



Engenharia de Alimentos

CONCENTRAÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE FRANGO

Alessandro Lima Sbeghen*, Juliana Steffens, Jamile Zeni, Vandr  Barbosa Brião, Ilizandra Aparecida Fernandes, Natália Torres Ribeiro, Ana Luiza Lira

*Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos,
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e Missões, Erechim, RS*

**E-mail: asbeghen@hotmail.com*

RESUMO – A carne mecanicamente separada (CMS) de frango   um coproduto da indústria c rnea com alto teor proteico que vem sendo estudado na geração de hidrolisados proteicos. Estes hidrolisados proteicos são ricos em peptídeos de diferentes massas moleculares. Como a massa molecular dos peptídeos exercem influência sobre suas propriedades bioativas, os métodos de separação e concentração destes peptídeos se tornam interessantes e necessários às vistas de seu potencial de uso. O objetivo do presente estudo é avaliar os fluxos de permeado e validar modelo matemático proposto por Ho e Zydney aos dados experimentais, utilizando membrana de ultrafiltração com massa molar de corte de 4 kDa em 1,5 e 2,5 bar, bem como verificar as resistências da membrana de hidrolisado de CMS de frango. As duas pressões utilizadas (1,5 e 2,5 bar) apresentaram comportamentos de fluxo de permeado e incrustação diferentes, porém bem ajustadas ao modelo proposto, com $R^2 = 0,9876$ e $R^2 = 0,9208$, respectivamente.

Palavras-chave: membranas, fluxos, modelagem, colmatação

1 INTRODUÇÃO

A carne mecanicamente separada (CMS), proveniente da carcaça do frango,   um dos coprodutos gerados na industrialização de aves em cortes, como no preparo de filés de peito e coxa, partes como dorso, pescoço, asas e demais partes ósseas provenientes do processamento, são comumente destinados a separação mecânica. Nesta separação mecânica, a carne sofre um processo de moagem, separando o resíduo ósseo da CMS. Esta então   acondicionada em embalagens plásticas e congeladas em blocos para uso posterior. Dentre os usos do CMS, está a utilização na produção de embutidos cozidos como salsichas e mortadelas. A CMS possui em sua composição um mínimo de 12% de proteínas, máximo de 30% de l p dios e 1,5% de cálcio (BRASIL, 2000).

Além da aplicação da CMS em embutidos existe a possibilidade de uso na produção de hidrolisados proteicos a fim de obter peptídeos bioativos, os quais podem ser aplicados para o enriquecimento nutricional de alimentos. Esses peptídeos apresentam propriedades funcionais como prevenção da hipertensão, imunomoduladores, antitrombóticos, antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas e capacidade emulsificante (MORA; REIG; TOLDRA, 2014).

Na hidrólise da CMS são obtidos peptídeos de massas moleculares diferentes, os quais possuem propriedades tecnológicas distintas. Neste sentido, o uso do processo de separação por membranas é uma alternativa viável para separação destas frações, pois é uma técnica eficiente na preservação de suas propriedades. Esta separação ocorre basicamente devido a massa molecular dos compostos a serem retidos ou permeados (TORRES, 2005). Entretanto, um dos principais desafios e limitação no uso das membranas é a incrustação. Este fen meno tem como principais mecanismos o bloqueio ou constrição dos poros e a formação de torta sobre a membrana. Enquanto a formação da torta produz uma redução gradual e lenta de fluxo, os outros casos ocorrem no início do processo diminuindo drasticamente o fluxo de filtração. As proteínas tendem a ocasionar graves incrustações, sendo que as propriedades das proteínas são influenciadas pelas condições do fluido (pH, temperatura e força i nica) (DING et al, 2018). Uma das maneiras de entendimento dos mecanismos deste fen meno   uso da modelagem matemática a qual pode propiciar ações para redução da incrustação e previsão do fluxo de permeado durante o processo.

O uso da CMS para obtenção de hidrolisados proteicos já vem sendo estudado há alguns anos, contudo, ainda não existem resultados que estimulem sua aplicação em uma escala industrial. Um processo de hidrólise com altos valores de recuperação e um processo de *downstream* viável auxiliaria a resolver o impacto econ mico causado pelos coprodutos na indústria da carne através de seu potencial para transformações tecnológicas, pois, estima-se que o volume de subprodutos gerados pelas indústrias de processamento de carnes, onde inclui-se a de frango, atinja cerca de 24 milhões de toneladas anuais (MARTÍNEZ-ALVAREZ; CHAMORRO; BRENES, 2015). Assim o objetivo do presente estudo é avaliar os fluxos de permeado e validar modelo matemático de Ho e Zydney (2000) aos dados experimentais, utilizando membrana de ultrafiltração com massa molar de corte de 4 kDa em 1,5 e 2,5 bar, bem como verificar as resistências da membrana de hidrolisado de CMS de frango.



2 MATERIAL E MÉTODOS

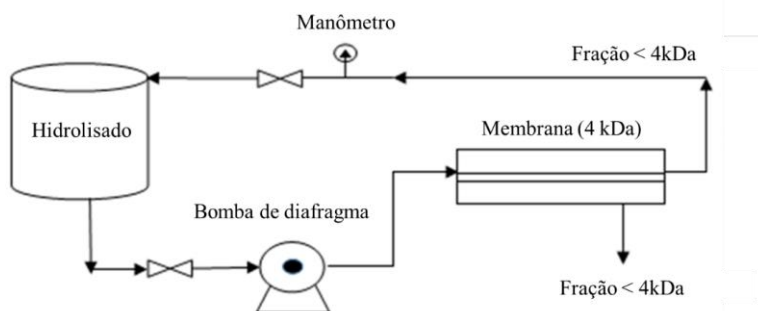
2.1 Preparo do Hidrolisado proteico

A CMS de frango foi caracterizada segundo a AOAC (1997 e 2005) em relação a proteína, lipídios, resíduo mineral e umidade. Após a caracterização, o processo de hidrólise da CMS com alcalase 2.4L conforme Sbeghen et al. (2020), utilizando pH de 8,8, temperatura de 58 °C, relação enzima:substrato de 4,62% e tempo de 3h. Decorrido o tempo, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm e o sobrenadante contendo as proteínas solúveis foi denominado hidrolisado proteico. O grau de hidrólise e o conteúdo proteico foram avaliados conforme Sbeghen et al (2020).

2.2 Concentração do hidrolisado proteico

O hidrolisado proteico foi bombeado com o auxílio de uma bomba de diafragma através de uma membrana plana de PVDF (Osmonics - EUA) com massa molar de corte de 4 kDa e área de filtração de 0,0039 m². Utilizou-se duas pressões (1,5 bar e 2,5 bar) conforme representado na Figura 1. A corrente do rejeito (fração > 4 kDa) foi direcionada ao tanque de alimentação, permitindo assim a concentração e purificação do hidrolisado mediante a exclusão de compostos de maior peso molecular. O processo de separação foi mantido até que o volume inicial fosse reduzido em 50%. As filtrações foram realizadas a 45 ± 2 °C com o auxílio de um banho maria.

Figura 1. Esquema do processo de concentração do hidrolisado utilizando o sistema de membrana de ultrafiltração no modo tangencial.



Os concentrados e permeados obtidos nas pressões de 1,5 e 2,5 bar foram analisados quanto a proteína, lipídios, cinzas, umidade, frações proteicas e atividade antioxidante.

Os fluxos de permeado (J) foram determinados por meio da massa de líquido permeado pela membrana em diferentes pressões. O fluxo com água (J_w), foi calculado conforme a Eq. 1.

$$J_w = \frac{\text{Permeado}(g)}{(\rho_w \times A_m \times t)} \quad (1)$$

Onde: ρ_w = densidade da água; A_m = área da membrana (m); t = intervalo de tempo

A recuperação de fluxo (RF) e perda de fluxo (PF) foram determinadas segundo as Eqs 2 e 3, respectivamente.

$$RF = \frac{J_f}{J_o} \quad PF = \frac{(J_o - J_f)}{J_o} \quad (2) \text{ e } (3)$$

2.3 Cálculo das Resistências da Membrana

As resistências oferecidas ao fluxo de permeado foram calculadas segundo a Lei de Darcy, conforme Brião e Tavares (2012) e apresentado na Eq. 4.

$$J = \frac{TMP}{\mu(R_m + R_r + R_{ir})} \quad (4)$$

Onde: J = fluxo de permeado; R_m = Resistência da membrana; R_r = Resistência reversível; R_{ir} = Resistência irreversível; μ = viscosidade do permeado

2.4 Modelagem do Fluxo de Permeado

O modelo de Ho e Zydney (2000) foi escolhido para modelar o fluxo de permeado através das membranas de



ultrafiltração. Fisicamente a suposição é simples, uma vez que o entupimento começa com o bloqueio dos poros reduzindo a área permeável e prossegue com a formação da torta. Isto ocorre em uma ampla diversidade de soluções durante processos de separação por membranas e pode ser modelado através dos dois parâmetros do modelo para representar a ultrafiltração.

Neste modelo, o fluxo total através das membranas em qualquer tempo da filtração (Q) é dado pela soma dos fluxos através dos poros abertos (apresentando a resistência da membrana R_m) e a partir do bloqueio parcial dos poros pela formação da torta, há um aumento de resistência contra o fluxo (TANIGUCHI et al., 2003). Uma explicação mais detalhada sobre o modelo pode ser encontrada nos estudos de Ho e Zydney (2000), Taniguchi et al. (2003) e Corbatón-Báguena et al. (2013). O modelo segue a fórmula da Eq. 5:

$$J = J_0 \left[\exp \left(\frac{-\alpha \Delta P C_b}{\mu R_m} t \right) + \int_0^t \frac{\alpha \Delta P C_b}{\mu (R_m + R_p)} \exp \left(\frac{-\alpha \Delta P C_b}{\mu R_m} t \right) dt \right] \quad (5)$$

A Eq. 5 considera que a resistência da formação da torta aumenta como uma função do tempo em proporção a taxa de acumulação de massa de soluto na superfície da membrana. Porém, Ho e Zydney (2000) propuseram uma solução simples na qual a deposição de soluto independe do tempo. Podendo então reescrever a Eq. 5 na forma da Eq. 6.

$$J = J_0 \left[\exp \left(\frac{-\alpha \Delta P C_b}{\mu R_m} t \right) + \frac{R_m}{R_m + R_p} \left(1 - \exp \left(\frac{-\alpha \Delta P C_b}{\mu R_m} t \right) \right) \right] \quad (6)$$

Na Eq. 6, J é o fluxo de permeado (m.s^{-1}) a qualquer tempo t (s) e J_0 é o fluxo inicial, ΔP é a pressão transmembrana (Pa), C_b é a concentração em massa de soluto (g.L^{-1}), μ é a viscosidade do permeado (Pa.s), R_m é a resistência da membrana (m^{-1}). O modelo tem dois parâmetros (α e R_p). α representa o parâmetro de bloqueio de poros ($\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$) e R_p (m^{-1}) é a resistência da deposição de soluto na camada de torta. Primeiramente, o declínio do fluxo de permeado é controlado pelo primeiro termo no lado direito e o mecanismo de bloqueio de poros é dominante. Com tempo, o mecanismo de formação da torta torna-se dominante e o segundo termo rege a taxa de filtração.

A modelagem foi desenvolvida usando Microsoft Excel 2010. O suplemento de aplicativo *Solver* foi usada para estimar os parâmetros dos modelos. Para desempenhar a modelagem do fluxo de permeado segundo o modelo de Ho e Zydney (2000) (Eq. 6) foi implementado como uma função definida pelo usuário. Um macro foi gravado para rodar automaticamente o *Solver*. A tarefa do *Solver* é minimizar a soma dos quadrados residuais (RSS) entre as previsões numéricas e os dados experimentais usando um procedimento de otimização de regressão não linear disponível na extensão. O RSS foi minimizado com a variação randômica dos parâmetros α e R_p .

O coeficiente de determinação (R^2) é calculado e utilizado como um indicador de qualidade para o ajuste.

2.5 Análise dos dados

Os resultados foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das diferenças das médias pelo teste de Tukey, com nível de 95% de confiança, utilizando o software Statistica versão 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ultrafiltração

A CMS bruta apresentou um teor de proteínas de $9,09 \pm 0,03 \text{ g.100 g}^{-1}$, lipídios de $23,75 \pm 1,28 \text{ g.100 g}^{-1}$, resíduo mineral fixo de $0,58 \pm 0,12 \text{ g.100 g}^{-1}$ e umidade de $62,28 \pm 0,24 \text{ g.100 g}^{-1}$. O hidrolisado proteico apresentou um teor de proteínas de $23,98 \pm \text{mg.g}^{-1}$ e grau de hidrólise de $85,61 \pm 1,56\%$, o qual foi utilizado no processo de ultrafiltração com membrana de 4 kDa, pressões de 1,5 e 2,5 bar. Os resultados de proteína do hidrolisado bruto, dos retidos e permeados nas diferentes pressões são apresentadas na Tabela 1. Observa-se que o hidrolisado retido apresentou a maior fração de proteínas.

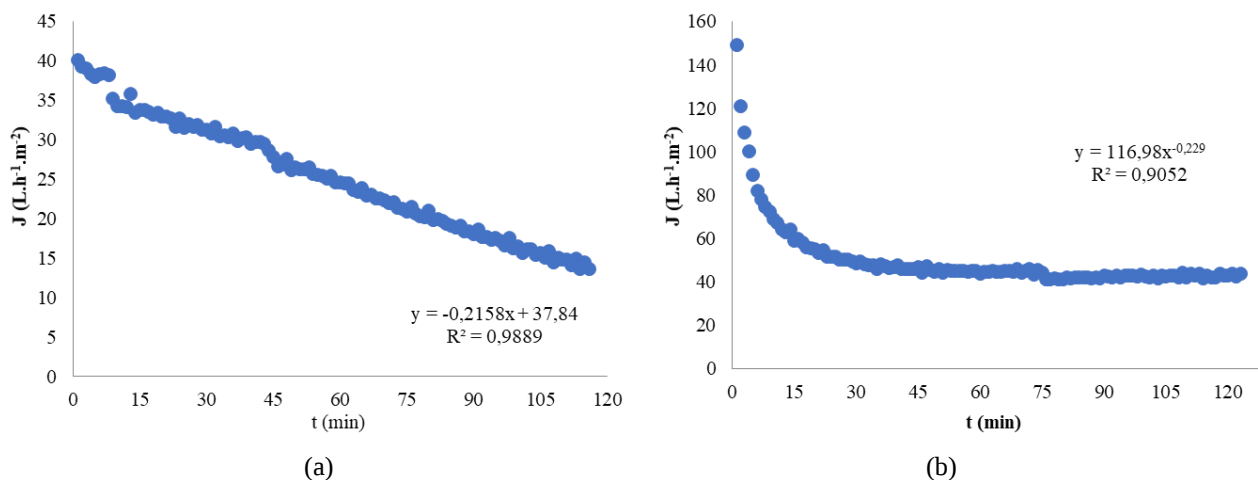
Tabela 1. Teores de proteína do hidrolisado bruto, dos retidos e permeados da membrana de UF, nas pressões 1,5 e 2,5 bar.

Hidrolisado	Proteína (mg.g^{-1})	
	Pressão (1,5 bar)*	Pressão (2,5 bar)*
Bruto	$23,98^{bA} \pm 0,90$	$23,98^{bA} \pm 0,90$
Retido	$25,40^{aB} \pm 0,28$	$28,46^{aA} \pm 0,15$
Permeado	$19,32^{cA} \pm 1,50$	$19,98^{cA} \pm 0,05$

*Média $\pm$ desvio padrão seguidas de letras minúsculas/maiúsculas diferentes na mesma coluna/linha a nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.



Figura 2. Fluxos de permeado (J) em relação ao tempo (t) ultrafiltração para o hidrolisado submetido a 1,5 bar (a) e 2,5 bar (b).



Observa-se que o fluxo inicial é reduzido em 50% durante os primeiros 6 min de ultrafiltração na pressão de 2,5 bar (Figura 2b). Esta queda abrupta no fluxo de permeado é resultado do bloqueio dos poros pelo soluto. Durante a ultrafiltração, tanto a proteína quanto outros compostos presentes no hidrolisado bruto são arrastados pelo líquido para a entrada dos poros, enquanto os compostos com tamanho molecular menor que o tamanho dos poros podem entrar e passar pela camada filtrante da membrana, os demais componentes com tamanhos iguais e superiores ao do poro obstruem completamente as entradas destes (POLYAKOV; ZYDNEY, 2013). Este bloqueio dos poros é caracterizado como a primeira etapa do processo de incrustação das membranas.

Já o fluxo com pressão de 1,5 bar (Figura 2a) foi menor que de 2,5 bar. Segundo De Bruijn, Salazar e Bórquez (2005), por ser uma pressão menor, menos soluto penetra no meio dos poros e o bloqueio padrão ou interno dos poros tem um impacto relativamente menor, podendo ocorrer juntamente com a formação de torta de forma constante em relação ao tempo. Isto pode explicar a ausência da curvatura inicial na pressão de 1,5 bar que ocorreu em 2,5 bar. Vale ressaltar que a queda inicial de fluxo no permeado da ultrafiltração a 1,5 bar pode, também, não ter sido notada devido a pequena área superficial da membrana que resulta em uma baixa vazão de permeado, impedindo assim de que ela se enquadre nos modelos tradicionais de curvas de fluxo (JAMES, JING, CHEN, 2003; BRIAO; TAVARES, 2012; HO; ZYDNEY, 2000).

A Tabela 2 apresenta os valores das resistências apresentadas contra o fluxo de permeado nas pressões de 1,5 e 2,5bar.

Tabela 2. Resistências oferecidas ao fluxo de permeado durante a ultrafiltração.

Pressão (bar)	$R \cdot 10^{-5} \text{ (m}^{-1}\text{)}$	$R_m \cdot 10^{-5} \text{ (m}^{-1}\text{)}$	$R_{ir} \cdot 10^{-10} \text{ (m}^{-1}\text{)}$	$R_r \cdot 10^{-10} \text{ (m}^{-1}\text{)}$
1,5	109,55	51,45	27,80	30,30
2,5	235,51	44,33	37,58	153,60

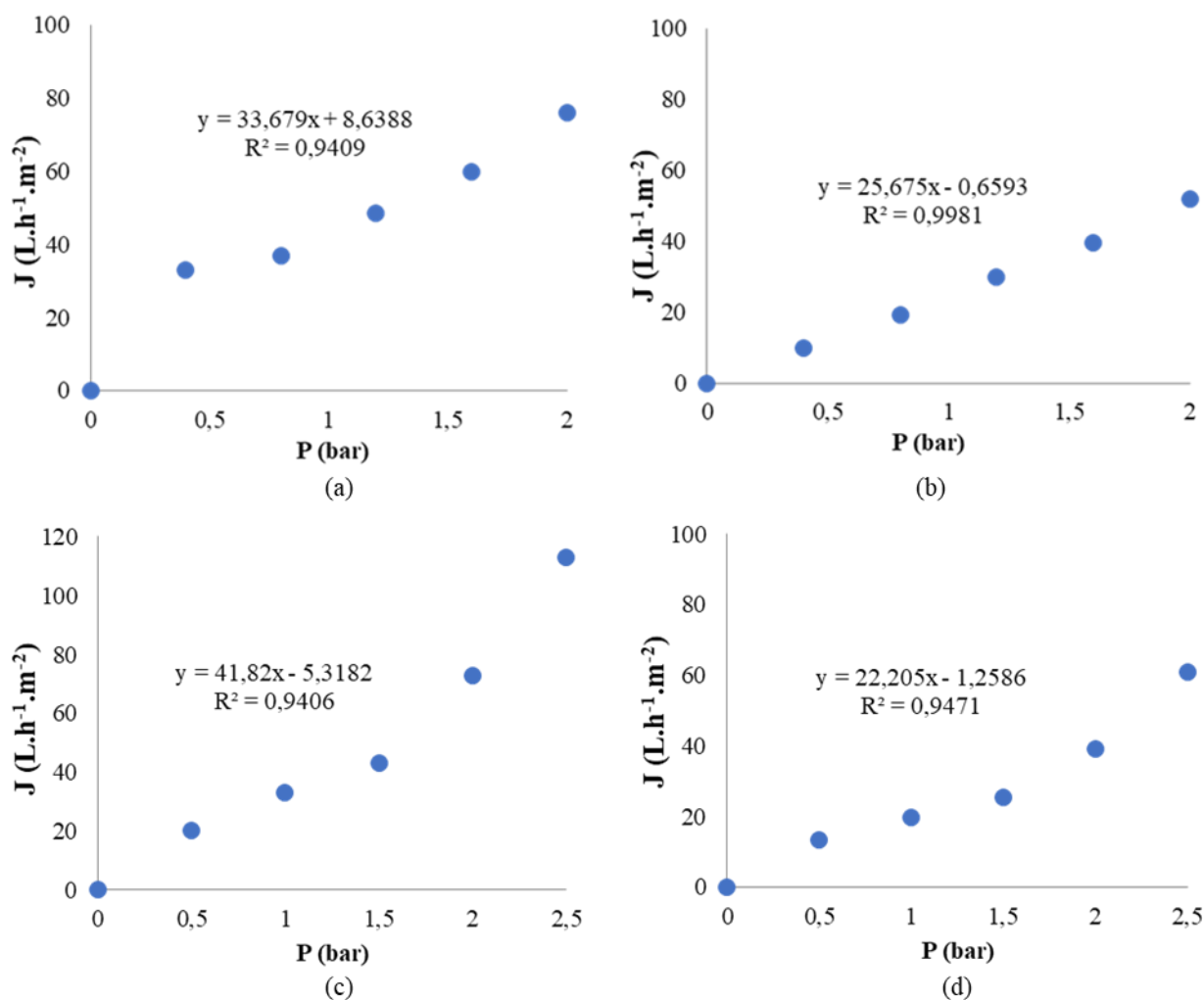
Os valores de resistência irreversível (R_{ir}) corroboram com o fato de que houve um menor bloqueio dos poros da membrana durante a ultrafiltração utilizando pressão de 1,5 bar do que quando utilizado a pressão de 2,5 bar.

A resistência reversível (R_r) se refere majoritariamente a formação de torta sobre a membrana. O aumento da pressão transmembrana aumenta também a taxa de depósito de solutos sobre a membrana e a alta pressão comprime os solutos rejeitados em uma camada mais espessa e densa que aumenta a resistência ao fluxo de permeado pela incrustação. (DE BRUIJN; SALAZAR; BÓRQUEZ, 2005) A resistência da membrana (R_m) obteve uma variação condizente com os parâmetros estudados pois quanto maior a pressão utilizada menor a resistência oferecida pela membrana ao fluxo de permeado.

A Figura 3 apresenta a permeabilidade da membrana sob diferentes pressões antes e após as ultrafiltrações de 1,5 bar e 2,5 bar, respectivamente. A membrana submetida a ultrafiltração de 1,5 bar apresentou redução de fluxo (RF) de 0,65 e perda de fluxo (PF) de 0,35 enquanto a membrana de submetida a ultrafiltração a 2,5 bar apresentou RF de 0,54 e PF de 0,46, condizentes com os cálculos das resistências.

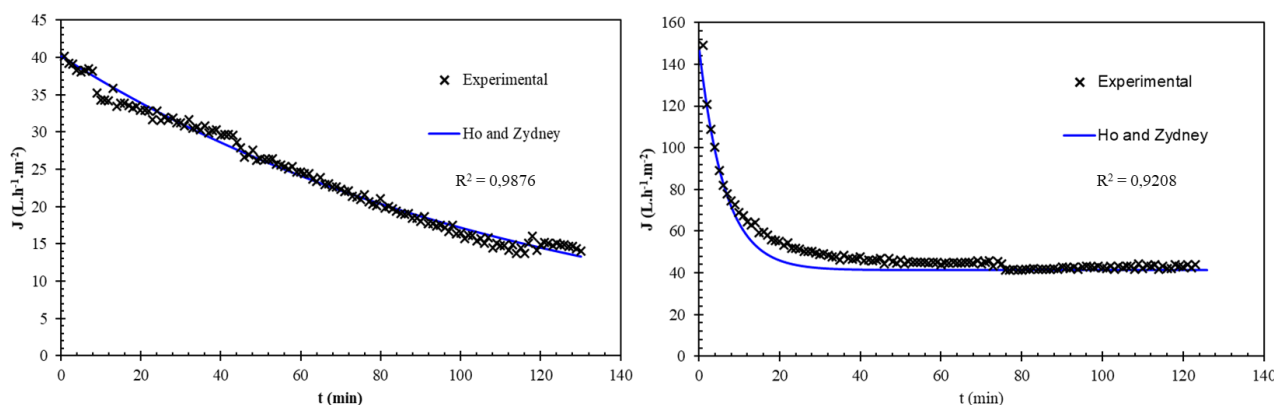


Figura 3. permeabilidade da membrana sob diferentes pressões antes e após as ultrafiltrações de 1,5 bar antes (a) e após a ultrafiltração (b) e 2,5 bar antes (c) e após a ultrafiltração (d).



A modelagem matemática dos dados experimentais da perda de fluxo e formação da incrustação para 1,5 e 2,5 bar utilizando o modelo de Ho e Zydney (2000) é apresentada na Figura 4.

Figura 4. Modelagem matemática dos dados experimentais da perda de fluxo e formação da incrustação para 1,5 bar (a) e 2,5 bar (b).



A modelagem matemática dos dados experimentais da perda de fluxo indica que ambos os processos sofreram diferentes formas de incrustação. Na pressão menor (1,5 bar) o bloqueio dos poros ocorre simultaneamente com a



formação de torta e na maior (2,5 bar), o bloqueio dos poros ocorre no primeiro momento, causando uma redução drástica no fluxo de permeado nos minutos iniciais da ultrafiltração e após isto uma queda lenta pela formação da torta conforme os solutos vão se depositando sobre a membrana. O modelo Ho e Zydney (2000) se ajustou melhor aos dados experimentais de 1,5 bar com R^2 de 0,9876 em comparação com 2,5 bar onde o R^2 foi de 0,9208. O modelo, originalmente proposto para modelar dados experimentais para microfiltração de proteínas, tem ampliado seu espectro de utilização desde sua origem, sendo utilizado com sucesso em diferentes ultrafiltrações de proteínas como hidrolisados lácteos e extratos microalgais (BRIÃO et al., 2017 e BRIÃO et al., 2020).

4 CONCLUSÃO

O modelo aplicado se ajustou ao fluxo de permeado auxiliando e trazendo informações importantes a respeito do desenvolvimento da ultrafiltração onde as pressões utilizadas apresentaram diferentes formas de colmatção. A pressão de 2,5 bar obteve os melhores resultados, mesmo apresentando uma queda acentuada durante o início da ultrafiltração.

O aumento da pressão acarretou o aumento das resistências, sendo majoritariamente influenciada pela resistência reversível, indicando que processos de limpeza poderiam aumentar a vida útil da membrana.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

6 REFERÊNCIAS

- AOAC. Official Methods Of Analysis. **Association of Official Analytical Chemistry**, 16ed, v. 1- 2, USA, 1997.
- AOAC. Official Methods Of Analysis. **Association of Official Analytical Chemistry**, 18ed, v. 1- 2, USA, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Aves, Bovinos e Suínos**. Instrução Normativa nº 4. Brasília, 2000.
- BRIÃO, V. B.; SBEGHEN, A. L.; COLLA, L. M.; CASTOLDI, V.; SEGUENGA, B.; SCHIMIDT, G. O.; COSTA, J. A. V. Is downstream ultrafiltration enough for production of food-grade phycocyanin from *Arthrospira platensis*? **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 1129-1140, 2020.
- BRIÃO, V. B.; SEGUENGA, B.; ZANON, C. D.; MILANI, A. Cake formation and the decreased performance of whey ultrafiltration. **Acta Scientiarum Technology**, v. 39, p. 517-524, 2017.
- BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G. Pore block mechanism for the recovery of milk solids from dairy wastewater by ultrafiltration. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 9, p. 393-407, 2012.
- CÓRBATON-BÁGUENA, M. J.; VELA, M. C. V.; ÁLVAREZ-BLANCO, S.; LORA-GARCÍA, J. Analysis of two ultrafiltration fouling models and estimation of model parameters as a function of operational conditions. **Transport in Porous Media**, v. 99, p. 391-411, 2013.
- DE BRUIJN; J. P. F.; SALAZAR, F. N.; BÓRQUEZ, R. Membrane blocking in ultrafiltration: a new approach to fouling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 83(C3), p. 211-219, 2005.
- DING, Y.; MA, B.; LIU, H.; QU, J. Effects of protein properties on ultrafiltration membrane fouling performance in water treatment. **Journal of Environmental Sciences**, v. 77, p. 273-281, 2018.
- HO, C. C.; ZYDNEY, A. L. A combined pore blocking and cake filtration model for protein fouling during ultrafiltration. **Journal of Colloid and Interface Science**, n. 232, p. 389-399, 2000.
- JAMES, B. J.; JING, Y.; CHEN, X. D. Membrane fouling during filtration of milk-a microstructural study. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 431-437, 2003.
- MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; CHAMORRO, S.; BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, v. 73, p. 201-212, 2015.
- MORA, L.; REIG, M.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides generated from meat industry by-products. **Food Research International**, v. 65, p. 344-349, 2014.
- POLYAKOV, Y. S.; ZYDNEY, A. L. Ultrafiltration membrane performance: Effects of pore blockage/constriction. **Journal of Membrane Science**, v. 434, p. 106-120, 2013.
- SBEGHEN, A. L.; FERNANDES, I. A.; STEFFENS, C.; VALDUGA, E.; BRIÃO, V. B.; ZENI, J.; STEFFENS, J. Optimization of enzymatic hydrolysis of mechanically separated chicken meat. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 67026-67037, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-223>
- TANIGUCHI, M.; KILDUFF, J. E.; BELFORD, G. Modes of natural organic matter fouling during ultrafiltration. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 8, p. 1676-1683, 2003.



TORRES, D. P. M. **Gelificação térmica de hidrolisados enzimáticos de proteínas do soro de leite bovino: comportamento de sistemas aquosos mistos péptidos-polissacarídeos.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/Engenharia de Bioprocessos), Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga, 2005