_2SO_4 concentrados. Como subproduto deste processo é gerado o sal de amônio do ácido utilizado para hidrólise.

O ácido láctico bruto obtido é esterificado com metanol, e o lactato de metila formado é recuperado, purificado por destilação e hidrolisado novamente com água acidificada para produzir ácido láctico e regenerar o metanol usado, que é separado por destilação e reciclado. Posteriormente, o ácido láctico é concentrado, purificado e transformado para as diferentes concentrações comerciais, definidas em função do uso.

Os maiores problemas para produção e purificação do ácido láctico através da lactonitrila são devidos à elevada solubilidade do ácido em meio aquoso e a dificuldade de remoção do sal de amônio após a hidrólise (Anônimo, 1964).

Muitos outros métodos para a síntese de ácido láctico têm sido considerados. A reação do propeno com N_2O_4 a temperatura de 15 a 20 °C leva ao 1-nitropropanol-2 que pode ser hidrolisado com HCl ou H_2SO_4 para produzir o ácido láctico. Outro produto da reação anterior é o ácido nitratoacético ($CH_3-CH(ONO_2)-COOH$) que pode sofrer uma reação de saponificação para produzir ácido láctico com rendimento de 75 a 85% (Elvers et al, 1990).

Outro método de produção se baseia na reação, a alta pressão e temperatura, do acetaldeído com monóxido de carbono e água na presença de iodeto de níquel (II) ou H_2SO_4 como catalisador (Datta et al, 1995; Elvers et al, 1990). O ácido láctico também pode ser obtido pela cloração do ácido propiônico que produz o ácido 2-cloro-propiónico, que posteriormente é hidrolisado (Datta et al, 1995; Elvers et al, 1990).

Apesar do grande número de rotas possíveis para a produção do ácido láctico por síntese, nenhuma delas, exceto a que utiliza a lactonitrila como matéria-prima, possui processos que sejam técnica e economicamente viáveis para produção industrial.

Os métodos sintéticos de produção do ácido láctico são geralmente mais caros que os métodos fermentativos. A vantagem competitiva do ácido láctico produzido por síntese está nos menores custos de purificação necessários, entretanto, os custos de matéria-prima são geralmente elevados e o produto obtido é a mistura racêmica, igual concentração de ácido D-láctico e L-láctico, que possui limitação de uso, conforme discutido no item 3.1.

O ácido láctico produzido sinteticamente é estável termicamente e não contém quantidades residuais de carboidratos, presentes muitas vezes no ácido

produzido por fermentação, que comprometem a qualidade do produto, sobretudo quando estocado por grandes períodos.

A lactonitrila foi utilizada inicialmente na produção industrial do ácido láctico por ser um subproduto do processo de fabricação da acrilonitrila. Porém, devido à crescente demanda por ácido láctico, uma parte da lactonitrila empregada para a síntese é obtida através do acetaldeído. Desta forma, o ácido láctico obtido, apesar de sua maior pureza em relação ao obtido por fermentação, se torna mais caro e menos competitivo comercialmente.

3.3 - Formas de Separação de Ácido Láctico

3.3.1 - PRECIPITAÇÃO

O processo convencional para separação do ácido láctico é a precipitação com carbonato de cálcio ou hidróxido de cálcio (Cowan & Ho, 1987). A adição do composto de cálcio é, muitas vezes, feita durante a fermentação, permitindo um controle eficiente da acidez do meio durante a produção do ácido láctico. Após o contato, há a formação de lactato de cálcio, que é filtrado e novamente acidificado para fornecer ácido láctico. A acidificação é feita com ácido forte, geralmente H_2SO_4 , e gera como subproduto sulfato de cálcio sólido. Em seguida, o ácido láctico é ligeiramente concentrado em evaporadores e purificado com carvão ativado (Pereira, 1991).

O ácido láctico quimicamente puro pode ser obtido pela conversão do lactato de cálcio em lactato de zinco pelo uso de sulfato ou carbonato de zinco. O lactato de zinco é então recristalizado e dissolvido em água. Posteriormente, o zinco é precipitado como sulfeto de zinco usando uma solução de ácido sulfídrico. A solução com o ácido láctico é filtrada e o filtrado evaporado à vácuo. O sal de zinco é o mais adequado para esta operação, pois cristaliza melhor do que qualquer outro lactato (Pereira, 1991).

A separação do ácido láctico por precipitação possui elevado custo devido à grande quantidade de reagente empregado, à necessidade de muitos processos

de filtração e à geração de elevadas quantidades de efluentes (Lee et al, 1998). A pouca atratividade econômica e ambiental do processo convencional para purificação do ácido láctico pode ser avaliada quando se percebe que aproximadamente uma tonelada de sulfato de cálcio, de reduzido valor econômico, deve ser disposta para a produção de uma tonelada de ácido láctico puro (Datta et al, 1995).

3.3.2 - DESTILAÇÃO

Um dos mais antigos métodos para separação de ácido láctico é a destilação com vapor sob pressão reduzida. Nesta condição, existe uma significativa diferença entre os pontos de ebulição da água (16,4 °C a 14 mmHg) e do ácido láctico (122°C a 14 mmHg) (Perry & Chilton, 1980). Outra característica importante da mistura entre o ácido láctico e a água é a não formação de soluções azeotrópicas, ou seja, o ácido láctico não forma soluções aquosas com ponto de ebulição constante.

Por possuir em sua estrutura os radicais hidroxila e carboxila, o ácido láctico quando concentrado e aquecido forma facilmente ésteres internos (autoesterificação), dando origem ainda a polímeros (poliácido láctico), ambos pouco voláteis. Assim, o ácido láctico não pode ser destilado a pressão atmosférica, onde o ponto de ebulição é estimado como sendo de aproximadamente 190 °C (Kirk & Othmer, 1981). Mesmo a pressão reduzida, que diminui em parte a autoesterificação, a destilação direta do ácido láctico apresenta o inconveniente de que, devido ao ponto de ebulição ser maior do que o da água e a concentração reduzida nas soluções, é necessária a evaporação de uma grande quantidade de água para a recuperação de uma pequena quantidade de ácido.

Também é possível a concentração do ácido láctico por destilação através da formação de metil éster como intermediário. O ácido láctico é inicialmente desidratado por uma solução contendo um ácido forte e esterificado em seguida, normalmente por refluxo, com metanol. Posteriormente, é feita a passagem de

uma corrente de vapor, ou de metanol a 100 °C, para a extração do metil lactato. O ácido láctico pode ser recuperado posteriormente por aquecimento do metil lactato em presença de água e retirada contínua do metanol evaporado (Kirk & Othmer, 1950).

O método de separação por destilação via esterificação produz um ácido láctico de elevada pureza (Datta et al, 1995). Entretanto, a solução obtida de ácido láctico possui baixa concentração, menor que 50% em peso, e existe a possibilidade da presença de traços de metanol no produto final, o que inviabiliza a aplicação do produto para fins alimentícios (Kirk & Othmer, 1950).

3.3.3 - EXTRAÇÃO POR SOLVENTE

Outro método para a separação do ácido láctico do mosto fermentado é a extração por solvente, também chamada extração líquido-líquido. Neste método, a separação é feita através do contato entre a solução que contém o soluto de interesse – mosto fermentado filtrado – e uma solução extratante imiscível na primeira solução.

A separação de um composto através de extração por solvente está fundamentada na diferença de solubilidade relativa deste composto em dois meios líquidos diferentes. Os coeficientes de distribuição, seletividade do meio extratante, facilidade de separação entre as fases líquidas são fatores importantes na extração por solvente. Além dessas características, a escolha do extratante é um parâmetro chave na eficiência da separação. Para sua escolha, devem ser levadas em consideração informações como facilidade de regeneração, baixa solubilidade na fase de alimentação, baixa viscosidade, densidade favorável para separação das fases, baixa corrosividade e pequena toxicidade, de grande importância quando se trata da separação de produtos para fins alimentares.

Alquilaminas de cadeia longa são extratantes eficientes para separação de ácidos carboxílicos a partir de soluções aquosas (Malmay et al, 2000; Hartl &

Marr, 1993; San-Martín & Cheryan, 1992, 1996). A alquilamina mais empregada para extração de ácido láctico é a alamina 336, que é uma mistura de tri-n-octilamina e tri-n-dodecilamina de uso comercial (Malmay et al, 2000; San-Martín & Cheryan, 1992, 1996). Estas alquilaminas produzem complexos com os ácidos que possuem coeficientes de partição elevados, mesmo para baixas concentrações de soluto (Malmay et al, 2000), além de grande seletividade para separação de ácidos carboxílicos, que pode ainda ser aumentada com mudanças de temperatura e pH.

Os extratantes, usualmente a alamina 336, são dissolvidos em um solvente orgânico, que irá fornecer propriedades desejáveis para extração, tais como viscosidade e densidade. A viscosidade da solução extratante deve ser reduzida para facilitar não só o processo de contato com a solução que contém o soluto desejado, mas também facilitar a agitação, necessitando menor energia nos impelidores, nos tanques de contato e maior facilidade para o bombeamento da solução. A alamina 336, como muitos outros extratantes usados nos processos de extração com reação química em meio líquido, possui elevada viscosidade, o que exige a adição de solventes, denominados diluentes.

Após o contato entre as fases e a extração do soluto para a solução extratora, é feita a separação entre essas fases, orgânica e aquosa. O processo gravitacional é a forma usual com que é feita a separação das fases na extração por solvente. Desta forma, é necessário que haja uma diferença significativa entre as densidades das duas fases para que haja uma rápida e eficiente separação.

Para a extração de ácido láctico com alamina 336, tem sido reportado na literatura que o solvente empregado é, normalmente, o tolueno (San-Martín & Cheryan, 1992, 1996). Já para a extração de ácido láctico com outros extratantes, como outras alquilaminas terciárias (Juang et al, 1997; San-Martín & Cheryan, 1992) e compostos fosfatados (Malmay et al, 2000), podem ser usados como solventes álcoois de cadeia longa (San-Martín & Cheryan, 1992), xileno (Juang et al, 1997) e dodecano (Malmay et al, 2000).

Depois de feita a separação das fases, o ácido láctico se encontra solubilizado na fase orgânica sob a forma de um sal orgânico. A recuperação do ácido láctico é feita através de reextração em várias etapas com uma solução aquosa contendo carbonato ou hidróxido de sódio.

A extração por solvente possui a vantagem de não gerar uma grande quantidade de efluentes como o método de precipitação, porém, exige elevada área de troca para uma separação eficiente, demandando elevados custos com equipamentos e recuperação do solvente nas etapas de reextração (San-Martín et al, 1996). Além disto, os coeficientes de distribuição do ácido láctico são desfavoráveis e existe o problema econômico e ambiental da perda de solvente para o ambiente (Lee et al, 1998). Os problemas encontrados na recuperação de eletrólitos pelo método de extração por solvente são, em grande parte, relacionados à dependência desta técnica do estado de equilíbrio termodinâmico entre a solução de alimentação e extratora. Desta forma, a separação será tanto mais difícil, requerendo maiores quantidades de estágios e solvente na etapa de extração, quanto maior for a proximidade do estado de equilíbrio (Rousseau, 1987).

3.3.4 - ELETRODIÁLISE

A eletrodialise é um método de separação em que membranas de troca iônica são usadas para separar íons em soluções aquosas. A força-motriz que proporciona a separação do íon é o potencial elétrico (Lee et al, 1998). As unidades de eletrodialise são conjuntos de compartimentos através dos quais a solução de alimentação é bombeada. Estes compartimentos são separados alternadamente por membranas catiônicas e aniônicas, que são seletivamente permeáveis aos íons positivos e negativos, respectivamente (Perry & Chilton, 1980). O desenvolvimento recente de tecnologias de eletrodialise disponibilizam membranas robustas, com maior seletividade para cátions ou para ânions, o que abre possibilidades para separação de produtos de diversas origens.

Para manter o controle de pH na etapa de fermentação, carbonatos ou hidróxidos de cálcio são adicionados ao mosto fermentado formando lactato de cálcio. Assim, caso se deseje o ácido láctico em detrimento do lactato de cálcio, uma etapa de conversão do lactato em ácido torna-se necessário.

A eletrodialise consiste em um método conveniente para recuperar o ácido láctico diretamente do mosto fermentado, com a possibilidade de reciclar o material não extraído para o prosseguimento da fermentação, pois este ainda contém significativas quantidades de carboidratos – matéria-prima da fermentação, microrganismos e nutrientes necessários para a fermentação.

A partir da década de 70, mas principalmente ao longo das décadas de 80 e 90, a eletrodialise passou a ser testada como uma técnica alternativa para recuperação de produtos de fermentação. A aplicação da eletrodialise integrada ao processo de fermentação pode ter diversos objetivos. Entre esses objetivos estão a dessalinização de substratos, concentração de lactato ou éster (Tsai et al, 1998), recuperação de lactato (Lee et al, 1998), conversão de lactato a ácido láctico (Lee et al, 1998; Narebska & Kurantowicz, 1998), bem como a conversão e concentração de ácido láctico em um única etapa (Lee et al, 1998).

Embora o consumo de energia seja potencialmente baixo na eletrodialise, este método é de difícil aplicação em função da decomposição do ácido láctico por eletrólise, da baixa seletividade, dos custos das membranas e equipamentos, bem como pelos efeitos osmóticos existentes durante o processo de separação (Lee et al, 1998; Pereira, 1991).

A aplicação mais comum da eletrodialise é na separação de água salgada, como a do mar ou de um processo industrial, em uma solução mais concentrada e uma outra mais diluída. Entretanto, uma outra importante aplicação da eletrodialise é na desmineralização do soro de queijo, que é empregado principalmente na fabricação de alimentos infantis, podendo ainda ser utilizado na produção de bebidas. A desmineralização do soro proporciona uma redução significativa da

concentração de cloreto de sódio e nitratos presentes (Lee et al, 1998; New Applications, 1991).

3.3.5 - OSMOSE REVERSA

A osmose reversa é uma operação unitária que permite a separação de um soluto presente em uma solução pela retirada do solvente, pela ação de uma pressão mais elevada que a pressão osmótica do soluto, através de uma membrana.

O termo osmose reversa é usado, em geral, para caracterizar os processos em que as moléculas do soluto têm aproximadamente as mesmas dimensões do solvente, como é o caso do ácido láctico e da água. Chama-se ultrafiltração a separação de macromoléculas, como proteínas, presentes na solução. Nestes casos, as membranas utilizadas permitem não só a passagem do solvente, usualmente a água, como também de outras pequenas moléculas e íons.

A maior aplicação da osmose reversa é em dessalinização de águas, porém o seu uso em tratamento de efluentes industriais, tanto para redução de carga poluente quanto para recuperação de materiais, tem aumentado (Presti & Moresi, 2000; Soltanieh & Sahebdehfar, 2001).

Em processos biológicos, o uso das membranas em equipamentos de ultrafiltração para separar enzimas ou compostos de elevada massa molecular já é bem estabelecido industrialmente, sobretudo nos processos de fermentação integrados com os processos de separação. Nestes processos, podem ser separados metabólitos microbianos tais como o etanol, ácido láctico, glucônico e cítrico (Liew, 1995; Presti & Moresi, 2000). Uma das dificuldades da aplicação deste método de separação é avaliar as interações dos eletrólitos, não-eletrólitos e da membrana que ocorrem em sistemas multicomponentes, como é o caso de processos fermentativos que contêm não somente produtos metabólicos intermediários, mas também açúcares e nutrientes residuais (Soltanieh & Sahebdehfar, 2001). Esta dificuldade tem efeito na estimação e controle da

pressão osmótica do sistema, que é a principal resistência a ser superada no método de osmose reversa.

Além disto, a mudança da resistência intrínseca da membrana no decorrer do processo e a necessidade de utilização de baixos fluxos de permeação, bem como de faixas reduzidas de temperatura de operação, para conservação da membrana e aumento da rejeição do soluto pela mesma, faz com que a aplicação industrial em grande escala da osmose reversa para separação de produtos de fermentação tenha restrição. Para garantir que não haja incrustações na superfície das membranas, é necessário garantir uma agitação adequada do meio.

O controle de pH também é importante na separação por osmose reversa do ácido láctico. Quando o pH da solução de alimentação aumenta, há um aumento da rejeição, ou seja maior seletividade da membrana, porém há uma redução do fluxo do solvente através da membrana. O efeito do pH está associado à mudança do grau de dissociação do ácido láctico e à variação da carga elétrica da membrana em decorrência da dissociação da água e a interação com o material constituinte da membrana.

Em grande parte das aplicações industriais de osmose reversa se empregam membranas semipermeáveis constituídas de acetato de celulose e, em alguns casos, de compostos de poliamidas. Estas membranas representam uma considerável parte dos custos de operação e instalação das plantas de separação por osmose reversa.

Para a produção do ácido láctico, a osmose reversa possui grande potencial de aplicação nos processos de concentração, visto não se constituir em um método que permita alta seletividade de separação. Assim sendo, a osmose reversa possibilita a concentração de muitos produtos de fermentação, obtidos geralmente em baixos teores, de maneira econômica (Presti & Moresi, 2000; Schlicher & Cheryan, 1990).

Assim, com este método é possível a concentração do ácido láctico, em valores de pH normais do processo de fermentação, de 10 g/L a 120 g/L com custos em termos energéticos menores que os obtidos com o uso de evaporadores de múltiplo estágio (Schlicher & Cheryan, 1990). Além disso, muitos produtos obtidos em fermentações são sensíveis termicamente, podendo se decompor ou apresentar outros efeitos adversos por aquecimento, como é o caso do ácido láctico que sofre autoesterificação com aumento da temperatura.

3.4 - A Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes

A técnica de separação denominada Membranas Líquidas Surfatantes (MLS) foi desenvolvida primeiramente por N. N. Li em 1968 para separação de hidrocarbonetos (Li, 1971; Pickering & Southern, 1997). A partir de então, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas para aplicação da técnica de MLS, entre as quais estão as separações de hidrocarbonetos (Li, 1971), íons metálicos de processos industriais (Draxler & Marr, 1986; Kakoi et al, 1995; Salum, 1998), ácidos fracos como ácido láctico (Chaudhuri & Pyle, 1992a; Cowan & Ho, 1987) e ácido cítrico (Boey et al, 1987; Konzen, 2000; Stoica-Guzun et al, 1992), fenóis presentes em efluentes industriais (Kakoi et al, 1996; Nanoti et al, 1997) e aminoácidos (Thien et al, 1988b).

O termo membrana líquida é utilizado para descrever uma fase líquida que separa duas fases líquidas miscíveis entre si. A fase líquida imiscível com as demais atua como uma barreira semipermeável, ou membrana líquida, através da qual existe o transporte seletivo de uma ou mais substâncias dissolvidas em uma fase para a outra (Cowan & Ho, 1987).

O método de extração por MLS consiste basicamente na formação de uma emulsão primária, que pode ser formada por uma fase aquosa dispersa em uma fase orgânica (emulsão A/O) ou por uma fase orgânica dispersa em uma fase aquosa (emulsão O/A).

Na extração de ácidos orgânicos, é utilizada uma emulsão primária A/O dispersada, sob agitação branda, em uma outra fase aquosa, que é a fase mais externa e que contém o soluto de interesse, obtendo-se uma emulsão múltipla com seqüência A/O/A. Na emulsão múltipla, a emulsão primária toma a forma de glóbulos de fase membrana, que contêm em seu interior gotículas da fase interna, dispersos na fase externa contínua de acordo com o representado na Figura 3. A fase aquosa externa, conforme já mencionado, é a fase que contém o soluto a ser recuperado e a fase aquosa interna é a fase receptora deste soluto. A fase membrana é a fase orgânica que contém o solvente que, na maioria dos casos, é constituído por um extratante (transportador), um diluente e um surfatante para estabilizar a emulsão.

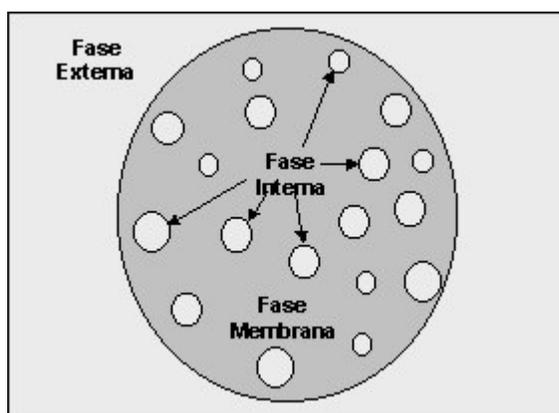


Figura 3: Representação de uma membrana líquida surfatante.

O processo MLS se divide, conforme representado na Figura 4, essencialmente em quatro etapas:

- a) emulsificação;
- b) permeação;
- c) sedimentação;
- d) desemulsificação.

A emulsificação é a etapa em que as fases interna e membrana são postas em contato a uma velocidade de agitação de aproximadamente 13000 rpm (Salum, 1998). Na etapa de permeação, ocorre a dispersão da emulsão primária na fase externa, sob agitação branda, entre 100 e 400 rpm, para evitar a quebra dos glóbulos (Konzen, 2000). Na etapa de sedimentação, a emulsão primária é

separada da fase externa, que pode ser descartada ou submetida a tratamento subsequente.

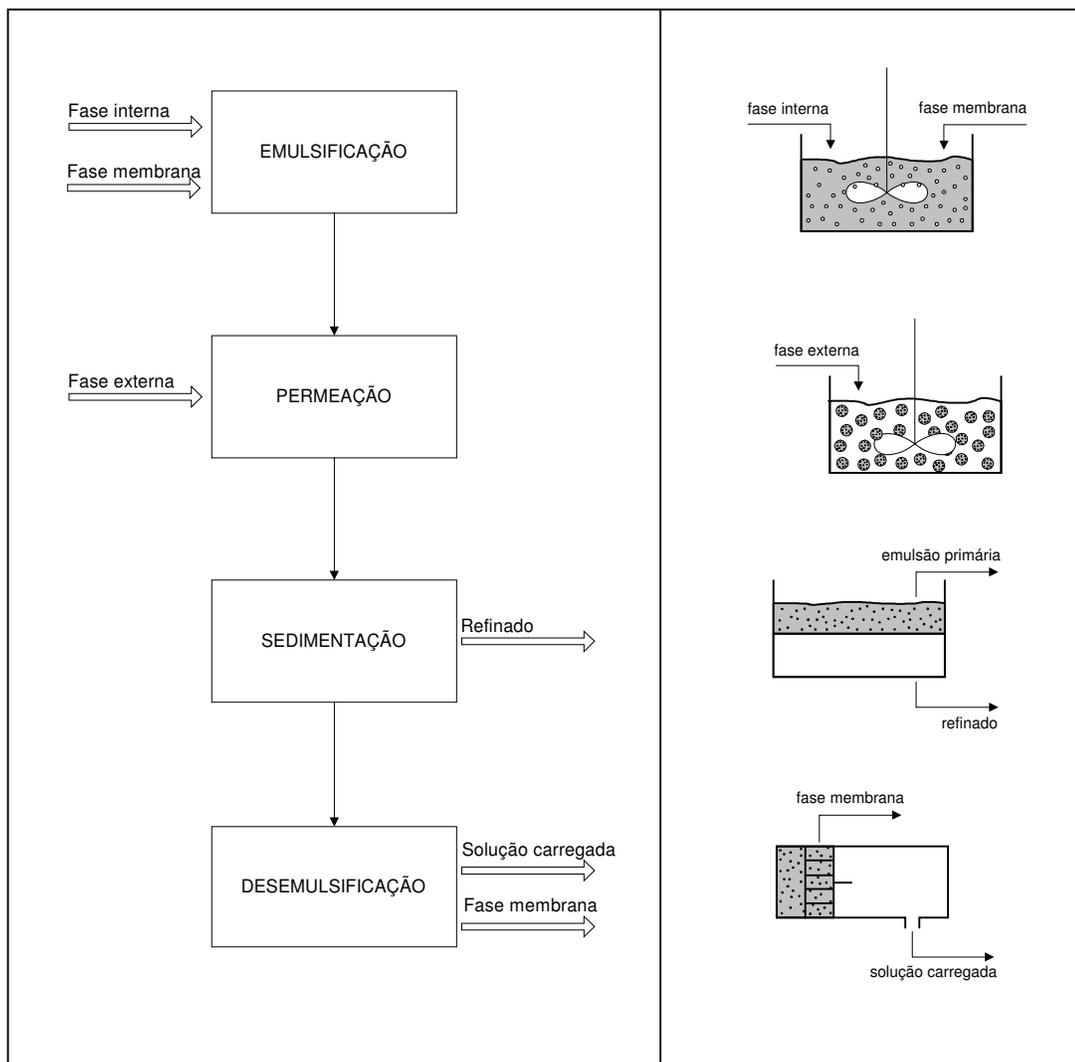


Figura 4: O processo MLS.

A desemulsificação caracteriza-se pela quebra da emulsão primária. A fase interna, agora carregada com o soluto de interesse, é separada da fase membrana e segue para tratamentos posteriores, ao passo que a fase membrana deve ser reciclada.

A etapa de desemulsificação é essencial à obtenção de um processo de separação eficiente. Isto posto, torna-se importante a discussão dos métodos que podem ser empregados para efetuar a quebra da emulsão. Estes métodos são o tratamento térmico, centrifugação, ultra-som ou químico (Konzen, 2000).

No entanto, estes processos têm apresentado uma série de limitações para aplicação em separações de MLS.

O gasto de energia com a quebra térmica é elevado e vários sistemas apresentam sensibilidade térmica. A centrifugação não se mostra adequada para sistemas com gotículas de fase interna de reduzidos tamanhos, além de apresentar problemas para separação de emulsões que contenham soluções de densidades próximas. Os métodos químicos, apesar de se mostrarem eficientes, possuem a desvantagem de introduzirem substâncias desemulsificadoras, que devem ser retiradas da fase membrana em uma etapa posterior. Além de impossibilitarem a reciclagem da fase membrana, fator chave para o sucesso da técnica de MLS, sem tratamento prévio, os agentes usados na desemulsificação química podem provocar a contaminação da fase interna. Esta constatação pode levar à necessidade de uma outra etapa de separação da solução de extração (Salum, 1998).

O uso de um campo elétrico para a quebra da emulsão é a alternativa mais freqüentemente apresentada nos trabalhos de extração por membranas líquidas. Ao contrário dos métodos anteriores, a coalescência eletrostática tem se mostrado eficiente e apropriada à separação das emulsões altamente estáveis empregadas na extração por membranas líquidas surfatantes, não apresentando riscos de degradação ou contaminação das soluções após a desemulsificação (Konzen, 2000). Neste método, o campo elétrico aplicado polariza as gotículas de fase interna presente na emulsão, fazendo com que elas se alinhem em longas cadeias na direção do campo. Este 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).

Em função da importância da coalescência eletrostática para o processo MLS, serão descritos alguns fundamentos relacionados com este processo.

Os equipamentos de coalescência eletrostática são constituídos basicamente de uma célula de desemulsificação e de uma fonte de alta tensão. A célula é

composta de dois eletrodos que formam um capacitor, permitindo que um campo elétrico intenso possa ser aplicado às emulsões.

Inúmeras características ligadas ao campo elétrico influenciam diretamente o processo de coalescência. Um dos parâmetros mais importantes e que tem sido mais amplamente estudado é a tensão elétrica ou voltagem, devido à sua influência direta sobre a intensidade do campo elétrico. O segundo parâmetro de grande importância ligado ao campo elétrico é a frequência. Em pesquisas recentes, a utilização de frequências mais elevadas (até 20 kHz) tem mostrado que a coalescência aumenta significativamente com o aumento da frequência. Contudo, este efeito só é significativo quando a intensidade do campo atinge a condição mínima necessária para tornar o processo de coalescência possível, mostrando que a tensão é uma variável fundamental deste processo (Konzen, 2000).

Além das características ligadas ao campo elétrico, inúmeras variáveis afetam o processo de coalescência eletrostática. Entre elas pode-se citar a razão entre o volume de fase aquosa e orgânica, a concentração e o tipo de surfatante, a concentração de eletrólitos na fase aquosa, a concentração de extratante, o tipo de diluente, o diâmetro das gotículas, a temperatura, o tempo de coalescência e a agitação do meio (Konzen, 2000).

3.4.1 - MECANISMOS DE PERMEAÇÃO

A extração do soluto na técnica MLS é efetuada pela transferência de massa entre as fases externa e interna através da fase membrana. Vários são os mecanismos que podem descrever a permeação desses solutos. Estes mecanismos dependem das características do soluto e das propriedades físicas e químicas da fase membrana e fase interna. A transferência de massa ocorre na etapa de permeação e pode, de maneira geral, ser dividida nas cinco etapas apresentadas a seguir e visualizadas na Figura 5 (Salum, 1998):

1. difusão do soluto através da película da fase externa próxima à superfície do glóbulo;

2. solubilização do soluto ou reação química na interface fase externa/fase membrana;
3. difusão do soluto ou complexo através da membrana;
4. descomplexação, caso haja reação química, ou solubilização do soluto na interface fase membrana/fase interna;
5. difusão do soluto na película de fase interna próxima à superfície das gotículas.

Assim, observa-se que na primeira etapa, o soluto se difunde através da fase externa próxima ao glóbulo devido a um pequeno gradiente de concentração, representado por um perfil levemente inclinado. Na segunda etapa, o soluto se solubiliza na membrana ou sofre reação química na interface entre a fase externa e fase membrana, levando a uma descontinuidade no perfil de concentração. A etapa seguinte envolve a permeação do soluto ou complexo através da membrana em virtude da existência de um elevado gradiente de concentração, cujo perfil apresenta uma inclinação acentuada devido à maior resistência à transferência de massa oferecida por esta fase. Nas duas últimas etapas, os perfis de concentração são análogos àqueles presentes nas duas primeiras etapas (Konzen, 2000).

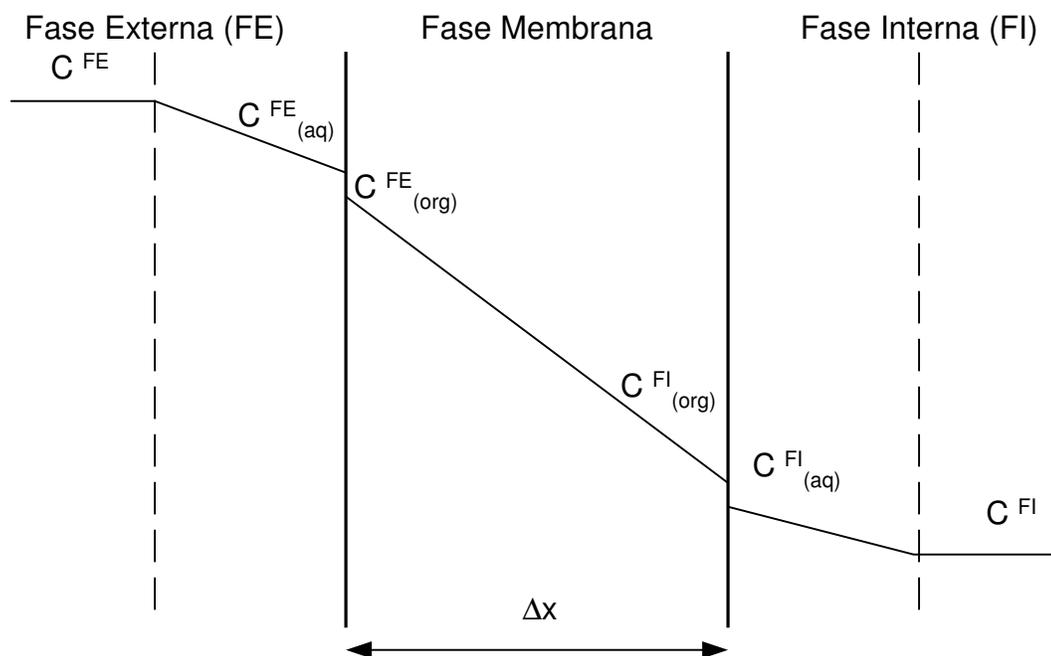


Figura 5: Perfil de concentração através de uma membrana líquida plana (Salum, 1998).

Antes de ser feita uma abordagem específica sobre os mecanismos de transferência de massa, é importante relacionar as seguintes considerações (Marr & Kopp, 1982):

- prevalece o equilíbrio de fases e químico nas interfaces externa e interna;
- o sistema encontra-se em regime permanente;
- a difusão através da membrana é a etapa determinante do processo ;
- a membrana apresenta interfaces planas e paralelas.

Através destas hipóteses, considera-se que o fluxo de soluto através da membrana é difusivo e atua em regime permanente, podendo-se, dessa forma, descrever a transferência de massa do soluto pela primeira lei de Fick. Estas duas suposições fornecem uma boa aproximação do sistema real porque não há agitação no interior da membrana ou presença de soluto em altas concentrações que possam induzir a formação de um fluxo convectivo. A aproximação de regime permanente também é válida, pois a membrana oferece grande resistência à transferência de massa, tornando a difusão do soluto lenta o bastante para se desconsiderar uma dependência significativa da concentração com o tempo (Salum, 1998).

Quanto aos mecanismos de transporte de soluto, existem duas classificações principais segundo Patnaik (1995). O transporte do Tipo I é caracterizado pela separação física através da membrana. Este transporte é governado pela capacidade da espécie desejada em se difundir através da membrana em detrimento de outras substâncias presentes na fase de alimentação. A força-motriz é simplesmente o gradiente de concentração, mais apropriadamente de potencial químico, entre a fase externa e a fase interna. De fato, para a obtenção de um elevado gradiente de concentração através da membrana, é preciso converter o soluto transportado em uma forma química que impeça que haja difusão reversa do soluto para a fase externa. Uma aplicação deste mecanismo é na recuperação de ácido acético a partir de efluentes líquidos. No processo, o ácido se difunde sob a forma não ionizada e reage com NaOH na fase interna para dar origem ao ânion acetato que não se difunde na membrana. Outras

aplicações possíveis são no transporte de drogas em tratamento médico, síntese química para controle de concentração de reagentes e separação de fenóis e amônia de efluentes industriais (Patnaik, 1995; Rousseau, 1987).

Apesar do mecanismo do Tipo I ser simples e pouco dispendioso, sua seletividade e eficiência, geralmente, não são satisfatórias. Além disto, a neutralização, ou outra reação, do soluto que ocorre na fase interna pode não ser suficiente para manter um elevado gradiente de concentração através da membrana quando a fase externa for pobre no soluto. Por essas razões, existe limitação do uso de processos de separação que usam este mecanismo em soluções diluídas ou que contenham mais de uma espécie presente na fase interna (Patnaik, 1995). Para contornar essas limitações, são usados transportadores na fase membrana para aumentar a seletividade e rapidez de separação dos processos de membrana líquida. A adição de um transportador dá origem aos mecanismos do Tipo II.

O princípio do mecanismo do Tipo II, usualmente chamado de mecanismo facilitado, está presente nos sistemas que utilizam um transportador na fase membrana para aumentar a solubilidade do soluto na membrana através da formação de um complexo soluto-transportador. Este tipo de mecanismo descreve os processos de separação de vários íons metálicos, como cádmio, cromo, cobre e mercúrio, com o uso de aminas como transportadores. Em todos os casos, o uso do transportador tem como função maximizar a transferência de massa através da membrana (Patnaik, 1995; Rousseau, 1987).

Para o sistema adotado neste trabalho, ácido láctico-amina, o mecanismo deve envolver a extração do ânion do ácido. Os trocadores aniônicos utilizados na técnica MLS são, em geral, as aminas secundárias, terciárias ou sais de amônio quaternário, algumas vezes também chamados de aminas quaternárias. Os principais mecanismos propostos para a recuperação de um ânion A^- , proveniente de um ácido HA, pela técnica MLS são o transporte facilitado simples com reação química, co-transporte e o contra-transporte, que se encaixam nos mecanismos descritos anteriormente como do Tipo II.

Transporte facilitado simples com reação química: o soluto HA é transportado através da membrana sob a forma do complexo HAE, formado entre o ácido HA e o extratante E, reage com o reagente R contido na interface da fase interna, formando o composto HR^+ , geralmente H_2O , e liberando o ânion A^- insolúvel na fase membrana (Figura 6). Esta configuração permite que o ácido HA seja extraído da fase externa até que a sua concentração atinja níveis reduzidos, pois a força motriz do processo é mantida devido ao consumo do ácido pelo reagente R (Konzen, 2000).

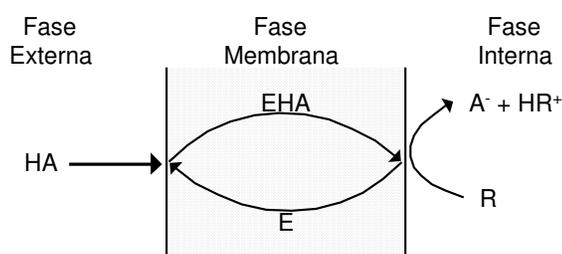


Figura 6: Mecanismo de transporte facilitado simples com reação química.

Co-transporte: a permeação dos solutos A^- e X, que representa uma espécie qualquer, através da membrana ocorre simultaneamente e no mesmo sentido. O extratante E é responsável pela captação dos solutos na interface com a fase externa, onde é formado o complexo EXA^- . Este se difunde através da membrana até a interface com a fase interna, onde E é regenerado pela liberação de A^- e X (Figura 7). A presença do reagente R na fase interna leva à formação do composto RX e do ânion que é impermeável na membrana, permitindo a extração de A^- mesmo após sua concentração na fase interna e externa se igualarem, pois a força-motriz passa a ser o gradiente de potencial químico de X (Konzen, 2000).

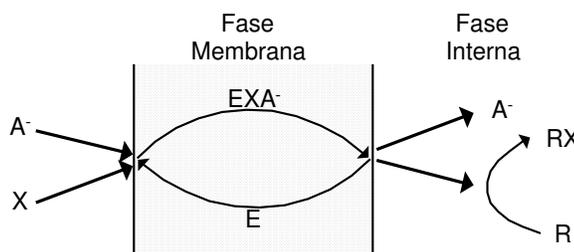


Figura 7: Mecanismo de co-transporte.

Contra-transporte: os solutos A^- e X são transportados em sentidos opostos através da membrana, pela formação dos complexos EA^- e EX (Figura 8). Primeiramente, E capta o soluto A na interface com a fase externa, transportando-o até a fase interna. Nesta interface, E libera A e capta X formando o complexo EX que se difunde através da membrana em direção a fase externa. Nesta interface X é liberado e o extratante livre pode captar outra molécula de A , continuando o ciclo de extração (Konzen, 2000).

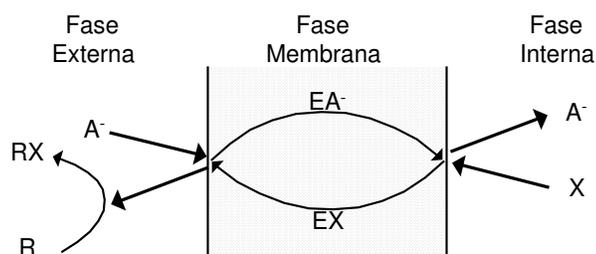


Figura 8: Mecanismo de contra-transporte.

Segundo Chaudhuri e Pyle (1992a), o mecanismo mais provável para a extração de ácido láctico pela técnica de MLS usando aminas terciárias, como a alamina 336, é o transporte facilitado simples com reação química.

3.4.2 - FATORES IMPORTANTES NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO POR MLS

A obtenção de um processo eficiente de extração envolve a escolha criteriosa e bem fundamentada da composição do sistema e das suas condições operacionais. Já foram apresentados os componentes que constituem o sistema de extração, definindo-se as características necessárias à obtenção de um bom processo de separação para o ácido láctico. Além das propriedades dos componentes, também é necessário estabelecer a influência da sua concentração e em que condições o sistema deve operar durante a etapa de permeação.

A concentração de soluto na fase externa produz efeitos significativos sobre o processo de extração. Segundo Rousseau (1987), experimentos realizados para

a extração de Cu^{2+} mostraram que para os instantes iniciais da permeação (< 10 s), a transferência de massa aumenta proporcionalmente ao aumento da concentração de soluto na fase externa. Contudo, no decorrer da extração, o transporte de soluto através da membrana passa a variar com o inverso da concentração de soluto.

No início do processo de extração, a primeira etapa da permeação envolve a reação química entre o soluto e o transportador, sendo o fator limitante a concentração da espécie que estiver presente em menor quantidade, no caso, o soluto. Após os primeiros instantes, o complexo formado começa a se difundir através da membrana. Como esta etapa ocorre mais lentamente do que a reação de complexação, grande parte das moléculas de complexo ficam concentradas nas regiões próximas à interface, dificultando a difusão do transportador livre até a superfície do glóbulo para reagir com uma nova molécula de soluto. Além disso, a existência de muitas moléculas de complexo no meio diminuem a mobilidade na membrana, causando um decréscimo nas taxas de transferência de massa.

Mok e Lee (1994) estudaram a extração de ácido láctico e observaram que o aumento da concentração de soluto na fase externa além de diminuir as taxas de transferência de massa aumentam o inchamento dos glóbulos. Apesar do gradiente de pressão osmótica inicialmente diminuir com o aumento da concentração de soluto, com o decorrer da permeação, a fase interna se torna altamente concentrada, estabelecendo um gradiente mais elevado devido ao enriquecimento desta fase e diluição da fase externa, aumentando a osmose. Neste caso, o fato do ácido láctico diminuir a tensão superficial da fase de alimentação também facilita a osmose porque leva a uma redução no tamanho dos glóbulos de emulsão, aumentando a área superficial disponível para a permeação de água. A concentração do reagente responsável pela reextração do soluto na fase interna é outro fator importante na extração.

Boey e colaboradores (1987) realizaram experimentos de extração de ácido cítrico utilizando carbonato de sódio como reagente da fase interna. Dos

resultados obtidos, eles concluíram que o aumento da concentração de carbonato levou a um aumento no transporte de soluto. Por sua vez, Mok e Lee (1994) observaram, em trabalhos de extração de ácido láctico, que uma solução de reextração mais concentrada não só aumentava o transporte de soluto pelo aumento do gradiente de potencial químico, mas também tornava o inchamento dos glóbulos maior devido ao aumento do gradiente de pressão osmótica. Assim, esses autores sugeriram que a concentração ideal de carbonato deveria ser 1,5 vezes a quantidade necessária para neutralizar todo o ácido láctico presente.

O tipo e a concentração de extratante na fase membrana são fatores muito importantes para o processo de extração, pois na maior parte dos casos, a permeação ocorre através da formação de um complexo entre o soluto e o transportador.

O aumento da concentração de extratante no sistema leva a uma maior disponibilidade deste componente na interface entre a fase externa e a membrana, permitindo que uma quantidade maior de moléculas de soluto sejam transportadas para a fase interna, aumentando a transferência de massa. Contudo, o rápido enriquecimento da fase interna aumenta o gradiente de pressão osmótica, favorecendo o transporte de água por osmose. A permeação de água pode ocorrer, ainda, pela formação de micelas reversas constituídas de agrupamento de moléculas do complexo soluto-transportador (Mok & Lee, 1994) ou pela presença de grupos polares no transportador que podem interagir com as moléculas de água, através de ligações de hidrogênio, e possibilitar sua passagem para a fase interna (Thien et al., 1988b). Usualmente, a concentração de extratante na membrana varia entre 2 e 8% p/p (Mok & Lee, 1994).

Outro ponto importante ligado à eficiência do transportador no processo de extração é a dependência com o pH das fases interna e externa. Alguns extratantes só realizam o transporte do soluto em valores de pH bastante específicos, sendo necessária a avaliação conjunta deste parâmetro com a concentração para a obtenção de elevadas taxas de permeação.

O surfatante é um componente do sistema que apresenta uma influência diferente dos demais constituintes, pois não está diretamente ligado ao transporte do soluto, mas às características físico-químicas da membrana.

O tipo de surfatante utilizado (aniônico, catiônico ou não-iônico) pode exercer efeitos muito significativos sobre o sistema. Este composto pode afetar a reação entre soluto e transportador nas interfaces, alterando as taxas de extração e reextração e, conseqüentemente, a eficiência do processo.

O aumento da concentração de surfatante na membrana permite a formação de um número maior de gotículas de fase interna durante a etapa de emulsificação e de glóbulos durante a permeação, aumentando a área superficial disponível tanto para o transporte de soluto como de água. A viscosidade da membrana também pode aumentar em decorrência deste fato, o que por um lado pode dificultar a difusão do soluto através da membrana, mas por outro pode levar à formação de uma membrana mais espessa e, portanto, mais estável.

A formação de membranas muito estáveis oferece, ainda, dificuldades na etapa de desemulsificação. As concentrações de surfatante usualmente empregadas nas membranas líquidas surfatantes variam entre 1 e 6% p/p (Mok & Lee, 1994).

As variáveis velocidade de agitação e tempo de permeação devem ser estabelecidas por critérios que incluam uma alta porcentagem de extração, baixa quebra de glóbulos de emulsão e pequeno transporte de água. O aumento da velocidade de agitação durante a permeação acelera a transferência de massa da fase externa para a fase membrana, devido ao maior contato entre o soluto e o transportador e também ao aumento da área superficial disponível. Contudo, o transporte de água também é favorecido e rotações superiores a 400 rpm podem levar à quebra dos glóbulos (Salum, 1998). O aumento do tempo de permeação pode favorecer o processo de extração permitindo que uma quantidade maior de soluto seja extraída da fase externa, mas a exposição prolongada da membrana à força cisalhante imposta pela agitação contínua do sistema, pode levar à

ruptura dos glóbulos e consequente perda de soluto, diminuindo a eficiência de extração.

A temperatura é outra variável que tem grande influência sobre a membrana. O aumento da temperatura 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 da 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 (Cowan & Ho, 1987).

As proporções entre os volumes das fases externa, interna e membrana apresentam valores muito diversos para cada tipo de sistema. Normalmente, a fase interna se apresenta em uma proporção bem inferior à fase externa para promover uma concentração eficiente do soluto. O aumento da relação entre a fase membrana e a fase interna acarreta uma redução no tamanho das gotículas de fase interna dispersas na emulsão (emulsão primária), aumentando a área de troca disponível na etapa de reextração na interface entre essas fases (Salum, 1998). Além disso, quanto maior a proporção entre a fase membrana e fase interna, mantendo-se a mesma concentração de surfatante na fase membrana, maior a quantidade de surfatante presente na interface para uma mesma quantidade de fase interna. Esta situação leva a uma maior estabilidade da emulsão primária e uniformidade do tamanho das gotículas (Salum, 1998). Assim, existe um efeito combinado entre a relação entre as fases membrana e interna com a concentração de surfatante presente. A quantidade de fase membrana a ser utilizada também deve ser definida com critério devido aos custos envolvidos com reagentes e regeneração desta fase. Para a extração de ácidos orgânicos, normalmente são empregados valores entre 1,0 e 3,0 para a razão fase membrana/fase interna. A relação entre o volume da fase externa e o

volume da emulsão primária está entre 2 e 4 (Boey et al, 1987; Mok & Lee, 1994).

3.4.3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A TÉCNICA DE MLS

O método de extração por MLS permite a separação e a concentração de espécies de interesse, mesmo em soluções diluídas, em uma única etapa, sem a necessidade de um tratamento prévio da solução de alimentação (Thien et al, 1988b). Além disto, a técnica de MLS possui baixo custo energético e, devido à sua configuração, requer baixo consumo de reagentes.

Os problemas relacionados com a extração por MLS são atribuídos a instabilidade da fase membrana, em que os glóbulos podem sofrer inchamento (“swelling”) pelo transporte de água da fase externa para a fase interna, o que leva à diluição do soluto na fase interna e à quebra da emulsão ou coalescência da fase interna. Todos esses efeitos implicam na redução da eficiência da extração por MLS. Outro fator que é apontado como limitante para o uso da técnica de extração por MLS é a baixa seletividade apresentada quando se utilizam aminas secundárias para separação (Pickering & Southern, 1997; Thien et al, 1988b). Nestes casos, pode ocorrer o co-transporte de outros solutos durante a separação. Também pode ocorrer a redução da seletividade de extração pelo transporte de espécies solúveis em água da fase externa para a fase interna durante o fenômeno de “swelling”. Entretanto, tanto os problemas de instabilidade da fase membrana como de seletividade de extração podem ser reduzidos pelo uso de emulsificantes e transportadores mais apropriados, bem como pela otimização da composição da emulsão e das condições de operação do processo de separação (Patnaik, 1995).

As maiores aplicações práticas da técnica MLS são para tratamento de águas residuárias de processos industriais, onde é possível a separação e recuperação de metais, amônia e fenol, e extração de substâncias de fontes naturais como a recuperação do ácido láctico de mostos fermentados ou diretamente a partir do

soro da produção de queijo (Draxler & Marr, 1986; Marr et al, 1989; Thien & Hatton, 1988a).

3.5 - Métodos Analíticos para a determinação de ácido Lático

A determinação quantitativa da concentração de ácido lático pode ser feita de acordo com os seguintes métodos:

Método espectrométrico: a determinação da concentração do ácido lático pode ser feita em meios sintéticos e biológicos por espectrofotometria através do método proposto por Barker e Summerson (1941). Este método consiste na conversão do ácido lático em acetaldeído e subsequente formação de um complexo colorido com o p-hidroxidifenil, que tem sua absorvância medida a 560 nm. O método proposto por Barker e Summerson (1941) é de fácil execução e apresenta reduzidos custos de materiais e equipamentos envolvidos.

Método cromatográfico: a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem sido aplicada com sucesso na investigação da concentração de ácido lático em produtos de laticínios e em pesquisas de extração de ácido lático. Este método possui elevada precisão e pode ser utilizado com segurança na presença dos contaminantes como carboidratos e outros ácidos orgânicos, porém os equipamentos requeridos têm custos elevados e os solventes empregados devem ser de elevada pureza (Masili et al, 1981).

Método enzimático: a determinação da concentração de ácido lático por este método tem se expandido, sendo aplicado tanto em análises em meios biológicos como em outros campos de trabalho. A base deste método é a oxidação do ácido lático a ácido pirúvico catalisada pela desidrogenase láctica na presença da nicotina adenina dinucleotídeo (NAD). As principais vantagens do método enzimático são a excelente seletividade, sensibilidade, pequena quantidade de material requerido e simplicidade de execução. As desvantagens deste método estão no custo elevado dos reagentes necessários para a

realização dos ensaios e nos cuidados de conservação das amostras (Miranda, 1997; Pereira, 1991).

Método de volumetria de neutralização: este método tradicional é de rápida e simples execução, apresentando reduzidos custos com materiais e equipamentos. Entretanto, esta técnica é fortemente influenciada pela adição de ácido ou base durante o ajuste do pH da fase externa. Além disto, a volumetria de neutralização é pouco seletiva, sendo incapaz de quantificar a presença de lactato que esteja na forma de ácido e sal em um mesmo meio.

4 - METODOLOGIA

O trabalho experimental foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa, foi elaborado um planejamento fatorial de experimentos que tinha como variáveis-respostas a concentração de ácido láctico na fase interna e o inchamento da mesma fase. Nesta etapa foram definidas as melhores condições de operação do sistema para as variáveis concentração de extratante, tempo de permeação, pH inicial da fase externa e temperatura de permeação. Na outra etapa do trabalho, foram realizados estudos do comportamento do sistema de extração de ácido láctico por MLS frente às variáveis concentração de extratante, tempo de permeação, pH inicial da fase externa e concentração inicial de ácido láctico na fase externa. As respostas avaliadas nesta etapa dos trabalhos foram as concentrações de ácido láctico na fase externa e interna, percentual de inchamento da fase interna e percentual de extração de ácido láctico da fase externa. A metodologia utilizada nas duas etapas do trabalho é descrita a seguir.

4.1 - Definição do Sistema de Extração

O sistema de extração adotado foi estabelecido a partir de informações levantadas durante a revisão bibliográfica sobre processos de extração através da técnica de MLS (Chaudhuri & Pyle, 1992b; Cowan & Ho, 1987; Konzen, 2000; Miranda et al, 1997 e Mok & Lee, 1994) e dos materiais já disponibilizados para a condução dos trabalhos. Desta forma, o sistema adotado é o que se apresenta na Tabela 2. caráter

Tabela 2: Constituição do sistema de extração.

Fase	Composição	Volume	Proporção
Interna	Carbonato de sódio	20 mL	1
Membrana	Alamina 336 (extratante)	60 mL	3
	ECA 4360 (surfatante)		
	Exxol D240/280 (diluyente)		
Externa	Ácido Láctico	160 mL	8

A proporção entre as fases escolhida para a realização dos experimentos foi fundamentada em dados da literatura e em restrições físicas impostas pelo sistema e equipamentos utilizados. Além disso, a proporção entre as fases interna e externa proposta permite um apreciável percentual de extração e uma boa dispersão entre as três fases.

As condições experimentais típicas utilizadas no presente trabalho são sumariadas na Tabela 3. Quando o efeito de uma variável era estudado, todas as outras variáveis eram mantidas constantes conforme estabelecido na Tabela 3. Para determinar os efeitos de mais de uma variável simultaneamente, foram realizados experimentos fatoriais. Neste caso, as variáveis estudadas foram modificadas simultaneamente, conforme definido no planejamento do experimento, enquanto as outras se mantiveram constantes.

Tabela 3: Condições experimentais típicas utilizadas no processo de extração.

Parâmetro		Condição
Soluções	Fase Interna	Carbonato de sódio: 1 mol/L
	Fase Membrana	Alamina 336 (extratante): 10%p/p
		ECA 4360 (surfatante): 2%p/p Exxol D240/280 (diluyente): qsp* 60 mL de solução
Fase Externa	Ácido Lático: 0,1 mol/L	
Velocidade de agitação		120 rpm
Temperatura		25 °C
pH da fase externa		1,5
Tempo de permeação		4 minutos

*qsp = quantidade suficiente para

4.2 - Procedimento Experimental

A metodologia empregada para a realização dos experimentos foi uma adaptação do procedimento utilizado por Miranda e colaboradores (1997) e

Konzen (2000) em trabalhos para extração, respectivamente, de ácido láctico e cítrico pela técnica de membrana líquida surfatante (MLS).

Conforme descrito no item 3.4.6, a técnica de separação por MLS é realizada em quatro etapas que incluem a emulsificação, permeação, sedimentação e desemulsificação.

A emulsificação foi realizada em liquidificador com capacidade para 1,5 L, sob condições de operação seguidas por Konzen (2000), ou seja, 13000 rpm, tempo de agitação de 5 minutos e temperatura ambiente.

O procedimento de emulsificação envolvia, primeiramente, a adição da fase membrana ao liquidificador e início da agitação na rotação especificada. Com o sistema sob agitação, adicionava-se lentamente a fase interna e iniciava-se a contagem do tempo após a adição de toda a fase interna ao liquidificador. O volume mínimo de emulsão preparado era de 200 mL para que o liquidificador pudesse promover uma agitação homogênea. A proporção entre a fase membrana e a fase interna era de 3:1, de acordo com os trabalhos de pesquisa de extração de ácido láctico por MLS desenvolvidos por Miranda et al, 1997. Esta proporção foi definida por Miranda e seus colaboradores porque permite, para uma concentração de surfatante de 2% p/p da fase membrana, a mesma utilizada neste trabalho, uma boa estabilidade da emulsão primária formada entre a fase interna e fase membrana, além de uniformidade do tamanho das gotículas de fase interna dispersas. A utilização de elevadas proporções entre a fase membrana e fase interna possibilita uma concentração mais eficiente do soluto de interesse pelo aumento entre a relação entre a fase externa e fase interna. A proporção entre a fase membrana e a fase interna de 3:1 permite ainda que se tenha, devido à diferença de densidade entre a emulsão formada e a fase externa, uma rápida separação entre fases na etapa de sedimentação (Konzen, 2000; Miranda et al, 1997).

A etapa de permeação era realizada de acordo com o sistema apresentado na Figura 9, onde são fornecidas as características do reator de extração e do

sistema de agitação adotados. A velocidade de agitação do sistema era mantida em uma condição considerada suficiente para manter a emulsão estável e não foi estudada sua influência na extração de ácido láctico. Desta forma, o valor da velocidade de agitação adotado foi de 120 rpm, valor utilizado em trabalhos realizados por Miranda et al (1997) em estudo preliminar das variáveis que afetavam o processo de extração do ácido láctico por MLS. Já o tempo de permeação é uma das variáveis estudadas neste trabalho, assim como a temperatura de extração.

O sistema ou reator de extração que foi utilizado, conforme apresentado esquematicamente na Figura 9, é constituído por um reator de acrílico aletado, envolto por uma camisa que permite a circulação de água para o controle de temperatura. A agitação da mistura era promovida por um impelidor mecânico do tipo hélice. A altura do impelidor foi ajustada de forma a permitir uma agitação homogênea e sem a formação de áreas de estagnação.

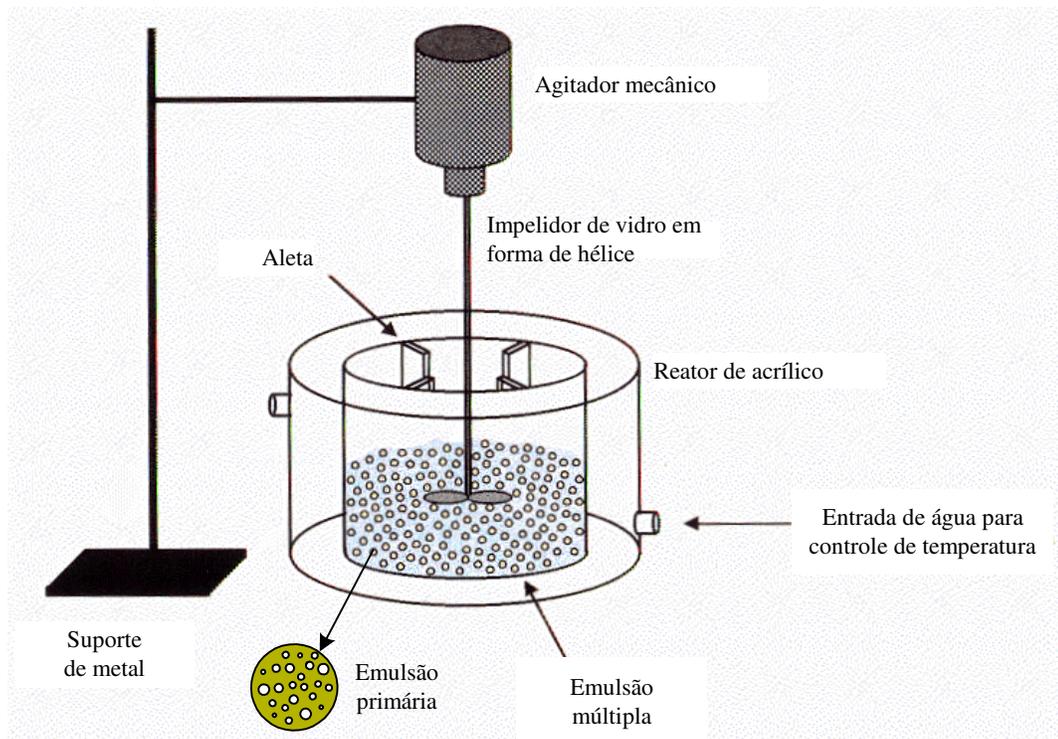


Figura 9: Representação da etapa de permeação e das características do reator de extração.

O procedimento de permeação envolvia a formação de 240 mL de emulsão múltipla numa proporção de 2:1 entre a fase externa e a emulsão primária. Esta proporção é a mesma utilizada por outros autores para separação de ácido láctico por MLS utilizando alamina 336 como extratante. Entre os autores pesquisados que utilizaram a mesma proporção utilizada neste trabalho (fase externa/emulsão primária = 2:1), é possível citar Chaudhuri e Pyle (1992b), que empregaram concentração inicial de ácido láctico na fase externa de 1 mol/L e de alamina 336 na fase membrana de 2 a 10%; Cowan e Ho (1987), que utilizaram concentração de ácido láctico igual a 0,125 mol/L e alamina 336 de 2 a 5%; além de Miranda e colaboradores (1997), que utilizaram concentração de ácido láctico igual a 0,2 mol/L e alamina 336 de 5 a 25%. Também Mok e Lee (1994), adotaram, em trabalhos de extração de ácido láctico inicialmente a 0,1 mol/L com Amberlite LA2 (uma amina secundária) como extratante, a proporção entre a fase externa e a emulsão primária igual a 2:1. No presente trabalho, a utilização dessa proporção leva a relação entre a fase externa e fase interna igual a 8:1, possibilitando uma concentração eficiente do soluto de interesse.

O volume total de emulsão (240 mL) foi definido por critérios de ordem prática, verificada nos ensaios exploratórios de extração de ácido láctico realizadas neste trabalho. Assim, o equipamento utilizado para a etapa de permeação (Figura 9) se mostrou eficiente para a contactação entre as fases para o volume adotado, quando o volume total da emulsão aumentava, havia a formação de regiões de baixa movimentação e a separação parcial entre a fase externa e a emulsão primária. Desta forma, para a produção da emulsão múltipla (emulsão primária + fase externa), eram adicionados, inicialmente, 160 mL da fase externa e, em seguida, eram adicionados, aos poucos, 80 mL da emulsão primária ao reator.

Encerrada a etapa de permeação, a emulsão primária, enriquecida com o ácido láctico, era transferida para um funil de separação para que pudesse ocorrer a separação das fases. A fase externa recolhida era armazenada para determinação da concentração de ácido láctico. A emulsão primária separada no funil era conduzida para a etapa de desmemulsificação.

A etapa de desemulsificação da emulsão primária carregada com o soluto era realizada em um coalescedor eletrostático que, ligado a uma fonte de alta tensão, promovia a quebra pela aplicação de campo elétrico de alta intensidade, permitindo uma separação rápida e eficiente das fases que compunham a emulsão. Durante a desemulsificação foi utilizada uma frequência de 2 kHz e o tempo médio de coalescência foi de 35 minutos. Essas condições foram definidas em ensaios exploratórios de extração de ácido láctico realizados no presente trabalho. O fim do processo de quebra era caracterizado pela presença de uma interface fase aquosa/fase orgânica bem definida, fase interna límpida e fase orgânica com a coloração original.

A célula de desemulsificação utilizada para quebra das emulsões produzidas no presente trabalho foi a mesma desenvolvida por Konzen (2000) em trabalhos para extração de ácido cítrico por MLS. Esta célula possui eletrodo interno de alumínio e externo de cobre isolados com PVC, com capacidade para 120 mL de emulsão. A fonte de alta tensão empregada utiliza tensão alternada e possui ajuste de frequência de 0,5 a 5,5 kHz.

Após o fim da etapa de desemulsificação, as fases aquosa (fase interna) e orgânica (fase membrana) eram separadas por meio de um funil de separação. As duas fases tinham os seus volumes medidos para determinação do inchamento da fase interna e avaliação das perdas associadas ao processo de separação.

As fases externas, membrana e interna foram armazenadas em frascos plásticos para análise e confirmação de resultados que se fizessem necessária. Apesar da possibilidade da re-utilização da fase membrana, essa opção não foi adotada neste trabalho por ter o mesmo o intuito de melhor avaliar a influência de outros variáveis no processo de separação. Além disso, os volumes da fase membrana coletados em cada ensaio de extração eram pequenos, em torno de 58 mL, e as características da fase membrana (concentração de extratante presente) não se repetiam com frequência em função da aleatorização dos ensaios adotada para

redução de fontes sistemáticas de erro nos experimentos. Alguns trabalhos, ainda não publicados, sobre a re-utilização da fase membrana no processo de extração por MLS têm sido desenvolvidos pelo Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Minas Gerais (DEQ-UFMG). Esses trabalhos têm demonstrado que existe a possibilidade da re-utilização dessas fases sem a necessidade de qualquer tratamento prévio.

Por fim, uma alíquota da fase interna e da fase externa foram submetidas à determinação da concentração de ácido láctico e sódio presentes. A partir desses resultados e dos volumes antes e após a permeação foi determinado o percentual de extração de ácido láctico e a avaliado a quebra da fase interna.

4.3 - *Materiais e Equipamentos Utilizados*

Na realização dos ensaios de extração e análise da composição das fases internas e externas foram usadas as seguintes substâncias, conforme fornecidas pelos fabricantes:

- Ácido clorídrico PA – Vetec;
- Ácido láctico (DL) PA – Vetec;
- Ácido sulfúrico PA – Vetec;
- Alamina 336 – General Mills Chemicals Inc.;
- Carbonato de Sódio PA – Cinética Química;
- ECA 4360 – Paramins;
- Exxol D240/280 – Exxon Chemicals;
- Fenolftaleína – Merck;
- Hidróxido de potássio PA – Merck;
- Hidróxido de Sódio PA – Ecibra;
- p-hidroxidifenil – Sigma;
- Solução tampão pH = 4;
- Solução tampão pH = 7;
- Sulfato de Cobre pentaidratado PA – Merck.

Para a condução dos trabalhos foram usados os seguintes equipamentos:

- Agitador magnético com aquecimento;
- Agitador mecânico Fisaton modelo 713D;
- Balança Analítica Metler modelo AE 200;
- Cronômetro Technos modelo Cronus 1/100;
- Desemulsificador eletrostático (Konzen, 2000);
- Espectrofotômetro de absorção atômica CG modelo AA 7000;
- Impelidor de vidro com três hélices de 2,7 cm;
- Liquidificador Walita Firenze;
- pHmetro digital Micronal modelo B474;
- Banho-maria Biomatic modelo 1062;
- Espectrofotômetro Hitachi modelo U-2001;
- Reator encamisado de acrílico com diâmetro interno de 9 cm e externo de 15 cm, altura de 12 cm e três aletas verticais de 0,8 cm de largura.

4.4 - Planejamento dos Experimentos

Para promover a ocorrência de eventos informativos durante os ensaios em laboratório, foi utilizada a ferramenta estatística denominada planejamento e análise de experimentos (Design of Experiments - DOE).

A partir de trabalhos prévios sobre extração de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, por MLS (Chaudhuri & Pyle, 1992b; Cowan & Ho, 1987; Konzen, 2000; Miranda et al, 1997 e Mok & Lee, 1994), foram definidas as variáveis, aqui chamadas de fatores, e os níveis, valores nos quais as variáveis estarão presentes. As variáveis-resposta estudadas foram a concentração de ácido na fase interna (mol/L) e o percentual de inchamento da fase interna (%v/v). Desta forma, os fatores estudados e os níveis utilizados são apresentados na Tabela 4.

Após a definição dos fatores e níveis a serem usados nos ensaios, foi definido como o planejamento mais adequado um experimento fatorial completo 2^4 sem repetições para o estudo da influência dos fatores listados na Tabela 4. O

objetivo desse estudo foi a obtenção de condições de operação do processo de extração que levaria a elevadas porcentagens de extração e baixos valores de inchamento da fase interna. Os resultados obtidos nos ensaios realizados são apresentados na Tabela 12 e Tabela 13 do Anexo B e discutidos no item 5.1.

Tabela 4: Fatores e níveis adotados para a condução da investigação da extração do ácido láctico por MLS.

Fatores	Níveis	
	Baixo	Alto
Concentração do Extratante (%p/p)	10	20
pH da fase externa	1,5	3,5
Temperatura (°C)	25	55
Tempo de permeação (minutos)	4	10

Foram feitos também quatro ensaios nos valores centrais dos níveis usados nos experimentos fatoriais. Os quatro ensaios foram feitos nas mesmas condições e os valores adotados são apresentados na Tabela 5. Esses experimentos são chamados de ponto central e têm como objetivo prático avaliar a existência de não linearidade do efeito dos fatores estudados nas variáveis-resposta. Outro benefício importante obtido com a realização dos quatro ensaios no ponto central é a medida da variabilidade do processo, de grande importância para estimar a significância dos fatores, e suas interações, na variável-resposta. A estimativa da variabilidade do processo através de medições no ponto central é de especial importância quando o planejamento fatorial escolhido não possui repetições, como no presente caso, e todos os fatores estudados se mostram importantes na descrição da variável-resposta.

Tabela 5: Valores adotados nos ensaios realizados no ponto central.

Fatores	Ponto Central
Concentração do Extratante (%p/p)	15
pH da fase externa	2,5
Temperatura (°C)	40
Tempo de permeação (minutos)	7

4.5 - Estudo do Comportamento do Sistema de Extração

Foi realizado também um estudo do comportamento do sistema de extração frente às seguintes variáveis:

- Tempo de permeação (2 a 12 minutos);
- Concentração de extratante na fase membrana (5 a 30 %p/p);
- pH inicial da fase externa (1,0 a 4,0) ;
- Concentração inicial de ácido láctico na fase externa (0,1 a 1,5 mol/L).

O comportamento do sistema foi avaliado através da verificação das seguintes respostas:

- Concentração de ácido láctico na fase interna;
- Concentração de ácido láctico na fase externa;
- Percentual de extração de ácido láctico da fase externa;
- Percentual de inchamento da fase interna.

Os resultados obtidos nesse estudo, apresentados na Tabela 14 e discutidos no item 5.2, permitirão a obtenção de informações do comportamento das variáveis tempo, concentração de extratante e pH em faixas de valores maiores do que os adotados no DOE, permitindo, desta forma, a verificação dos intervalos, níveis, das variáveis usadas no planejamento.

Por sua vez, o estudo da influência da concentração de ácido na fase externa na porcentagem de extração de ácido láctico seria de difícil análise pelo DOE nestes estudos iniciais, pois não havia ainda uma definição da melhor condição de operação do processo de extração. Além disso, a concentração de ácido láctico que será disponibilizada para purificação depende da matéria-prima utilizada, da utilização e forma de fermentação e dos processos industriais aplicados antes da purificação. Como exemplo desta situação, temos que a concentração do ácido láctico no soro é aproximadamente fixa e igual a 0,1% e os mostos fermentados têm concentração em valores entre 9 e 14% em massa de ácido láctico. Entretanto, o estudo do comportamento da concentração de ácido láctico na fase externa sobre a porcentagem de extração de ácido láctico é de grande importância, pois pode dar informações sobre os mecanismos envolvidos no processo de separação e levar a conclusões que justifiquem o uso de mais um estágio de permeação para o aumento da eficiência do processo de extração. Assim, poderia ser avaliada, sob o ponto de vista técnico e econômico, a possibilidade da extração do ácido láctico ainda contido na fase externa após a permeação em um novo estágio de permeação tendo como objetivo o aumento da recuperação do ácido láctico contido na solução de alimentação (fase externa). Além disso, as curvas de comportamento do sistema geram importantes informações sobre o processo de operação, que podem mostrar descontinuidades e não linearidade do efeito das variáveis estudadas na extração do ácido láctico.

4.6 - Métodos Analíticos

4.6.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁCTICO

Neste trabalho, a determinação da concentração do ácido láctico foi feita por espectrofotometria de acordo com uma adaptação do método proposto por Barker e Summerson (1941). O método adaptado utilizado para análise de ácido láctico é apresentado no Anexo A. Este método foi adotado devido à facilidade de execução e ao reduzido custo de materiais e equipamentos envolvidos. Ele consiste na conversão do ácido láctico em acetaldeído e subsequente formação de um complexo colorido com o p-hidroxidifenil, cuja absorção máxima de luz

ocorre no comprimento de onda de 560 nm (Barker & Summerson, 1941; Pereira, 1991).

4.6.2 - MEDIDA DA QUEBRA DA FASE INTERNA

Para a medida quantitativa da quebra da fase interna durante a etapa de permeação, foi medida a concentração de sódio, originalmente contido na fase interna, presente na fase externa. A intensidade de quebra da fase interna está relacionada com a estabilidade da fase membrana e o inchamento da fase interna. O teor de sódio foi medido nas fases interna e externa pela técnica de absorção atômica antes e após a permeação. Cabe ressaltar que todas as soluções de fase externa utilizadas não continham inicialmente o íon sódio e não se levou em consideração o transporte de sódio da fase interna para a fase externa por difusão.

4.6.3 - MEDIDA DO INCHAMENTO DA FASE INTERNA.

O transporte de água para o interior da fase interna foi medido pela relação entre o volume desta fase antes e após a etapa de permeação. Assim, o inchamento foi expresso como o aumento do volume da fase interna (volume final da fase interna menos o volume inicial da mesma) dividido pelo volume inicial da fase interna como representado na Equação 1. O inchamento foi expresso em porcentagem e os volumes medidos em provetas.

$$\text{Inchamento} = \frac{(V_0 - V_f)}{V_0} \times 100$$

Equação 1

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - EXPERIMENTOS FATORIAIS

A partir das informações levantadas na literatura sobre a extração de ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico, pela técnica de MLS foram definidos os fatores (variáveis) potencialmente influentes no processo estudado, bem como os níveis (valores) adotados no planejamento de experimentos. Desta forma, foi avaliada a influência dos fatores concentração de extratante (%p/p), tempo de permeação (minutos), pH da fase externa e temperatura de permeação (°C). Os níveis adotados para esses fatores são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Fatores e níveis adotados no planejamento de experimento

Fatores	Níveis		
	Baixo	Médio	Alto
Concentração do Extratante (%p/p)	10	15	20
pH da fase externa	1,5	2,5	3,5
Temperatura (°C)	25	40	55
Tempo de permeação (minutos)	4	7	10

Após a execução dos ensaios, foram calculados os efeitos, as significâncias dos fatores de interesse e a análise de variância para a concentração de ácido láctico na fase interna e para o inchamento da fase interna utilizando o software estatístico MINITAB®.

A determinação dos efeitos significativos e da melhor condição de operação do processo de extração, segundo o planejamento conduzido, foram feitos a partir da análise gráfica por ser mais intuitivo e prático. A outra alternativa para o estabelecimento das conclusões dos planejamentos fatoriais é a análise de variância. As decisões quanto a significância dos fatores estudados na análise de variância são feitas através da estatística F, com os graus de liberdade

estabelecidos a partir do número de repetições realizadas e do nível de significância adotado. Também existe a possibilidade da avaliação dos efeitos dos fatores utilizados em um experimento fatorial através da estatística t-student, ou da probabilidade (p-valor) associada. A estatística t-student é calculada a partir da variância, medida da variabilidade que equivale ao quadrado do desvio padrão, das medidas da variável-resposta (Werkema & Aguiar, 1996). Não obstante a utilização da análise gráfica na avaliação do experimento fatorial, os dados do planejamento, os valores das estimativas dos efeitos, os valores da estatística t-student e o p-valor para medida da significância dos efeitos e a análise de variância obtida são apresentados no Anexo B.

5.1.1 - ANÁLISE DO EXPERIMENTO FATORIAL PARA A CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO NA FASE INTERNA

O objetivo desse estudo foi determinar as condições de concentração de extratante, tempo de permeação, pH e temperatura de permeação que levassem a uma maior recuperação de ácido lático na fase interna.

Para evitar que variáveis potencialmente influentes no processo fossem descartadas no planejamento de experimentos, foi utilizado o valor do nível de significância (alfa) de 0,2 ou 20%. O valor de alfa está associado à probabilidade de se rejeitar a possibilidade de que uma determinada variável seja significativa, quando, na realidade, ela é significativa.

Assim, o gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores individualmente e nas suas interações é apresentado na Figura 10. Cabe lembrar que os valores dos efeitos e a probabilidade de significância foram são apresentados no item B.1.1 do Anexo B. Esses efeitos foram gerados a partir dos dados coletados na etapa de execução dos experimentos deste trabalho, cujos resultados são apresentados na Tabela 12 e Tabela 13 do Anexo B.

Na Figura 10, a linha tracejada vertical representa a linha de corte para a probabilidade de significância, ou seja, a possibilidade de um fator ou interação

entre fatores ser significativa. Ainda na mesma figura, as colunas horizontais representam a magnitude dos efeitos. Desta forma, é possível afirmar que apenas o pH (Fator C) se apresentou como significativo para a descrição da concentração da fase interna nas condições utilizadas no planejamento de experimentos. Mesmo não se mostrando significativo, a temperatura (Fator D) e a interação entre concentração de extratante, pH e temperatura (Interação ACD) mostraram elevado efeito na variável-resposta.

Assim sendo, foi gerado um segundo modelo no planejamento de experimentos apenas com as variáveis concentração de extratante, pH e temperatura, sem a presença do fator tempo de permeação. O segundo modelo para a avaliação da concentração do ácido láctico na fase interna segue um planejamento 2^3 com duas réplicas e quatro pontos centrais.

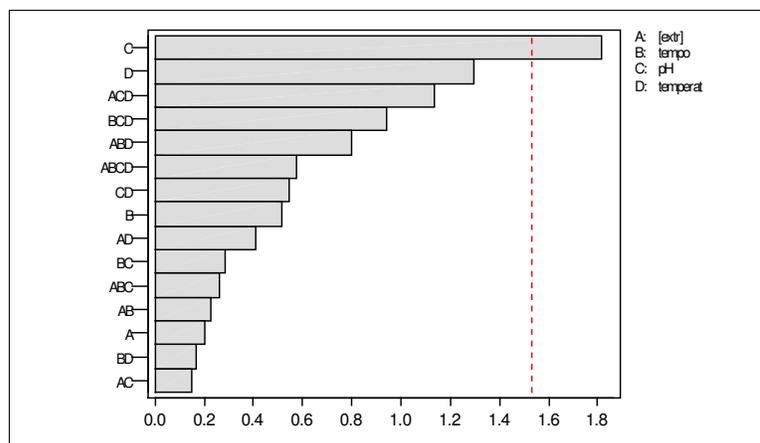


Figura 10: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS. Variável-resposta: concentração de ácido láctico na fase interna. Nível de significância 0,2.

Pela análise do gráfico de Pareto para os efeitos do segundo modelo (Figura 11) é possível perceber que o pH (Fator B); a temperatura (Fator C) e a interação entre a concentração de extratante, pH e temperatura (Interação ABC) se mostraram significativos.

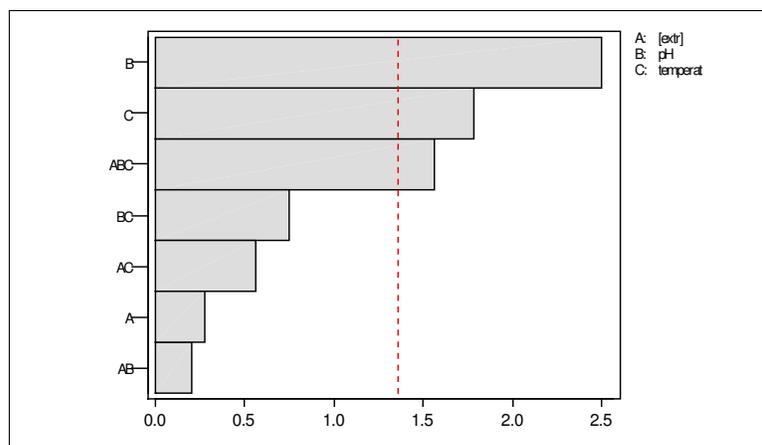


Figura 11: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS, segundo modelo de planejamento. Variável-resposta: concentração de ácido láctico na fase interna. Nível de significância 0,2.

Como a interação entre a concentração de extratante, pH e temperatura foi significativa, a escolha da melhor condição de operação do processo deve ser escolhida através de um gráfico de interação desses três fatores. Esta análise é feita através de um gráfico de interação do tipo cubo apresentado na Figura 12.

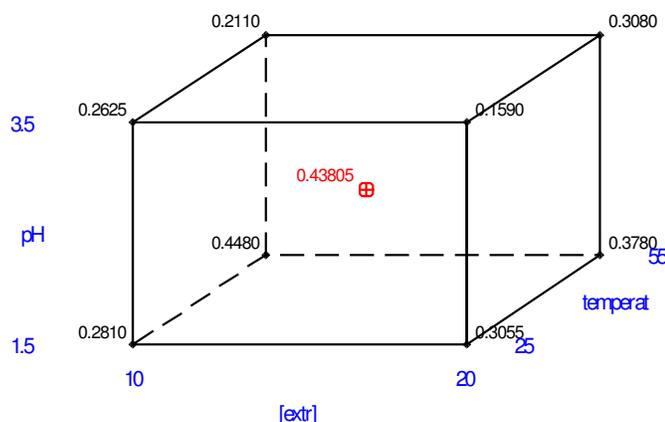


Figura 12: Gráfico cubo para análise da interação entre concentração de extratante, pH e temperatura na extração de ácido láctico por MLS. Os valores nos vértices representam a concentração de ácido láctico. O valor no centro do cubo representa o ponto central.

Pela análise do gráfico do tipo cubo apresentado na Figura 12 é possível perceber que a condição que leva a maiores concentrações de ácido láctico na fase interna é:

- Concentração de extratante = 10% p/p;
- Temperatura = 55 °C;

- pH = 1,5.

O tempo de permeação não se mostrou significativo, nas condições adotadas no experimento, para o processo de recuperação de ácido láctico. Assim, sua condição foi definida de forma a proporcionar maior rapidez no processo de extração, que é conseguido com um menor tempo de permeação. Desta forma, o tempo de permeação que se mostra mais adequado é:

- Tempo = 4 minutos.

Uma outra forma de analisar a interação de três fatores em um experimento fatorial é a divisão dos dados em 2 planilhas ou conjunto de dados. O primeiro conjunto terá apenas os ensaios que foram conduzidos com pH da fase externa igual a 1,5 (nível -1). A outra planilha terá os ensaios realizados com pH igual a 3,5 (nível +1). Assim, foi feito um gráfico de interação para cada conjunto de dados, conforme apresentado na Figura 13. Esta divisão de dados permite avaliar a forma de ocorrência da interação concentração de extratante e temperatura em cada nível da variável pH.

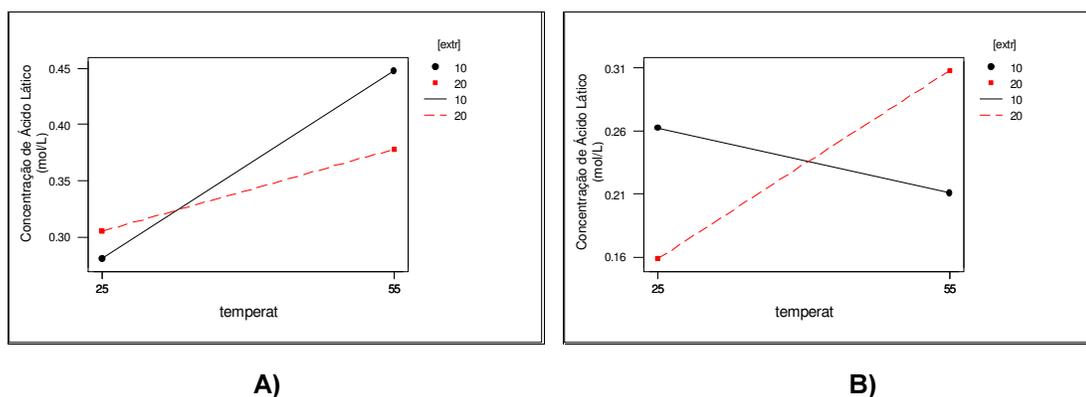


Figura 13: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e temperatura na concentração de ácido láctico na fase interna em diferentes valores de pH. A) pH = 1,5. B) pH = 3,5.

A conclusão que se chega com a utilização do gráfico de interação entre concentração de extratante e temperatura nos diferentes valores de pH é a mesma obtida pelo gráfico do tipo cubo, ou seja, as melhores condições de operação do processo são:

- Concentração de extratante = 10% p/p;

- Temperatura = 55 °C;
- pH = 1,5;
- Tempo = 4 minutos.

Porém, as informações obtidas com a divisão do conjunto de dados são mais ricas. Pelas Figuras 13A e 13B, é possível perceber diferentes comportamentos da concentração de extratante e da temperatura para diferentes valores de pH. Através dos resultados obtidos, é possível afirmar que o comportamento da interação concentração de extratante e temperatura é diferente em valores de pH distintos. Em pH 1,5, o aumento da concentração de extratante provoca, quando também se aumenta a temperatura, uma redução da concentração de ácido láctico na fase interna. Essa mesma modificação das condições do processo causa um aumento na concentração de ácido láctico quando o pH é de 3,5. Para o entendimento da razão deste comportamento seria necessário um maior conhecimento dos fenômenos físicos associados com o processo de extração por MLS, além de um modelo físico que descreva o transporte tanto do ácido láctico como da água em função das variáveis aqui estudadas. Fora dessa situação, apenas algumas hipóteses sem possibilidade atual de confirmação seriam possíveis levantar.

A condição apontada como mais satisfatória pelo planejamento de experimento permite a obtenção de concentrações médias de ácido láctico na fase interna da ordem de 0,45 mol/L, inchamento da fase interna de 50% em volume. Nesta condição, a concentração de sódio na fase externa, indicador da intensidade de quebra da emulsão primária durante a permeação, foi de 526,0 mg/L, enquanto a média da concentração de sódio na fase externa para todos os experimentos de permeação realizados foi de 134,6 mg/L. Portanto, a quebra da emulsão nas condições citadas é considerada elevada em comparação com outras condições avaliadas no experimento fatorial. Maiores informações sobre o comportamento da quebra da emulsão, através da medida da concentração de sódio na fase externa, podem ser vistas no Anexo B.

Além de possibilitar a estimativa da variabilidade do processo de extração, imprescindível para a determinação do efeito dos fatores no planejamento 2^4 , os quatro experimentos realizados nos pontos centrais mostraram que existe um forte efeito de curvatura em pelo menos uma das variáveis estudadas. Isto significa que as variáveis estudadas como fatores não possuem efeito linear na variável-resposta. Esta constatação pode ser vista na Figura 14, onde são apresentados os gráficos dos efeitos das variáveis estudadas na concentração de ácido láctico na fase interna.

Nessa figura, a linha horizontal tracejada representa o valor médio da concentração de ácido láctico na fase interna (0,29 mol/L) sem a inclusão dos quatro ensaios realizados no ponto central. O valor médio da concentração de ácido láctico obtido nos quatro experimentos no ponto central (0,44 mol/L) é representado por um ponto cheio no centro de cada diagrama. Os outros dois pontos, que são ligados por uma linha em cada um dos diagramas, representam o valor médio obtido para todos os experimentos realizados no nível baixo e alto de cada fator estudado. Assim, é notado que a concentração de ácido láctico obtido no ponto central é consideravelmente maior que a concentração média obtida para cada fator estudado.

A presença do efeito da curvatura pode ser avaliada através da análise de variância para a concentração de ácido láctico na fase interna (apresentado no Anexo B). Na análise de variância, pode ser visto que a possibilidade de haver efeito de curvatura para uma das variáveis é maior que 99%, ou seja, o efeito de curvatura tem um p-valor menor que 0,01.

O efeito da curvatura será melhor avaliado durante a análise das curvas de comportamento do sistema de extração.

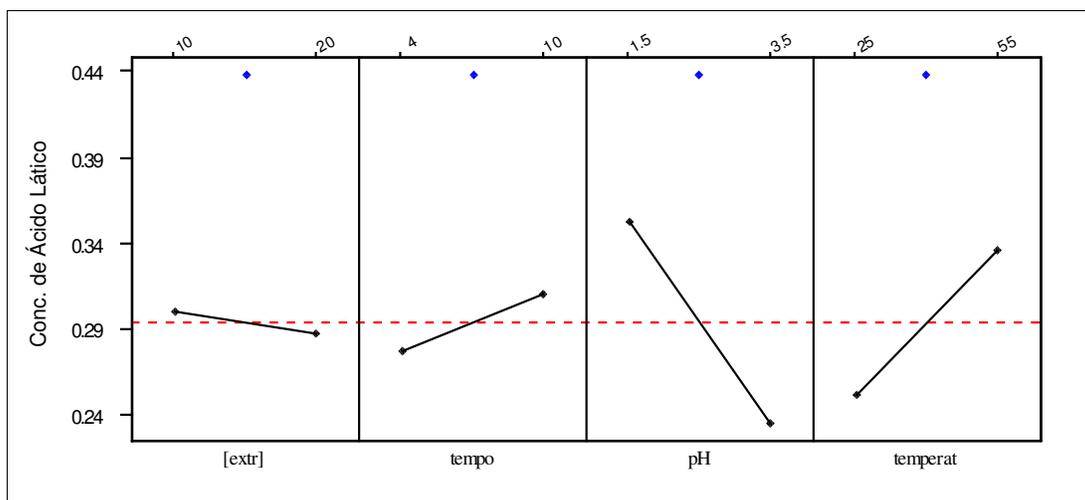


Figura 14: Gráfico dos efeitos principais da concentração de extratante ([extr]), tempo, pH e temperatura na concentração de ácido láctico na fase interna.

5.1.2 ANÁLISE DO EXPERIMENTO FATORIAL PARA O INCHAMENTO DA FASE INTERNA

Uma outra variável-resposta considerada durante o planejamento de experimento foi a porcentagem de inchamento da fase interna provocado pelo transporte de água da fase externa.

O objetivo desse estudo é determinar as condições de concentração de extratante, tempo de permeação, pH e temperatura de permeação que permitam um menor inchamento da fase interna.

O gráfico de Pareto para os efeitos do planejamento 2^4 com quatro medidas no ponto central é apresentado na Figura 15. Foram considerados significativos a temperatura (Fator D); pH (Fator C); interação concentração de extratante, tempo e pH (interação ABC) e a interação concentração de extratante e temperatura (interação AD).

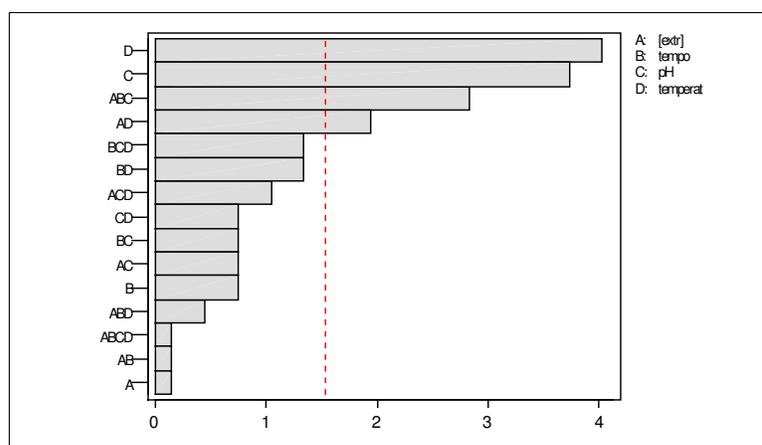


Figura 15: Gráfico de Pareto para os efeitos dos fatores estudados na extração de ácido láctico por MLS. Variável-resposta: porcentagem de inchaço da fase interna. Nível de significância 0,2.

Para a definição das melhores condições de operação em relação ao inchaço da fase interna foram construídos os gráficos de interação entre a concentração de extratante e tempo em diferentes valores de pH (Figura 16) e o gráfico da interação entre a concentração de extratante e a temperatura (Figura 17).

Pela análise dos gráficos contidos na Figura 16, é possível definir que as condições que levam a um menor inchaço da fase interna foram as seguintes:

- Concentração de extratante = 10%;
- Tempo = 4 minutos;
- pH (fator C) = 3,5.

Por sua vez, a análise do gráfico de interação entre concentração de extratante e a temperatura (Figura 17) indica que um menor transporte de água para fase interna é conseguido com a concentração de extratante de 10% e:

- Temperatura = 25 °C.

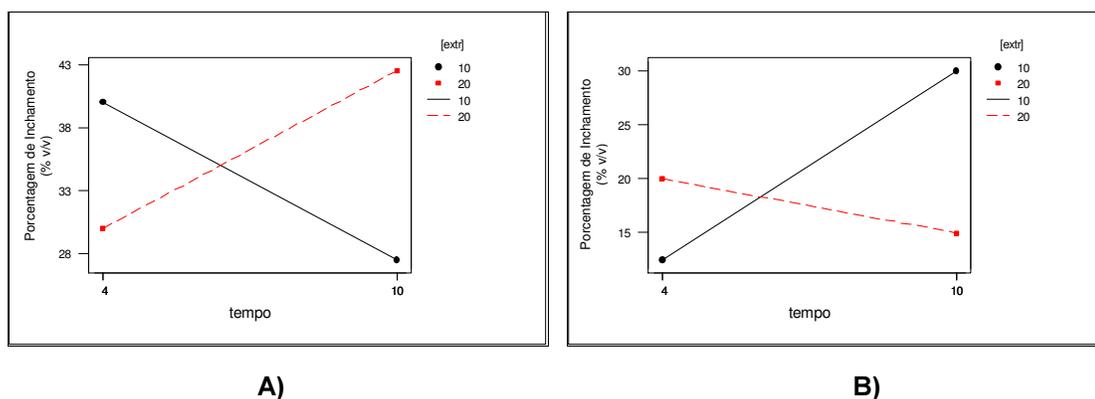


Figura 16: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e tempo na porcentagem de inchamento da fase interna em diferentes valores de pH. A) pH = 1,5. B) pH = 3,5.

Essa condição permite a obtenção de concentrações médias de ácido láctico na fase interna de 0,122 mol/L e inchamento da fase interna de 10% em volume.

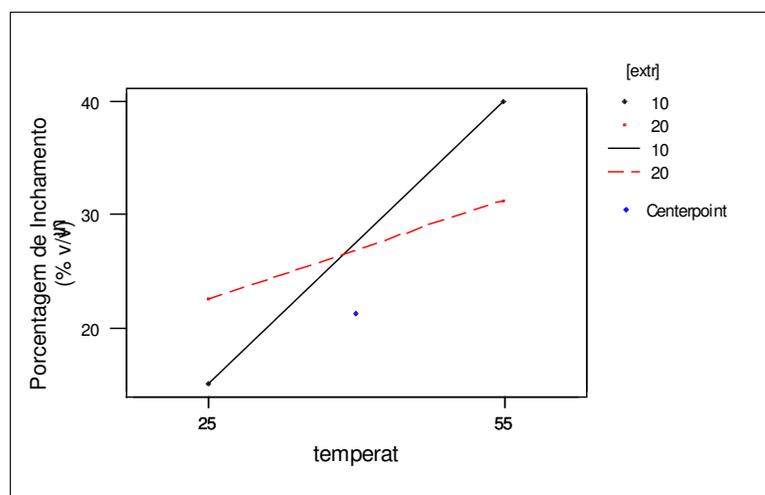


Figura 17: Gráfico do efeito da interação entre concentração de extratante e a temperatura na porcentagem de inchamento da fase interna.

A análise de variância indica que o efeito da curvatura, ou da não linearidade das variáveis, é pouco significativo (p-valor maior que 0,2) na descrição do comportamento do inchamento da fase interna. Entretanto, a realização dos ensaios no ponto central permitiu uma estimativa confiável dos erros

(variabilidade envolvida) e dos efeitos dos fatores e suas interações na análise dos experimentos.

5.1.3 - DEFINIÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO

Com base nos estudos realizados nas duas seções anteriores é possível definir as condições de operação que levam a um desempenho mais satisfatório do processo de extração do ácido láctico pela técnica de Membrana Líquida Surfatante (MLS). Os experimentos fatoriais conduzidos tratavam separadamente da recuperação de ácido láctico na fase interna e do inchamento da mesma. Porém para definição da melhor condição de operação é necessário levar em consideração essas duas respostas simultaneamente. Assim, é procurada uma condição que conduza a elevadas concentrações de ácido láctico na fase interna, permitindo, conseqüentemente, elevada recuperação de ácido láctico, e reduzidos percentuais de inchamento. Essa condição possibilita menores volumes da solução recuperada e menor transporte de água e outras espécies indesejadas na fase interna. A condição que melhor reuniu essas características é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7: Melhor condição de operação do processo de extração de ácido láctico de acordo com os experimentos fatoriais para a concentração de ácido láctico na fase interna e inchamento da fase interna.

Fator	Melhor Condição
Concentração do Extratante (%p/p)	20
PH da fase externa	1,5
Temperatura (°C)	25
Tempo de permeação (minutos)	4

Sob as condições definidas na Tabela 7, as respostas do sistema de extração utilizado para recuperação de ácido láctico, conforme apresentado na Tabela 12 do Anexo B, foram:

- Concentração de lactato na fase interna após a permeação: 0,365 mol/L;

- Inchamento da fase interna: 25% v/v;
- Percentual de extração de ácido láctico da fase externa: 68% mol/mol;
- Concentração de sódio na fase externa: 43,0 mg/L

Todavia, as respostas observadas nos ensaios no ponto central, cuja condições são rerepresentadas na Tabela 8 e os resultados obtidos após a execução dos ensaios são transcritos na Tabela 12 do Anexo B, se mostraram mais satisfatórias do que as respostas obtidas nos pontos fatoriais. Essa afirmação é verdadeira, sobretudo, quando se tem em vista conciliar tanto elevadas concentrações de ácido láctico na fase interna como reduzidos percentuais de inchamento da fase interna. Sob a condição definida nos ensaios no ponto central as respostas médias do sistema de extração de ácido láctico pela técnica de MLS foram:

- Concentração de lactato na fase interna após a permeação: 0,438 mol/L;
- Inchamento da fase interna: 21,5% v/v;
- Percentual de extração de ácido láctico da fase externa: 77% mol/mol;
- Concentração de sódio na fase externa: 34,5 mg/L.

Assim, nas condições abordadas no planejamento de experimento para a recuperação de ácido láctico e inchamento da fase interna, a utilização dos valores adotados no ponto central, Tabela 8, leva a melhores resultados de extração de ácido láctico.

Tabela 8: Valores adotados nos ensaios realizados no ponto central.

Fatores	Ponto Central
Concentração do Extratante (%p/p)	15
pH da fase externa	2,5
Temperatura (°C)	40
Tempo de permeação (minutos)	7

5.2 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO DO SISTEMA DE EXTRAÇÃO COM RELAÇÃO A ALGUMAS VARIÁVEIS-CHAVE

Após a definição das condições operacionais satisfatórias para a extração do ácido láctico, determinadas através das informações obtidas nos experimentos fatoriais, foi realizado um estudo do comportamento do sistema para as variáveis tempo, temperatura de permeação, pH e concentração inicial de ácido na fase externa sobre a concentração de ácido láctico na fase interna e externa após a extração. Foram estudados também o comportamento do percentual de extração de ácido láctico pela técnica de Membrana Líquida Surfatante e o inchamento da fase interna sob as mesmas condições.

Através do estudo realizado, foram geradas as curvas de comportamento alterando-se um fator de cada vez, método denominado “One Factor at Time” ou OFAT, nas faixas de operação apresentadas na Tabela 10. As variáveis não estudadas foram mantidas nas condições definidas como típicas na descrição da Metodologia (item 4). Estas condições são resumidas na Tabela 3, reapresentada a seguir:

Tabela 9: Condições experimentais típicas.

Parâmetro		Condição
Soluções	Fase Interna	Carbonato de sódio: 1 mol/L
	Fase Membrana	Alamina 336 (extratante): 20%p/p
		ECA 4360 (surfatante): 2%p/p Exxol D240/280 (diluyente): qsp* 60 mL de solução
Fase Externa	Ácido Láctico: 0,1 mol/L	
Velocidade de agitação		120 rpm
Temperatura		25 °C
pH da fase externa		1,5
Tempo de permeação		10 min

*qsp = quantidade suficiente para

Tabela 10: Condições utilizadas na geração das curvas de comportamento do sistema de extração.

Variável	Faixa de Operação	Intervalo
Conc. Inicial de ácido láctico na fase externa (mol/L)	0,1 – 1,5	0,2
Concentração de extratante (%p/p)	5 – 30	5
PH	1,0 – 4,0	0,5
Tempo (min)	2 – 12	2

Os resultados obtidos nesses estudos são apresentados na **Erro! A origem da referência não foi encontrada.** do Anexo B e discutidos em seguida.

5.2.1 - TEMPO DE PERMEAÇÃO

O tempo de permeação, conforme pode ser visto na Figura 18, é um parâmetro importante no processo de extração de ácido láctico pela técnica de MLS. O valor ideal para o tempo de permeação deve permitir uma elevada quantidade de ácido láctico transportado para fase interna, associada a um reduzido inchamento, ou seja, reduzido transporte de água para essa mesma fase.

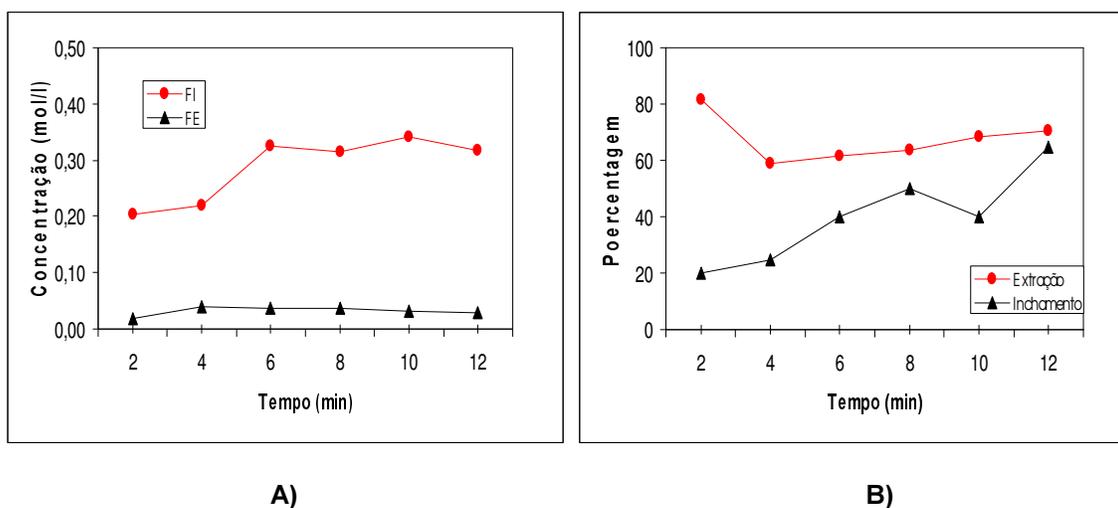


Figura 18: Efeito do tempo de permeação no processo de extração de ácido láctico. As condições são definidas conforme apresentadas na Tabela 3. A) Concentração do ácido láctico da Fase Externa (FE) e Interna (FI). B) Porcentagem de extração e inchamento da fase interna.

Pela Figura 18A pôde ser observado que há um aumento inicial da concentração de ácido láctico na fase interna até o tempo de 6 minutos. Após este tempo percebeu-se uma estabilização da concentração de ácido láctico tanto na fase

externa como na interna. Quanto ao percentual de inchamento, Figura 18B, houve uma elevação gradual ao longo do tempo. Esses comportamentos levam a crer que há um equilíbrio entre o transporte de água para a fase interna e a quebra da fase membrana, fazendo com que a porcentagem de extração de ácido láctico da fase externa tenha um crescimento pouco significativo entre 6 e 12 minutos de permeação. Assim, o tempo de permeação que produziu respostas mais satisfatórias foi em torno de 6 minutos. Em tempos superiores a 6 minutos, o inchamento da fase interna tende a crescer, resultando em um grande volume de fase interna na solução extratante (fase interna) e instabilidade da fase membrana. Além disto, não há aumentos significativos nas concentrações de ácido láctico na fase interna para tempos superiores a 6 minutos. Essa observação concorda com o constatado durante a condução do experimento fatorial para a concentração de ácido na fase interna, em que o tempo de permeação nos intervalos estudados, 4 e 10 minutos, se mostrou pouco significativo. Por sua vez, o tempo de permeação foi considerado significativo e com efeito positivo no aumento do inchamento nos experimentos fatoriais.

As observações do comportamento de extração obtidos neste trabalho concordam com os trabalhos conduzidos nos trabalhos de pesquisa de extração de ácido láctico por MLS desenvolvidos por Miranda e colaboradores (1997). Miranda e seus colaboradores definem como condição mais favorável para a recuperação de ácido láctico sob condições semelhantes, porém com $\text{pH} = 2$ e concentração de extratante (alamina 336) igual a 15%, que o melhor tempo de permeação era em torno de 10 minutos. Em trabalhos de modelagem e simulação de processos de extração por MLS, Mansur (1994) afirma que o tempo de permeação favorece o processo de extração por permitir que uma quantidade maior do soluto seja extraída. Ainda segundo Mansur, o tempo de permeação possui também um efeito adverso no processo de extração, pois expõe a membrana à força cisalhante imposta pelo sistema de agitação do sistema. Este fenômeno leva à ruptura dos glóbulos e perda do soluto extraído para a fase externa, reduzindo a eficiência de recuperação do soluto. Dessa forma, outra consideração que deve ser feita na definição de uma melhor condição de tempo de extração é a velocidade de agitação da emulsão múltipla

durante a extração. No presente estudo, a agitação utilizada foi de 120 rpm conforme apresentado na Tabela 3.

5.2.2 - pH DA FASE EXTERNA

O mecanismo mais aceito na literatura para a extração de ácido láctico por MLS tendo como extratante uma amina terciária é o transporte facilitado simples com reação química. Nesse mecanismo, a influência do pH no processo de extração de ácido está relacionada à ionização do ácido e a protonação da amina (Chaudhuri & Pyle, 1992a; Cowan e Ho, 1987).

O gráfico da concentração de ácido láctico na fase interna em função do pH da fase externa apresentou um comportamento parabólico, conforme mostrado na Figura 19A. Por essa figura, é observado que há uma significativa variação das respostas do sistema de extração com a alteração do pH. O valor máximo de ácido láctico recuperado foi obtido para os valores de pH entre 2 e 2,5. Nesta mesma faixa de pH, também foi observado os menores valores de ácido láctico remanescente na fase externa após a permeação (refinado).

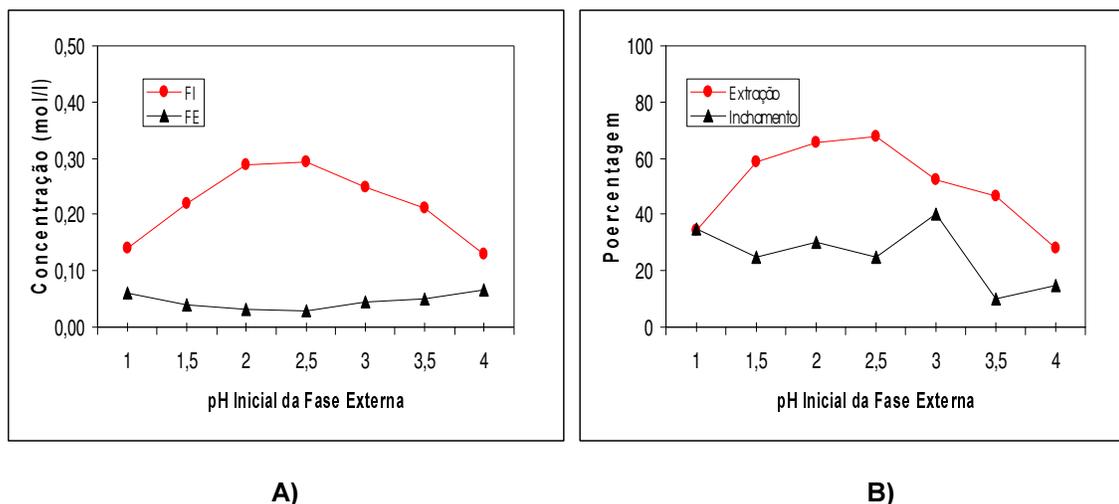


Figura 19: Efeito do pH inicial da fase externa no processo de extração de ácido láctico. As condições são definidas conforme apresentadas na Tabela 3. A) Concentração do ácido láctico da Fase Externa (FE) e Interna (FI). B) Porcentagem de extração e inchamento da fase interna.

O mesmo comportamento não linear do sistema de extração com a variação do pH mostrado na Figura 19A foi percebido nos experimentos fatoriais para a concentração de ácido lático na fase interna. Os experimentosm fatoriais mostraram também que o pH, nas condições estudadas nos experimentos fatoriais, era a variável mais influente no processo de recuperação de ácido lático para a fase interna e que valores de pH iguais a 1,5 levavam a maiores concentrações de ácido lático na fase interna. Os resultados dos experimentos fatoriais para o inchamento da fase interna também concordam com o observado na Figura 19B, em que o comportamento é, aproximadamente, linear e que valores de pH mais elevados proporcionam menores percentuais de inchamento.

As observações feitas para o comportamento da extração em função do pH da fase externa concordam com o verificado por Miranda e colaboradores (1997). Estes autores chegaram à conclusão que a máxima de extração de ácido lático pela técnica de MLS, tendo a alamina 336 como extratante, ocorre em pH entre 2,0 e 2,2. Em função do ácido lático estar pouco ionizado nesta faixa de pH (pKa ácido lático igual a 3,86), os autores sugerem que a protonação da amina parece ser mais influente sobre o processo global de extração do que a ionização do ácido lático. É possível observar, também, a correlação dos resultados obtidos no presente trabalho com os obtidos por Cowan e Ho (1987) nos estudos de separação de ácido lático por MLS a partir de meios fermentados. Nestes trabalhos, Cowan e Ho utilizaram alamina 304 como extratante e, após seus trabalhos, concluíram que a extração de ácido lático por MLS leva a melhores resultados em pH menores que 4 por permitir a protonação da alamina 304 e garantir que o ácido lático esteja, preferencialmente, na forma não dissociada. É importante levar em consideração que a alamina 304 é mais facilmente protonada que a alamina 336 (Konzen, 2000). Isso justifica porque Cowan e Ho encontraram que o valor ideal de pH de extração de ácido lático era 4, enquanto, para extração de ácido lático com alamina 336, Miranda e colaboradores concluíram que o pH ideal está em torno de 2, mesmo valor observado no presente trabalho.

5.2.3 - CONCENTRAÇÃO DO EXTRATANTE

O transportador possui um papel de grande importância no processo de extração por MLS. Ele é o principal responsável pela seletividade e taxa de transporte do soluto nos processos de extração que têm o mecanismo do tipo II, ou seja, mecanismo facilitado por transportador. A discussão dos tipos de mecanismo de extração envolvidos na técnica de MLS pode ser vista no item 3.4.1. O efeito da concentração de extratante presente na fase membrana sobre a extração de ácido láctico é apresentado nas Figura 20.

Pode ser observado através da Figura 20A, nas condições estudadas, que o aumento da concentração de extratante na membrana aumenta a capacidade do sistema de transportar o ácido láctico da fase externa para a interna. Assim, a concentração de ácido láctico na fase interna teve um aumento logarítmico com a concentração de extratante, atingindo valores de 0,40 mol/L quando a concentração de alamina era de 25% p/p. Para concentrações superiores a 20%, o aumento da concentração de extratante não produz uma modificação significativa na porcentagem de extração do ácido láctico. Esse comportamento pode estar associado com a baixa disponibilidade de ácido láctico na fase externa, que torna menores as quantidades transportadas, além do efeito do inchamento e quebra da emulsão primária se tornar mais representativo. Como todos os ensaios foram realizados com o mesmo tempo de permeação e concentração inicial de ácido láctico na fase externa (4 minutos e 0.1 mol/L), foi percebido que o aumento da concentração de extratante proporciona um aumento no inchamento da fase interna, conforme apresentado na Figura 20B. Este comportamento mostra que o extratante também possui um papel relevante no transporte de água para a fase interna.

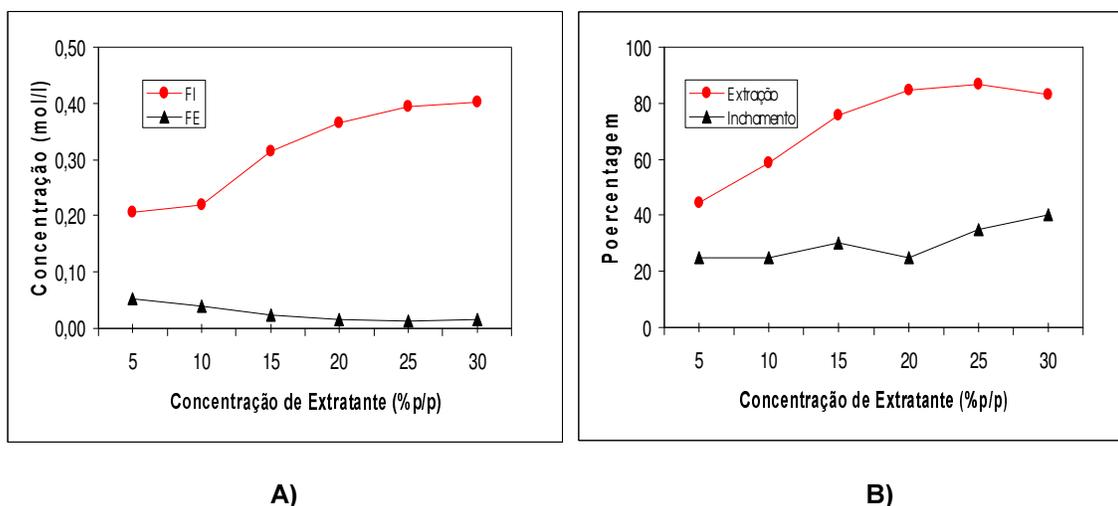


Figura 20: Efeito da concentração de extratante na fase membrana no processo de extração de ácido láctico. As condições são definidas conforme apresentadas na Tabela 3. A) Concentração do ácido láctico da Fase Externa (FE) e Interna (FI). B) Porcentagem de extração e inchamento da fase interna.

Pela análise do descrito anteriormente, é possível perceber que a definição da melhor concentração de extratante para a recuperação de ácido láctico por MLS deve levar em consideração a concentração inicial de ácido láctico na fase externa. Além disto, de acordo com os resultados do planejamento de experimentos para a definição da melhor concentração de extratante, é necessário um estudo conjunto envolvendo a concentração de extratante, o pH da fase externa e a temperatura de permeação. Essas três variáveis mostraram ter significativa interação para a descrição da concentração de ácido láctico na fase interna. Prova disto é que o planejamento de experimentos apontou como melhor condição de extração a concentração de alamina de 10% e temperatura de 55 °C, diferentemente do que é observado na Figura 20A, que mostra como melhor condição a concentração de 20 a 25 % de extratante a 25 °C. É importante destacar que a 55 °C o efeito do inchamento da fase interna é muito mais significativo – devido a redução da viscosidade da fase emulsão e a maior difusividade da água na membrana – e o transporte de água pelo extratante deve ser consideravelmente maior do que a 25 °C.

O perfil logarítmico da porcentagem de extração de ácido láctico com a concentração de alamina 336 está de acordo com os trabalhos de Miranda e

colaboradores (1997) para extração de ácido láctico, assim como de Konzen (2000) para a extração de ácido cítrico. O comportamento linear do percentual de inchamento em uma extensa faixa de concentração de extratante é reportado por vários autores. Este comportamento é observado para diversos tipos de extratante, entre eles a alamina 336. (Konzen, 2000; Patnaik, 1995).

5.2.4 - CONCENTRAÇÃO INICIAL DE ÁCIDO LÁCTICO NA FASE EXTERNA

Como já exposto na Metodologia, especificamente no item 4.5, a concentração inicial de ácido láctico em qualquer processo de extração depende da origem da solução a ser tratada e dos processos pelos quais essa solução foi submetida. O conhecimento da concentração inicial da espécie a ser recuperada pelo processo MLS é um parâmetro-chave no processo de extração pela técnica de MLS, pois dela depende, por exemplo, a concentração de extratante a ser utilizada, que está associada ao pH, temperatura e outras variáveis como já discutido no item anterior. Na definição das concentrações iniciais de ácido láctico adotadas nesta etapa do estudo, foram levadas em consideração a faixa de concentração das possíveis fontes de aproveitamento de ácido láctico. Assim, foram cobertos desde os valores de concentração encontrados no soro de queijo sem tratamento prévio (0,1 %p/v ou 0,01 mol/L) até os valores médios observados nos mostos fermentados para a produção de ácido láctico por bactérias (10% p/v ou 1 mol/L) (Hofvendahl & Hahn-Hagerdal, 2000). O efeito da concentração inicial de ácido láctico na fase externa sobre o processo de extração de ácido láctico por MLS é apresentado nas Figura 21A e Figura 21B.

Através da Figura 21A é possível perceber que houve um apreciável aumento da concentração de ácido na fase externa e interna com o aumento da concentração inicial de ácido láctico na fase externa. A porcentagem de extração apresentou um decréscimo até a concentração inicial de 0,5 mol/L, a partir do qual se estabilizou em torno de 35%. Assim, parece não haver resistência por parte da fase membrana, especialmente do extratante, no transporte de ácido láctico da fase externa para a interna. Porém, como o volume e a concentração

iniciais da solução de reextração (fase interna) foram constantes – 20 mL e 1 mol/L de NaOH – em todas as extrações, o percentual de extração é limitado pela capacidade da fase interna em extrair o ácido láctico da fase membrana (Figura 21B). Mok e Lee (1994), em trabalhos de extração de ácido láctico por MLS, sugerem que a concentração ideal de carbonato deveria ser 1,5 vezes a quantidade necessária para neutralizar todo o ácido láctico presente. Além da limitação da fase interna em extrair o ácido láctico presente na fase membrana, outro fator que pode ter contribuído para a obtenção de baixas percentuais de extração é a ausência de extratante na interface fase externa e a fase membrana capaz de transportar o ácido láctico disponível através da fase membrana.

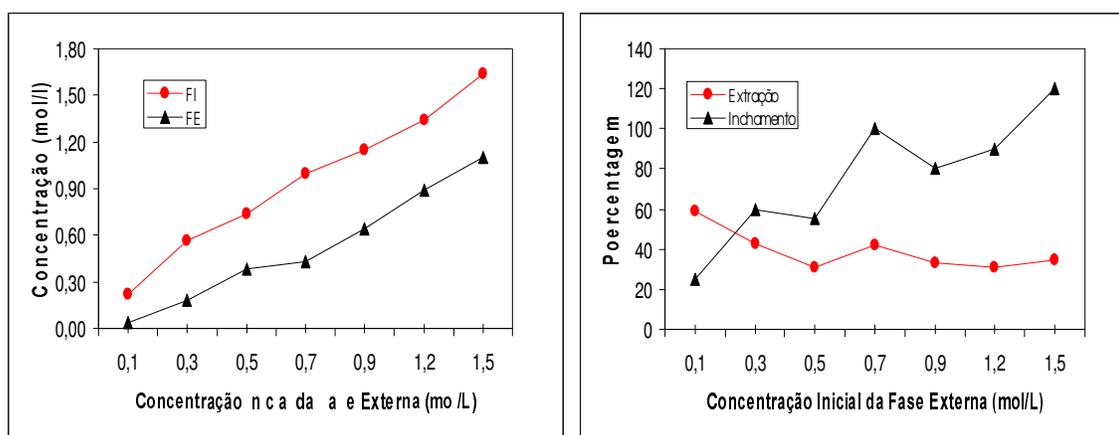


Figura 21: Efeito da concentração inicial de ácido láctico na fase externa no processo de extração. As condições são definidas conforme apresentadas na Tabela 3. A) Concentração do ácido láctico da Fase Externa (FE) e Interna (FI). B) Porcentagem de extração e inchamento da fase interna.

Por outro lado, pode-se observar pela Figura 21B que o percentual do inchamento aumenta com o aumento da concentração inicial de ácido láctico na fase externa. Esse comportamento pode ser compreendido pela diferença de força iônica entre as fases interna e externa. A osmose através de um meio permeável aumenta linearmente com o aumento da força iônica do sistema. Assim, a presença de concentrações mais elevadas de lactato na fase interna, conseguidas em função de concentrações iniciais mais elevadas na fase externa, faz com que a força iônica da fase interna se torne muito maior do que a da fase externa onde existe predominantemente ácido láctico na forma não ionizada. A

mesma observação foi feita por Mok e Lee (1994) em estudos sobre o transporte de água em membranas líquidas para a separação de ácido láctico. Entretanto, em seus trabalhos, os autores fizeram a modificação da concentração da fase interna e mantiveram a concentração de ácido láctico da fase externa constante.

5.3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como o comportamento do sistema de extração apresentou significativas variações com a modificação das variáveis estudadas, a avaliação do comportamento do sistema em gráficos de superfície de resposta se mostrou complexa. Assim, foi feita a utilização de gráficos contendo curvas de níveis para a avaliação do comportamento da concentração de ácido láctico na fase interna utilizando duas variáveis por vez.

A utilização de curvas de níveis, diferentemente das curvas apresentadas no item anterior, permite a avaliação simultânea de duas variáveis controláveis no processo de extração de ácido láctico. Assim, é possível avaliar os efeitos da interação entre duas variáveis sobre uma determinada variável-resposta.

Através das Figuras 22, 23 e 24, construídas com os dados obtidos no presente trabalho e apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14 do Anexo B, é possível observar que, para as faixas de valores utilizadas neste trabalho, a condição de operação que proporcionou melhores resultados de recuperação de ácido láctico por MLS foi:

pH da fase externa = entre 1,5 e 2,0;

concentração de extratante = 10% p/p;

tempo de permeação = 10 minutos.

A variável temperatura de permeação foi definida como sendo 25 °C com o propósito de se obter menores percentuais de inchamento da fase interna durante o processo de extração. Este de temperatura foi adotado em função dos estudos realizados nos experimentos fatoriais (item 5.1) e do comportamento do

sistema de extração (item 5.2). Nestes estudos, foi verificado que a temperaturas mais elevadas o inchamento da fase interna é muito mais significativo. Além disso, a condução da extração em temperaturas mais próxima da temperatura ambiente reduz os custos energéticos e de equipamentos envolvidos. Assim, a condição mais adequada para a condução dos ensaios de permeação de ácido láctico é:

temperatura = 25 °C;

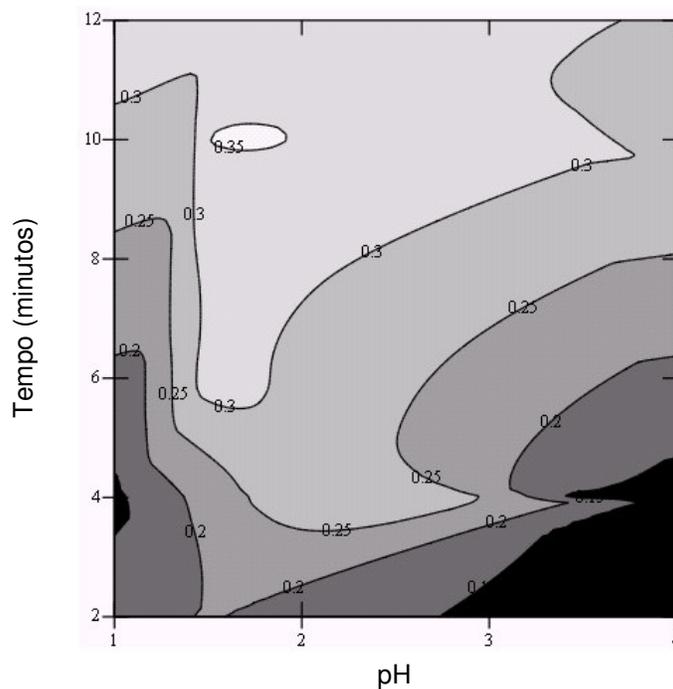


Figura 22: Curva de nível para o estudo da influência do tempo de permeação e pH da fase externa na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna. Temperatura = 25 °C, concentração inicial de ácido láctico na fase externa = 0,1 mol/L e concentração de extratante = 10% p/p.

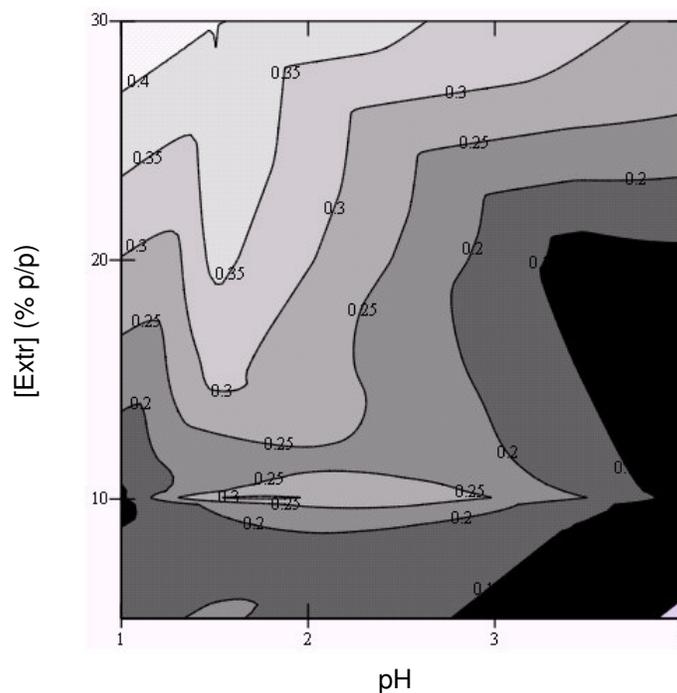


Figura 23: Curva de nível para o estudo da influência da concentração de extratante e pH da fase externa na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna. Temperatura = 25 °C, concentração inicial de ácido láctico na fase externa = 0,1 mol/L e tempo de permeação = 4 minutos.

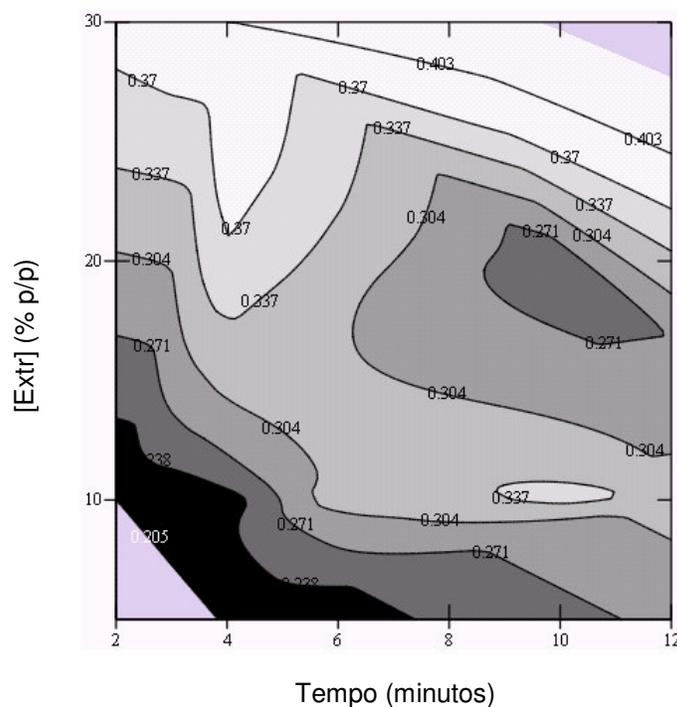


Figura 24: Curva de nível para o estudo da influência da concentração de extratante e tempo de permeação na concentração de ácido láctico (mol/L) na fase interna. Temperatura = 25 °C, Concentração inicial de ácido láctico na fase externa = 0,1 mol/L e pH da fase externa = 1,5.

Os processos de extração por membranas líquidas surfatantes (MLS) possuem grande potencial de aplicação na recuperação de ácido láctico a partir de soro “in natura” e de mostos fermentados. No presente trabalho, em soluções aquosas com concentração inicial de 0,1 mol/L de ácido láctico – valor aproximado da concentração de ácido láctico presente no permeado de soro para a separação de proteínas por ultrafiltração – foram conseguidos percentuais de recuperação de ácido superiores a 80 % em massa. Em extrações conduzidas em um único estágio, esses percentuais deram origem a soluções de ácido láctico com concentração de 0,4 mol/L em meio aquoso contendo Na_2CO_3 . Assim, as soluções enriquecidas obtidas possuem menos contaminantes que as soluções de alimentação utilizadas na prática.

Para a produção de ácido láctico puro a partir das soluções enriquecidas, podem ser usadas as técnicas de nanofiltração ou eletrodialise, que proporcionam boas separações de ácido láctico em meios previamente purificados.

Caso não seja feita a separação prévia das proteínas, a redução da DBO conseguida pelo aproveitamento do soro fermentado para a produção de ácido láctico poderá ser de 70%. Assim, um efluente de laticínio que contenha soro de queijo com uma DBO total de 60000 mg/L de O_2 , poderia ter sua carga orgânica reduzida para 18000 mg/L de O_2 . Esta substancial redução da carga orgânica, além de produzir ácido láctico, um bem de elevado valor agregado, torna o potencial poluidor dos efluentes menor e de mais fácil degradação pelos sistemas convencionais de tratamento de efluentes.

6 - CONCLUSÃO

A partir das informações obtidas nos experimentos fatoriais realizados para determinar a condição de operação que leve a maiores concentrações de ácido láctico na fase interna (solução de extração), foi percebido que a variável mais influente era o pH da fase externa. Também foi considerado significativo o efeito conjunto das variáveis concentração de extratante na fase membrana, pH e temperatura de permeação. Esta última constatação mostra que a definição da melhor condição de operação deve ser feita levando em consideração a modificação simultânea dessas três variáveis, que pode ser realizado através de experimentos fatoriais. Nas condições utilizadas nos experimentos, fatoriais a variável tempo de permeação se mostrou pouco significativa. Entretanto, a variável tempo de permeação se mostrou muito influente no comportamento do sistema de extração na avaliação individual conduzida durante os trabalhos de construção e avaliação das curvas de comportamento.

Os resultados obtidos através do o experimento fatorial conduzido para o estudo do inchamento da fase interna apontaram como variáveis mais influentes a temperatura de permeação e o pH da fase externa. Também foram considerados significativos os efeitos das interações entre essas variáveis e a temperatura e tempo de permeação.

Para a determinação da condição de operação do processo de extração de ácido láctico, foi necessário levar em consideração tanto a necessidade de elevadas concentrações de ácido láctico na fase interna como reduzidos valores de inchamento da mesma fase. A melhor condição de operação se situou em uma condição intermediária entre a melhor condição de extração de ácido láctico e a melhor condição para o inchamento da fase interna observadas nos experimentos fatoriais, conforme apresentado no item 5.1.3 (página 68).

Os ensaios realizados no ponto central, além de mostrarem uma considerável não-linearidade (efeito de curvatura) nos experimentos fatoriais, forneceram

respostas mais satisfatórias do que as obtidas nos pontos fatoriais, sobretudo quando se leva em consideração tanto a extração de ácido láctico como o inchamento da fase interna. A condição utilizada nos ensaios realizados no ponto central foi concentração de extratante 15 % p/p, pH da fase externa 2,5, temperatura de permeação 40 °C e tempo de permeação 7 minutos. As respostas médias do sistemas de extração de ácido láctico pela técnica de MLS obtidas nos quatro ensaios realizados ponto central foram:

Concentração de lactato na fase interna após a permeação: 0,438 mol/L;

Inchamento da fase interna: 21,5% v/v;

Percentual de extração de ácido láctico da fase externa: 77% mol/mol;

Concentração de sódio na fase externa: 34,5 mg/L.

A reprodutividade do sistema de extração utilizado, avaliada principalmente através das quatro repetições realizadas no ponto central dos experimentos fatoriais, se mostrou satisfatória com a média da concentração de ácido láctico na fase interna sendo igual a 0,438 mol/L e desvio padrão igual a 0,018 mol/L, dentro do esperado para os erros associados ao método de análise.

O estudo do comportamento do sistema de extração de ácido láctico pela técnica de MLS permitiu avaliar separadamente a influência das variáveis tempo de permeação, pH da fase externa, concentração de extratante e concentração inicial de ácido láctico na fase externa. As variáveis resposta utilizadas nesse estudo foram, principalmente, a concentração de ácido na fase externa e o inchamento desta fase.

Nas condições predefinidas na metodologia, o tempo de permeação que, simultaneamente, melhor atendeu a concentração de ácido láctico e o inchamento da fase interna estava situado em torno de 6 minutos. Os resultados obtidos no estudo do efeito do pH da fase externa mostraram um comportamento parabólico, com pH mais favorável em torno de 2,0 tanto para a concentração de ácido na fase interna como para o inchamento desta fase. O aumento da concentração de extratante na membrana provocou um aumento logarítmico da concentração de ácido láctico na fase interna. Porém, o aumento da concentração

de extratante acarretou também um aumento linear do inchamento da fase interna. A elevação da concentração inicial de ácido láctico na fase externa provocou um aumento da concentração de ácido láctico na fase interna após a permeação. Também houve um aumento pronunciado do inchamento da fase interna com o aumento da concentração inicial de ácido láctico na fase externa.

Na avaliação conjunta dos resultados obtidos no planejamento de experimentos e no estudo do comportamento do sistema de extração foi possível concluir que, dentro das faixas estudadas, a condição de operação que proporciona melhores resultados de recuperação de ácido láctico por MLS é:

- pH da fase externa = entre 1,5 e 2,0;
- concentração de extratante = 10% p/p;
- temperatura = 25 °C;
- tempo de permeação = 10 minutos.

Maiores estudos devem ser realizados para a aplicação industrial da técnica de MLS na separação de ácido láctico. Mesmo que os processos envolvidos na extração por MLS possam ser feitos em equipamentos já utilizados em outras indústrias – como tanques agitados, separadores e centrífugas – mais informações sobre a cinética e os mecanismos do processo são necessárias para o dimensionamento e operação desses equipamentos. Além disso, maior conhecimento sobre a estabilidade da emulsão e o transporte de água através da membrana são vitais para o estabelecimento da técnica de extração por MLS como uma alternativa viável industrialmente.

7 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Algumas pesquisas que podem ser sugeridas como forma de continuação dos estudos apresentados estão relacionadas à avaliação de variáveis não estudadas nesta parte do trabalho. Entre as variáveis não consideradas, e que parecem merecer maiores considerações, estão a velocidade de agitação durante a permeação, o tipo e a concentração de surfatante, o tipo de diluente empregado e as proporções entre as fases externa, membrana e interna. Além dessas variáveis, merecem destaque o tipo e a concentração do agente de reextração e do surfatante, que, de acordo com a revisão bibliográfica feita, são parâmetros fundamentais no fenômeno de osmose e estabilidade da emulsão. Todos esses estudos poderiam ter como base a metodologia sugerida com o objetivo de se determinar a melhor condição de operação do processo de extração de ácido láctico por MLS.

Outros fatores que são de interesse para o desenvolvimento da técnica de extração por MLS são a reutilização da fase membrana no processo de extração e o efeito de extrações do ácido láctico da solução de alimentação (fase externa) em mais de um estágio ou etapa.

Para a descrição física do fenômeno de extração, seria útil a avaliação do tamanho dos glóbulos para a determinação das áreas de troca e dos fatores ligados a estabilidade da emulsão. Outra variável importante para a descrição do processo de extração é a força iônica, que exerce uma influência importante na transferência de massa através da membrana.

Como neste trabalho foram utilizadas apenas soluções sintéticas de ácido láctico, seria de grande interesse o estudo do comportamento do sistema de extração por MLS em amostras de soro e de mostos fermentados para a produção de ácido láctico. Seria também de grande interesse a avaliação mais profunda das respostas do sistema de extração por MLS integrado com sistemas de fermentação de soro para a produção de ácido láctico.

Entretanto, antes de testar em soro ou mostos de fermentação as melhores condições de operação determinadas com soluções sintéticas de ácido láctico, poderão ser realizados testes de seletividade da extração do ácido láctico em soluções sintéticas que contenham lactose e cloretos. Os valores de concentração estudados poderão ser aqueles em que essas espécies usualmente se encontram no soro de queijo fresco e nos mostos de fermentação que utilizam soro como substrato.

Um estudo conjunto entre fermentação e extração de ácido láctico é de grande utilidade na geração de informações sobre a seletividade do processo de recuperação por MLS. Com esse estudo, também seria possível a definição das melhores condições do ponto de vista econômico, para a operação de um processo integrado de produção e extração de ácido láctico.

8 - REFERÊNCIAS

- Anônimo. Synthesis process brightens lactic acid picture. **Chem. Eng.** n. 71(2), p. 82-84, 1964.
- Barker, S. B.; Summerson, W. H. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. **J. Biol. Chem.** v. 138, p. 535-554, 1941.
- Boey, S. C.; Garcia del Cierro, M. C.; Pyle, D. L. Extraction of citric acid by liquid membrane extraction. **Chem. Eng. Res. Des.** v. 65, p. 218-223, 1987.
- Braile, P. M. R.; Cavalcanti, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 1979. p.139-154.
- Chaudhuri, J. B., Pyle, D. L. Emulsion liquid membrane extraction of organic acids-I. A theoretical model for lactic acid extraction with emulsion swelling. **Chem. Eng. Sci.** n. 47(1), p. 41-48, 1992a.
- Chaudhuri, J. B., Pyle, D. L. Emulsion liquid membrane extraction of organic acids-II. Experimental. **Chem. Eng. Sci.** n. 47(1), p. 49-56, 1992b.
- Cowan, R. M.; Ho, C. S. Separating lactic acid from fermentation media with surfactant membranes. **194th National ACS Meeting in New Orleans, Louisiana**. August 30 - September 4, 1987, p. 1-26.
- Dai, Y.; King, C. J. Selectivity between lactic acid and glucose during recovery of lactic acid with basic extractants and polymeric sorbents. **Ind. Eng. Chem. Res.** n. 35, p. 1215-1224, 1996.
- Danalewich, J. R. et al. Characterization of dairy waste streams, current treatment practices, and potential for biological nutrient removal. **Wat. Res.** n.32(12), p. 3555-3568, 1998.
- Datta, R. et al. Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. **FEMS Microbiology Reviews**. n. 16, p. 221-231, 1995.

- Diagnóstico da indústria de laticínios do estado de Minas Gerais. Projeto leite – sistema agroindustrial do leite, Belo Horizonte: SEBRAE-MG, 1997.
- Draxler, J.; Marr, R. Emulsion liquid membranes – Part 1: phenomenon and industrial application. **Chem. Eng. Process.** n. 20, p. 319-329, 1986.
- Elvers, B.; Hawkins, S.; Schulz, G. (Ed.). **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. 15. ed. Weinheim: VCH, 1990. v. A15, p. 97-105
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (CNPGL). Disponível em: <www.cnpgl.embrapa.br>. Acesso em: 28 dez. 2001.
- Erguder, T. H. et al. Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. **Waste Management**. n. 21, p. 643-650, 2001.
- Hartl, J.; Marr, R. Extraction processes for bioproduct separation. **Separation science and technology**. n. 28(1-3), p. 805-819, 1993
- Hofvendahl, K.; Hahn-Hagerdal, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. **Enzyme and Microbial Technol.-Review**. n. 26, p. 87-107, 2000.
- Honda, H. et al. Effective lactic acid production by two-stage extractive fermentation. **J. Fermentation and Bioengineering**. n. 6, p. 589-593, 1995.
- Hong, S.; Yang, J. Process development of amino acid concentration by a liquid emulsion membrane technique. **J. Membrane Sci.** n. 86, p. 181-192, 1994.
- Ju, L.; Verma, A. Characteristics of lactic acid transport in supported liquid membranes. **Separation Science and Technology**, n. 29(17), p. 2299-2315, 1994.
- Juang, R.; Huang, R.; Wu, R. Separation of citric and lactic acids in aqueous solutions by solvent extraction and liquid membrane processes. **J. Membrane Sci.** n. 136, p. 89-99, 1997.

- Kakoi, T. et al. Separation of cobalt and nickel with phenylphosphonic acid mono-4-tert-octylphenyl ester by liquid surfactant membranes. **Separation science and technology**. n. 30(4), p. 637-657, 1995.
- Kakoi, T. et al. Recovery of phenols using liquid surfactante membranes prepared with newly synthesized surfactants. **Separation Science and Technology**. n. 31(1), p. 107-124, 1996.
- Kirk, R. E.; Othmer, D. F. (Ed.). **Encyclopedia of Chemical Technology**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1981. v. 13, p. 80-90.
- Kirk, R. E.; Othmer, D. F. (Ed.). **Encyclopedia of Chemical Technology**. New York: The Interscience Encyclopedia, 1950. v. 8, p. 167-180.
- Konzen, C. **Estudo da técnica de extração por membrana líquida surfatantes aplicada à separação de ácido cítrico**. Dissertação de Mestrado. 169p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2000.
- Kosikowski, F. V. Whey utilization and whey products. **J. Dairy Sci.** n. 62, p. 1149-1160, 1979.
- Lee, E. G. et al. Lactic acid recovery using two-stage electro dialysis and its modeling. **J. Membrane Sci.** n. 145, p. 53-66, 1998.
- Li, N. N. Separation of hydrocarbons by liquid membrane permeation. **Ind. Chem. Process Des. Deselop.** n. 10(2), p. 215-221, 1971.
- Liew, M. K. H.; Tanaka, S.; Morita, M. Separation and purification of lactic acid: Fundamental studies on the reverse osmosis down-stream process. **Desalination**. n. 101, p. 269-277, 1995.
- Lipinsk, E. S.; Sinclair, R. S. Is a lactic acid a commodity chemical. **Chem. Engineering Progress**. n. 82(8), p. 26-32, 1986.
- Madrid, A.; Cenzano. I.; Vicente, J. M. **Manual de indústrias de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995. p. 147-168.
- Malmary, G. et al. Recovery of aconitic and lactic acids from simulated aqueous effluents of the sugar-cane industry through liquid-liquid extraction. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** n. 75, p. 1169-1173, 2000.

- Marr, R.; Bart, H. J.; Draxler, J. Liquid membrane permeation. **Chem. Eng. Process.** v. 27, p. 59-64, 1990.
- Marr, R.; Kopp, A. Liquid membrane technology: a survey of phenomena, mechanisms and models. **International chemical Engineering.** n. 22(1), p. 45-82, 1982 apud Konzen, C. **Estudo da técnica de extração por membrana líquida surfatantes aplicada à separação de ácido cítrico.** Dissertação de Mestrado. 169p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 2000.
- Marsili, R. T.; Ostapenko, H.; Simmons, R. E.; Green, D. E. High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. **J. of Food Science.** v. 46, p. 52-57, 1981.
- Minas Ambiente/Cetec. **Pesquisa tecnológica para controle ambiental em pequenos e médios laticínios de Minas Gerais: Estado da arte. Vol. 1 – Efluentes Líquidos, resíduos sólidos e emissões atmosféricas,** Belo Horizonte: CETEC, 1998a.
- Minas Ambiente/Cetec. **Pesquisa tecnológica para controle ambiental em pequenos e médios laticínios de Minas Gerais: Estado da arte. Vol. 2 – Processo Industrial,** Belo Horizonte: CETEC, 1998b.
- Miranda, T. L. S. et al. Extração de ácido láctico por membranas líquidas surfatantes. Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, 1997. 79p. (Trabalho realizado na disciplina de Laboratório de Operações e Processos do curso de Engenharia Química da UFMG).
- Mok, Y. S.; Lee, W. K. Water transport in water-in-oil-in-water liquid emulsion membrane system for the separation of lactic acid. **Separation Science and Technology,** n. 29(6), p. 743-764, 1994.
- Morrison, R. T.; Boyd, R. N. **Química Orgânica.** Lisboa: Fund. Calouste Gulbenkian, 1990. p. 152-200.
- Nanoti, A.; Ganguly, S. K.; Rawat, B. S. Removal of phenols from wastewater using membranes in a microporous hollow-fiber-membrane extractor. **Ind. Eng. Chem. Res.** n. 36, p. 4369-4373, 1997.

- Narebska, A; Kurantowicz, M. Separation of fermentation products by membrane techniques II. Conversion of lactate to lactic acid by electrodialysis. **Separation science and technology**. n. 33(7), p. 959-973, 1998.
- New Applications of Membrane Processes. **International dairy federation special issue nº 9201**. Brussels – Bélgica: IDL, 1991.
- Nofal, M. B.; Wilkinson, J. **Impacto setorial da integração no mercosul: a produção e o comércio de produtos lácteos no mercosul**. Buenos Aires: BID – INTAL, 2000. Disponível em: <www.iadb.org/intal/portugues/publicaciones/p-setor_lacteos.pdf>. Acesso em 15 fev. 2002.
- Patnaik, P. R. Liquid emulsion membranes: principles, problems and applications in fermentation process. **Biotechnology Advances**. n. 13(2), p. 175-208, 1995.
- Pereira, A. J. G. **Purificação do ácido láctico através de extração líquido-líquido**. Dissertação de Doutorado. 326p. Departamento de Engenharia de Alimentos da UEC. Campinas. 1991.
- Perry, R. H.; Chilton, C. H. **Manual de engenharia química**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1980.
- Pickering, P. J.; Southern, C. R. Clean up to chirality – liquid membrane as a facilitating technology? **J. Chem. Technol. Biotechnol.** n. 68, p. 417-424, 1997.
- Ponsano, E. G.; Castro-Gómes, R. J. H. Fermentação de soro de queijo por *Kluyveromyces fragilis* como uma alternativa para redução de sua capacidade poluidora. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 15(1), p. 170-173, 1995.
- Presti, S. L.; Moresi, M. Recovery of selected microbial metabolites from model solutions by reverse osmosis. **J. Membrane Sci.** n. 174, p. 243-253, 2000.
- Révillion, J. P.; Brandelli, A.; Ayub, M. A. Z. Produção de extrato de leveduras de uso alimentar a partir do soro de queijo: Abordagem de elementos técnicos e mercadológicos relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 20(2), 2000.

- Rousseau, R. W. **Handbook of separation process technology**. New York: John Wiley & Sons, 1987 p. 840-861.
- Salum, A. **Estudo da permeação de cobalto e da separação cobalto/níquel em meio sulfúrico, com cyanex 272, pela técnica de membranas líquidas surfatantes**. Dissertação de Doutorado. 258p. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 1998.
- San-Martín, M.; Pazos, C.; Coca, J. Liquid-liquid extraction of lactic acid with alamine 336. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** n. 65,p. 281-285, 1996.
- San-Martín, M.; Pazos, C.; Coca, J. Reactive extraction of lactic acid with Alamine 336 in the presence of salts and lactose. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** n. 54,p. 1-6, 1992.
- Schlicher, L.; Cheryan, M. Reverse osmosis of lactic acid fermentation broths. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** n. 49, p. 129-140, 1990.
- Shreve, R. N.; Brink, Jr. J. A. **Indústrias de processos químicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1977. p. 484-485.
- Soltanieh, M.; Sahebdehfar, S. Interaction effects in multicomponent separation by reverse osmosis. **J. Membrane Sci.** n. 183, p. 15-27, 2001.
- Stoica-Guzun, A.; Juncu, G.; Floarea, O. Batch extraction of citric acid liquid surfactant membranes. **Chem. Eng. Technol.** n. 22(1), p. 65-69, 1992.
- Tango, M. S. A.; Ghaly, A. E.; Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch conditions. **Biomass and Bioenergy**. n. 16, p. 61-78, 1999.
- Thien, M. P.; Hatton, T. A. Liquid emulsion membrane an their applications in biochemical processing. **Separation Science and Technology**. v. 23, p. 819-853, 1988a.
- Thien, M. P.; Hatton, T. A.; Wang, D. I. C. Separation and concentration of amino acids using liquid emulsion membranes. **Biotechnol. Bioeng.** v. 32, p. 604-615, 1988b.

- Torquetti, Z. S. C. et al. **Planejamento do sistema de gestão ambiental para um laticínio de pequeno porte**. Belo Horizonte: Escola de Engenharia da UFMG, 1999. 137p. (Trabalho realizado na disciplina de Laboratório de Operações e Processos do curso de Engenharia Química da UFMG).
- Tsai, S. P. et al. Advanced electrodialysis and pervaporation for fermentation-derived organic acids production. **1998 Sixteenth Annual Membrane Technology/Separations Conference, Newton, Massachusetts**. Dezembro 1998, p. 1-26.
- Roy, D. et al. Continuous production of lactic acid from whey permeate by free and calcium alginate entrapped *Lactobacillus helveticus*. **J. Dairy Sci.** v. 70(3), p. 506-513, 1987.
- Yan, J. L.; Pal, R. Osmotic swelling behavior of globules of W/O/W emulsion liquid membranes. **J. Membrane Sci.** n. 190, p. 79-91, 2001.
- Werkema, M. C.; Aguiar, S. **Otimização estatística de processos: como determinar a condição de operação de um processo que leva ao alcance de uma meta de melhoria**. Série Ferramentas da Qualidade, Vol 9. Belo Horizonte: Fundação Christiano Ottoni, Escola de Engenharia da UFMG, 1996. 331p.

ANEXO A - Método de Análise de ácido Lático por Espectrometria

A.1 - Procedimento de Análise

Em um tubo de ensaio de 18mm de diâmetro, adicionar 1mL de amostra contendo de 2 a 10 mg/L de íons lactato (ou 0,02 a 0,1 mmol/L de lactato).

Adicionar ao mesmo tubo 0,05 mL de solução de CuSO_4 a 4% p/v. Adicionar, sob agitação, exatamente 6,0 mL de H_2SO_4 concentrado com a utilização de uma bureta.

Tampar a amostra e coloca-la por 5 minutos em água em ebulição.

Resfriar, com água fria, a amostra preparada até que a mesma atinja a temperatura de 20 a 25 °C.

Após a amostra atingir a temperatura de 20 a 25 °C, adicionar exatamente 0,1 mL de solução de p-hidroxidifenil a 1,5% p/v (preparada em solução de NaOH a 0,5% p/v).

Colocar a amostra em banho-maria de 30 °C por 30 minutos.

Colocar a amostra em água em ebulição por 90 segundos.

Analisar a absorvância da amostra, até 2 horas depois da última etapa do procedimento analítico, em comprimento de onda de 560 nm.

A.2 - Considerações sobre o Método

Para análise das concentrações das amostras é necessária a construção de curva de calibração de absorvância em função da concentração. A curva de calibração é obtida com a determinação, pelo método descrito, de soluções de ácido láctico, ou lactado de lítio, com concentrações conhecidas. Como branco, foi usado H_2SO_4 concentrado. Assim, os padrões usados para determinação das curvas-padrão foram as descritas na Tabela A1.

Neste método analítico, o Cu^{2+} atua como catalisador da reação entre o acetaldeído e o p-hidroxidifenil em meio sulfúrico. O Fe^{+2} também pode ser usado nesta reação. Porém o Fe^{+2} possui efeito adverso na formação da coloração da solução, que interfere na leitura posterior da absorvância.

As concentrações das soluções padrão foram determinadas usando o método titulométrico de ácido-base, usando solução padrão de NaOH 0,05 mol/L e fenolftaleína como indicador.

Tabela 11: Padrões usados na construção da curva de calibração

Padrão	Concentração de ácido láctico (mmol/L)
1	0,000*
2	0,045
3	0,066
4	0,128

* solução de ácido sulfúrico concentrado

ANEXO B – Respostas Obtidas nos Ensaios Realizados

Tabela 12: Resultados dos ensaios realizados para condução do planejamento de experimentos.

Ensaio	Conc. inicial da FI (mol/L)	Fatores Estudados				Variáveis-Respostas	
		[Extr] (%p/p)	Tempo (minutos)	pH	Temperatura (°C)	Inchamento (%v/v)	Conc. final da FI (mol/L)
E01	0.1026	10	10	3.5	25	15	0.3120
E02	0.1026	20	10	3.5	55	25	0.2880
E03	0.1026	20	4	1.5	55	35	0.2980
E04	0.1026	10	4	1.5	25	25	0.2200
E05	0.1026	20	4	3.5	55	20	0.3280
E06	0.1026	20	10	1.5	55	45	0.4580
E07	0.1026	10	4	3.5	25	10	0.1220
E08	0.1026	10	10	1.5	25	10	0.3650
E09	0.1026	15	7	2.5	40	15	0.4267
E10	0.0951	15	7	2.5	40	15	0.4675
E11	0.0951	10	4	3.5	55	15	0.2480
E12	0.0951	15	7	2.5	40	30	0.4210
E13	0.0951	20	10	3.5	25	5	0.1960
E14	0.0951	10	10	1.5	55	45	0.4700
E15	0.0951	20	10	1.5	25	40	0.2460
E16	0.0951	10	4	1.5	55	55	0.4260
E17	0.0951	10	10	3.5	55	45	0.1740
E18	0.0951	20	4	3.5	25	20	0.1220
E19	0.0951	20	4	1.5	25	25	0.3650
E20	0.0951	15	7	2.5	40	25	0.4370

Tabela 13: Resultados de concentração de sódio medida nos ensaios para condução do planejamento de experimentos.

Ensaio*	Concentração de Sódio	
	Fase Interna (g/L)	Fase Externa (mg/L)
E01	41,80	15,20
E02	33,70	A
E03	33,10	14,70
E04	32,35	513,00
E05	34,35	137,50
E06	27,75	24,00
E07	44,75	48,50
E08	34,80	50,20
E09	37,20	34,50
E10	36,25	23,40
E11	34,65	611,00
E12	31,30	144,00
E13	39,25	61,40
E14	27,95	25,50
E15	30,90	30,80
E16	36,10	526,00
E17	23,40	173,00
E18	43,65	61,60
E19	31,45	43,00
E20	34,90	19,70

* os ensaios são os mesmos definidos na Tabela 11.

A – houve erro na análise da concentração de sódio.

Nota: a concentração inicial de Na_2CO_3 na fase interna era de 1 mol/L

B.1 - Resultados Estatísticos dos Experimentos Fatoriais

B.1.1 - Avaliação da Concentração de Ácido Lático na Fase Interna

Resultados gerados pelo software MINITAB® na análise do experimento fatorial para a concentração de ácido lático na fase interna (CONC FI). As variáveis estudadas foram a concentração de extratante na fase membrana ([extr]), tempo de permeação (tempo), pH inicial da fase externa (pH) e temperatura de permeação (temperat).

Fractional Factorial Fit

Estimated Effects and Coefficients for CONC FI

Term	Effect	Coef	StDev	Coef	T	P
Constant		0.32291	0.02906		11.11	0.000
[extr]	-0.01300	-0.00650	0.03249		-0.20	0.851
tempo	0.03325	0.01663	0.03249		0.51	0.636
pH	-0.11800	-0.05900	0.03249		-1.82	0.144
temperat	0.08425	0.04213	0.03249		1.30	0.265
[extr]*tempo	-0.01450	-0.00725	0.03249		-0.22	0.834
[extr]*pH	0.00975	0.00488	0.03249		0.15	0.888
[extr]*temperat	0.02650	0.01325	0.03249		0.41	0.704
tempo*pH	-0.01850	-0.00925	0.03249		-0.28	0.790
tempo*temperat	-0.01075	-0.00538	0.03249		-0.17	0.877
pH*temperat	-0.03550	-0.01775	0.03249		-0.55	0.614
[extr]*tempo*pH	0.01675	0.00837	0.03249		0.26	0.809
[extr]*tempo*temperat	0.05200	0.02600	0.03249		0.80	0.468
[extr]*pH*temperat	0.07375	0.03688	0.03249		1.13	0.320
tempo*pH*temperat	-0.06100	-0.03050	0.03249		-0.94	0.401
[extr]*tempo*pH*temperat	-0.03725	-0.01863	0.03249		-0.57	0.597

Analysis of Variance for CONC FI

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	4	0.089187	0.089187	0.0222966	1.32	0.397
2-Way Interactions	6	0.010903	0.010903	0.0018171	0.11	0.990
3-Way Interactions	4	0.048579	0.048579	0.0121446	0.72	0.622

4-Way Interactions	1	0.005550	0.005550	0.0055503	0.33	0.597
Residual Error	4	0.067574	0.067574	0.0168935		
Curvature	1	0.066286	0.066286	0.0662861	154.40	0.001
Pure Error	3	0.001288	0.001288	0.0004293		
Total	19	0.221792				

Resultados gerados pelo software MINITAB® na análise do experimento fatorial para a concentração de ácido láctico na fase interna (CONC FI). As variáveis estudadas foram a concentração de extratante na fase membrana ([extr]), pH inicial da fase externa (pH) e temperatura de permeação (temperat).

Fractional Factorial Fit

Estimated Effects and Coefficients for CONC FI

Term	Effect	Coef	StDev	Coef	T	P
Constant		0.32291	0.02112		15.29	0.000
[extr]	-0.01300	-0.00650	0.02361		-0.28	0.788
pH	-0.11800	-0.05900	0.02361		-2.50	0.028
temperat	0.08425	0.04213	0.02361		1.78	0.100
[extr]*pH	0.00975	0.00487	0.02361		0.21	0.840
[extr]*temperat	0.02650	0.01325	0.02361		0.56	0.585
pH*temperat	-0.03550	-0.01775	0.02361		-0.75	0.467
[extr]*pH*temperat	0.07375	0.03688	0.02361		1.56	0.144

Analysis of Variance for CONC FI

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	0.084764	0.084764	0.028255	3.17	0.064
2-Way Interactions	3	0.008230	0.008230	0.002743	0.31	0.820
3-Way Interactions	1	0.021756	0.021756	0.021756	2.44	0.144
Residual Error	12	0.107041	0.107041	0.008920		
Curvature	1	0.066286	0.066286	0.066286	17.89	0.001
Pure Error	11	0.040755	0.040755	0.003705		
Total	19	0.221792				

B.1.2 - Avaliação do Inchamento da Fase Interna

Resultados gerados pelo software MINITAB® na análise do experimento fatorial para a porcentagem de inchamento da fase interna (% incham). As variáveis estudadas foram a concentração de extratante na fase membrana ([extr]), tempo de permeação (tempo), pH inicial da fase externa (pH) e temperatura de permeação (temperat).

Fractional Factorial Fit

Estimated Effects and Coefficients for % incham

Term	Effect	Coef	StDev	Coef	T	P
Constant		26.000		1.876	13.86	0.000
[extr]	-0.625	-0.313		2.097	-0.15	0.889
tempo	3.125	1.562		2.097	0.74	0.498
pH	-15.625	-7.813		2.097	-3.72	0.020
temperat	16.875	8.438		2.097	4.02	0.016
[extr]*tempo	0.625	0.312		2.097	0.15	0.889
[extr]*pH	-3.125	-1.562		2.097	-0.74	0.498
[extr]*temperat	-8.125	-4.062		2.097	-1.94	0.125
tempo*pH	3.125	1.562		2.097	0.74	0.498
tempo*temperat	5.625	2.812		2.097	1.34	0.251
pH*temperat	-3.125	-1.563		2.097	-0.74	0.498
[extr]*tempo*pH	-11.875	-5.937		2.097	-2.83	0.047
[extr]*tempo*temperat	-1.875	-0.938		2.097	-0.45	0.678
[extr]*pH*temperat	4.375	2.188		2.097	1.04	0.356
tempo*pH*temperat	5.625	2.812		2.097	1.34	0.251
[extr]*tempo*pH*temperat	0.625	0.313		2.097	0.15	0.889

Analysis of Variance for % incham

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	4	2156.25	2156.25	539.063	7.66	0.037
2-Way Interactions	6	509.37	509.37	84.896	1.21	0.448
3-Way Interactions	4	781.25	781.25	195.312	2.77	0.173
4-Way Interactions	1	1.56	1.56	1.563	0.02	0.889

Residual Error	4	281.56	281.56	70.391		
Curvature	1	112.81	112.81	112.812	2.01	0.252
Pure Error	3	168.75	168.75	56.250		
Total	19	3730.00				

Tabela 14: Resultados dos ensaios para gerar as curvas de comportamento do sistema de extração.

Ensaio	Conc. inicial da FI (mol/L)	[Extr] (%p/p)	Tempo (minutos)	pH	Temperatura (°C)	Inchamento (%v/v)	Conc. Final da FI (mol/L)
C01	0.09327	10	4	1,0	25	35,0	0.1391
C02	0.09327	10	4	1,5	25	25,0	0.2199
C03	0.09327	10	4	2,0	25	30,0	0.2873
C04	0.09327	10	4	2,5	25	25,0	0.2928
C05	0.09327	10	4	3,0	25	40,0	0.2479
C06	0.09327	10	4	3,5	25	10,0	0.2127
C07	0.09327	10	4	4,0	25	15,0	0.1306
C08	0.09327	5	4	1,5	25	25,0	0.2071
C09	0.09327	10	4	1,5	25	25,0	0.2200
C10	0.09327	15	4	1,5	25	30,0	0.3141
C11	0.09327	20	4	1,5	25	25,0	0.3648
C12	0.09327	25	4	1,5	25	35,0	0.3940
C13	0.09327	30	4	1,5	25	40,0	0.4028
C14	0.09327	10	2	1,5	25	20,0	0.2048
C15	0.09327	10	4	1,5	25	25,0	0.2200
C16	0.09327	10	6	1,5	25	40,0	0.3245
C17	0.09327	10	8	1,5	25	50,0	0.3145
C18	0.09327	10	10	1,5	25	40,0	0.3401
C19	0.09327	10	12	1,5	25	65,0	0.3165
C20	0,0930	10	4	1,5	25	25,0	0,220
C21	0,2900	10	4	1,5	25	60,0	0,561
C22	0,5100	10	4	1,5	25	55,0	0,733
C23	0,6500	10	4	1,5	25	100,0	0,995
C24	0,8600	10	4	1,5	25	80,0	1,147
C25	1,1400	10	4	1,5	25	90,0	1,340
C26	1,4300	10	4	1,5	25	120,0	1,636