

ESTUDO DA CINÉTICA DE REMOÇÃO DE RESÍDUOS NA ETAPA DE ENXÁGUE DE SISTEMA DE LIMPEZA CIP

Stephanie P. Tanner¹, B. P. Bicalho¹, Guilherme A. Paula Silva¹, Vinicius P. Barbosa¹, L. R. de Oliveira¹, L. Kunigk², R. Gedraite¹ e U. C. Filho¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química

² Centro Universitário do IMT, Coordenadoria de Pós-graduação

E-mail para contato: barbarapbicalho@gmail.com

RESUMO - A limpeza em linha (processo CIP) é utilizada na produção de alimentos, fermentações e equipamentos de grande porte. Nestes usos a descrição do mecanismo de limpeza é importante na busca da redução do consumo de água e avaliação de novos agentes químicos. Diante deste contexto o presente trabalho descreve uma unidade experimental construída para estudar a limpeza de superfície de aço inox com depósitos protéicos e avalia a cinética de transferência de proteína desta superfície para solução de limpeza. Foram testados modelos cinéticos de dessorção e a associação destes a modelos reacionais que representam a modificação da proteína em fase que antecede a dessorção. Foi constatado que entre os modelos testados o modelo de Weibull foi o que melhor representa o processo haja vista o fato de que a referida película apresenta baixa adesão com um tempo médio de remoção de 50% da população protéica da superfície inox compreendido entre 28s e 98s para vazões de 2,3 a 3,0 L/min. Foram também identificados modelos simplificados para a remoção da solução detergente residual, considerando o emprego de funções de transferência para as vazões de 4,0 e 6,0 L/min.

1. INTRODUÇÃO

A adsorção e dessorção de proteínas em interfaces sólido-líquido é fundamental no estudo de fenômenos variados como biocompatibilidade de materiais, entupimento de biofilmes e membranas, biossensores, separação de proteínas e processos de limpeza. Embora seja fundamental, a literatura ainda carece de explicação satisfatória para o referido fenômeno que envolve adsorção, difusão, mudanças conformacionais, agregação e dessorção (Landgon *et. al.* 2012; Gedraite *et al* 2012).

Na limpeza de superfícies sem o desmonte de equipamentos, o emprego de sistemas CIP (*Clean In Place*), tem uso em tubulações, reatores, placas de trocadores de calor e sistemas de osmose reversa. No caso específico do processamento de alimentos, o

estudo da eliminação de películas incrustantes é fundamental para melhorar a limpeza, evitar a contaminação microbiológica, reduzir o gasto de energia, minimizar o consumo de soluções de limpeza (detergentes, sanitizantes e soluções ácidas e básicas) e reduzir o gasto de água no processo CIP (Tanga *et al* 2010; Tribst *et al* 2009; Parkar *et al* 2004 ; Gedraite *et al* 2012).

Embora o estudo da perda da camada de protéica na limpeza da superfície seja tradicionalmente avaliado em termos cinéticos, tem-se, mais recentemente, a avaliação por intermédio do balanço populacional associado às moléculas, o que possibilita estudar a dinâmica e variações do processo como, por exemplo, a presença de populações distintas de proteína (agregadas e não-agregadas) e a dinâmica de agregação e interação proteína-proteína simultânea ou não ao processo de dessorção entre outros fatores, como cita a literatura (Langdon *et al* 2012; Yeung *et al* 2009).

No estudo populacional a análise de sobrevivência, que considera o intervalo de tempo até a ocorrência de determinado evento, que pode ser raro, adquire grande importância por ser uma metodologia estatística bem fundamentada e utilizada em uma gama variada de estudos como, por exemplo, aqueles desenvolvidos nas áreas de saúde (estudo de patologias), de controle de qualidade (análise de risco e falhas de qualidade em produtos), finanças, sociologia e, também, entre diversas outras áreas que contemplem a ocorrência de eventos moleculares distribuídos ao longo do tempo (Lee *et al* 2003; Xu *et al* 2005; Langdon *et al* 2012).

O presente trabalho tem como foco a avaliação da cinética de remoção de depósito de proteína formado na superfície de aço inox 316 submetido a condições encontradas durante o processo de pasteurização do leite e, também, a cinética da remoção posterior da solução detergente residual.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A superfície de aço inox estudada, contendo proteína adsorvida, foi um tubo de aço inox 316 de dimensões 150 mm de comprimento por 15 mm de diâmetro interno que teve a camada de proteína obtida pela imersão do tubo em leite reconstituído a 90°C por 30 minutos, sendo que em todos ensaios foram utilizados leite em pó reconstituído com concentração de 13% de sólidos (m/v).

Os ensaios de limpeza CIP foram realizados a 25°C com o uso de solução de hidróxido de sódio a 0,5%, nas vazões de 2,3, 2,5 e 3,0 L/min. As vazões foram ajustadas por meio do emprego de rotâmetro e de válvula manual. Para cada vazão foi feita a determinação da concentração protéica na solução na saída do tubo por análise espectrofotométrica de absorvância a 280 nm como cita a literatura (Zaia *et al* 1998) para tempos de até 300 s. Na Figura 1 é apresentada de forma esquemática a bancada de testes utilizada nos experimentos.

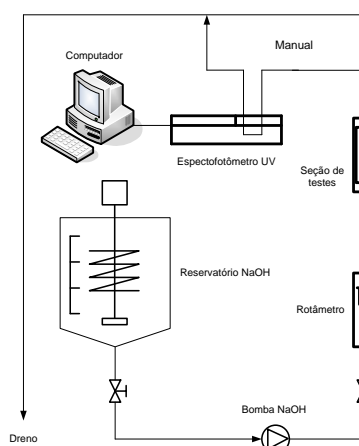


Figura 1: Protótipo de sistema CIP usado

Com os valores de concentração protéica foi feita a avaliação da fração protéica removida $F(t)$ em diferentes tempos de processo, t , empregando a Equação (1) a qual relaciona a concentração de proteína, $C(t)$ presente na solução que deixa o tubo, a vazão de solução de hidróxido 0,5%, $Q(t)$ e a massa inicial total de proteína adsorvida à superfície (m_0)

$$F(t) = \frac{\int_0^t C(t) \cdot Q(t) \cdot dt}{m_0} \quad (1)$$

A massa inicial total de proteína adsorvida, m_0 , foi calculada com base na Equação (2) na qual m_{res} representa a correção pela avaliação final da massa de proteína ainda retida na superfície do tubo ao fim de cada ensaio.

$$m_0 = \int_0^{t=300s} C(t) \cdot Q(t) \cdot dt + m_{res} \quad (2)$$

A fração de proteína removida, $F(t)$, foi ajustada aos modelos estatísticos: exponencial, Weibull, linear-exponencial e log-logístico descritos, respectivamente, pelas Equações (3) a (6) nas quais $S(t)$ representa a sobrevivência, ou seja, a fração da camada ainda não removida, $F(t)$ a fração da camada inicial removida e α e β os parâmetros dos modelos (Lee *et al* 2003), os quais foram calculados por regressão não linear em código fonte implementado em linguagem R que utiliza o método de enxame de partículas com 500 buscas e 50 partículas.

$$F(t) = 1 - S(t) = 1 - \exp(-\alpha \cdot t) \quad (3)$$

$$F(t) = 1 - S(t) = 1 - \exp\left(-\left[\frac{t}{\beta}\right]^\alpha\right) \quad (4)$$

$$F(t) = 1 - S(t) = 1 - \exp\left(-\alpha \cdot t + \frac{1}{2} \cdot \beta \cdot t^2\right) \quad (5)$$

$$F(t) = 1 - S(t) = 1 - \frac{1}{1 + \alpha \cdot t^\beta} \quad (5)$$

Uma vez concluída a etapa de limpeza com a solução detergente, foi avaliado o processo de enxágue da seção de testes, usando a metodologia adotada por Melero Jr. (2011) com água potável para remoção do detergente residual aderido às paredes da mesma. Utilizou-se um medidor de pH de laboratório para acompanhar a cinética do processo de enxágue. Foram empregados valores de vazões de água de enxágue iguais a 4,0 L/min e 6 L/min, pois valores inferiores a estes não promovem a turbulência requerida para a remoção dos resíduos em processos industriais (GORMEZANO, 2007).

3. RESULTADOS OBTIDOS & DISCUSSÃO

Na Figura 2 são apresentados os valores da fração protéica removida da superfície de aço inox para vazões de 2,3, 2,5 e 3,0 L/min, que são as condições operacionais tipicamente usadas nos processos CIP. Pode-se observar que não há uma resistência inicial da camada adsorvida na superfície do aço inox. Caso este comportamento ocorra, o mesmo surge em tempos inferiores a 20 s que representa o menor tempo de amostragem utilizado. A comparação entre a vazão de 2,3 L/min e as demais utilizadas mostra que para esta vazão há uma redução significativa da capacidade de remoção da película, sendo que esta redução tende a ser menor para tempos maiores de processo.

A associação de maior tempo com maior remoção sugere que a investigação da associação da remoção aos regimes cinético/transfêrência de massa e do efeito da concentração de hidróxido utilizado na geração de efluentes, assuntos não abordados neste trabalho – que foca o estudo da remoção em concentrações e condições usuais de processos industriais – merece ser mais bem explorada. Xin *et al* (2002) sugerem que ao menos três estágios na fase de reação podem ser melhor investigados para diferentes vazões e concentrações de hidróxido de sódio, a saber: *a*)- regime cinético no qual a película que reveste a superfície incha; *b*)- estágio de remoção constante e *c*) estágio de decaimento exponencial da espessura de película.

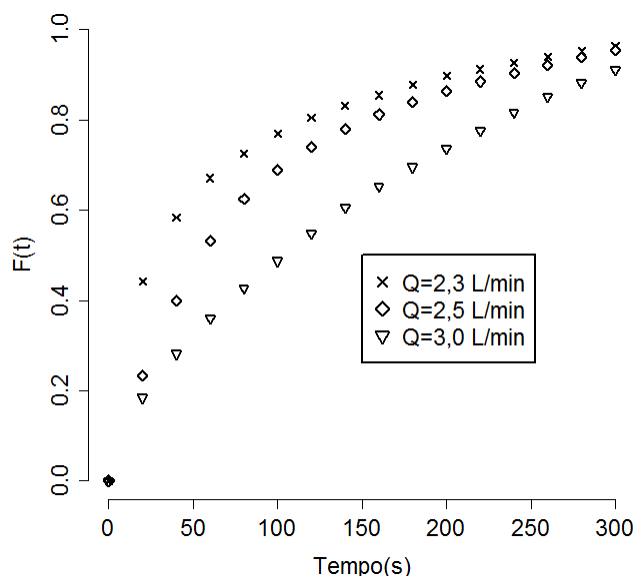


Figura 2: Fração da proteína removida da superfície do aço inox 316

Os parâmetros ajustados para os diferentes modelos populacionais são apresentados na Tabela 1 e a comparação da qualidade do ajuste dos modelos, valores de R^2 e soma dos quadrados dos desvios (SRQ), sugerem que os modelos log-logístico e Weibull são os únicos que representam de forma adequada o evento de perda de adesão da camada protéica da superfície do aço inox, sendo que o modelo de Weibull foi melhor que o log-logístico por apresentar menores erros e maiores coeficientes de correlação.

Tabela 1. Parâmetros dos modelos ajustados

Vazão	α	β	R^2	SQR ^a
Modelo Exponencial				
Q=2,3 L/min	0,00697	-	0,976	0,00882
Q=2,5 L/min	0,0112	-	0,966	0,0106
Q=3,0 L/min	0,0737	-	0,584	0,0738
Modelo de Weibull				
Q=2,3 L/min	0,9614	143,1	0,977	0,008170
Q=2,5 L/min	0,8539	86,01	0,993	0,001203
Q=3,0 L/min	0,6003	50,80	0,999	0,001075
Modelo Linear-Exponencial				
Q=2,3 L/min	$6,971 \cdot 10^{-3}$	$2,7096 \cdot 10^{-152}$	0,976	0,00877
Q=2,5 L/min	$1,303 \cdot 10^{-2}$	$2,6900 \cdot 10^{-5}$	0,993	0,00155
Q=3,0 L/min	$2,065 \cdot 10^{-2}$	$8,166 \cdot 10^{-5}$	0,828	0,0283
Modelo Log-Logístico				
Q=2,3 L/min	0,00182	1,394	0,929	0,0261
Q=2,5 L/min	0,00383	1,397	0,985	0,00492
Q=3,0 L/min	0,0285	1,064	0,954	0,00728

^aSQR-representa a soma dos quadrados dos desvios

A análise da remoção da camada adsorvida pelo processo CIP considerando os parâmetros do melhor modelo que descreve o fenômeno, modelo de Weibull, é

apresentado na Tabela 2. Nesta tabela foi calculado o tempo necessário para remoção da metade do revestimento protéico (resolução da equação $F(t) = 0,5$ utilizando os parâmetros do modelo), pois este representa a descrição equivalente ao tempo de meia-vida do revestimento protéico. Também foi feita a avaliação de significância entre a vazão e os parâmetros fator de forma (α) e fator de escala (β) fornecidos por análise de variância utilizando a Linguagem R.

Os resultados destes cálculos mostram que embora a relação entre a maior vazão e menor seja de apenas 1,3 há um grande efeito desta variável na remoção pois o tempo necessário para redução de 50% da camada protéica é 3,5 vezes maior na menor vazão. Outro resultado observado é a ausência de significância ($p > 0,05$) para relação entre o fator de escala (β) e a vazão, o que mostra que o modelo representa bem os dados, pois segundo literatura o parâmetro de forma é que representa a versatilidade do modelo de Weibull (Gedraite *et al* 2012; Rinne, 2009), sendo que valores deste parâmetros menores que a unidade ($\alpha < 1$) podem ser associados a baixa adesão da camada protéica o que corresponde rápida deterioração desta camada que segundo o modelo a adesão da camada se reduz com o aumento da vazão.

Tabela 2. Análise da remoção pelo modelo de Weibull

Modelo	$F(t)=0,5^a$	$\alpha (F,p)^b$	$\beta (F,p)^b$
Q=2,3 L/min	t= 98 s		
Q=2,5 L/min	t=56 s	(F=5840, p=0,0083)	(F= 6.32 , p=0.241)
Q=3,0 L/min	t=28 s		

^a A resolução da equação $F(t)=0,5$ fornece $t= \beta (\ln(2))^{1/\alpha}$; ^b Anova (p=significância, F=valor F)

Para os estudos da cinética de remoção do detergente residual na etapa de enxágue foram ajustados modelos simplificados, baseados em funções de transferência de 1ª ordem com atraso de transporte para cada curva do comportamento do pH em função da variação de vazão que é a variável de processo mais importante em um sistema de limpeza CIP (MELERO JR., 2011).

A Tabela 3 apresenta os parâmetros obtidos para os modelos que relacionam o comportamento do pH em função da vazão. Os modelos foram ajustados usando como critério o valor integrado – ao longo do tempo – do quadrado do erro relativo entre o valor experimental e o valor obtido por simulação com base nos modelos testados. Os modelos foram validados por comparação com os dados experimentais.

Tabela 3. Parâmetros dos modelos do processo para a vazão

Degrau na vazão	Ganho	Tempo Morto	Constante de tempo
(L.min ⁻¹)	K_p (pH/L.min ⁻¹)	θ_p (s)	τ_p (s)
4,0	-1,083	1109,0	691,5
6,0	-0,722	933,5	551,0

Na Figura 3 são apresentados os perfis de pH obtidos com os modelos identificados para os testes envolvendo as variações nas vazões, em comparação com os dados experimentais empregados para no processo de identificação.

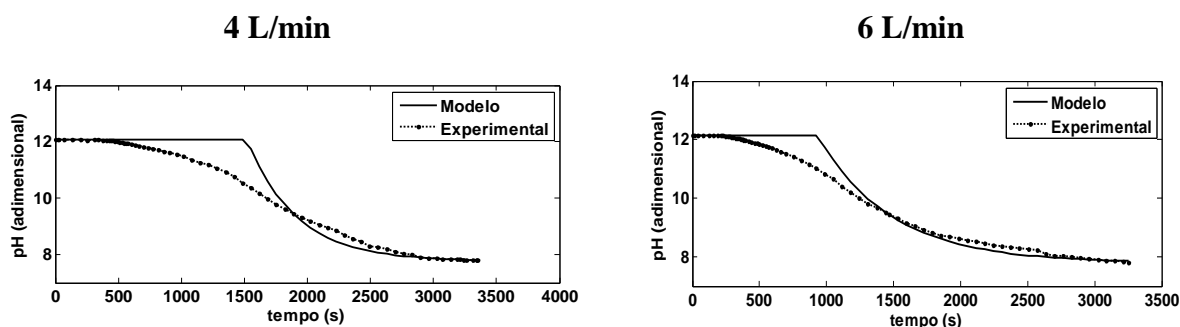


Figura 3 - Perfis de pH obtidos com os modelos identificados para os testes envolvendo as variações nas vazões

4. CONCLUSÕES

A análise populacional com a consideração de uma população homogênea se mostrou uma aproximação adequada para descrever a limpeza de superfície de aço inox com proteína pelo processo CIP, sendo que entre todos modelos testados o modelo de Weibull foi o que forneceu melhores resultados. Os bons resultados obtidos sugerem que em estudos futuros esta análise seja ampliada com consideração, por exemplo, do balanço populacional de diferentes tipos de proteínas, a exemplo de agregadas e não agregadas, associados a questões como o consumo de água do processo e regimes de transferência de massa e cinético nos diferentes etapas da remoção.

Os modelos matemáticos encontrados para a etapa de enxágüe não seguiram o rigor estatístico adotado para explicar o mecanismo de remoção do resíduo pela solução detergente. Contudo, são simples e adequados para realizar o acompanhamento em tempo real da operação da etapa de enxágüe do processo de limpeza CIP. Eles podem ser empregados para explicar o mecanismo de remoção do resíduo aderido à superfície metálica, desde que seja realizada uma identificação suficientemente rica do comportamento da variável de processo sob observação. No caso da remoção dos resíduos pela solução detergente, seria adequado o emprego da medição da condutividade no lugar da absorbância. Neste caso, os modelos baseados em funções de transferência seriam igualmente aceitáveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UFU, ao IMT e à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) pelos recursos concedidos e apoio em pesquisas nos projetos N° TEC-APQ-02100-12 (Estudo da Otimização de Sistema de Limpeza

CIP) e Projeto de Participação Coletiva em Eventos Técnico-Científicos (PCE-00082-14).

REFERENCIAS

GEDRAITE, R.; SILVA, P. B.; COUTINHO FILHO, U.; KUNIGK, L; NEIRO, S. M. S. Cinética da remoção de película protéica de leite em superfície de aço inox 316 pela ação de solução de hidróxido de sódio, *XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, COBEQ 2012*, Búzios, RJ, 2012.

GORMEZANO, L. *Desenvolvimento e implementação de sistema para avaliar a cinética de remoção de resíduos presentes nos tubos de trocador de calor feixe tubular*. São Caetano do Sul, SP: CEUN-IMT, 2007. Mestrado.

LANGDON, B.B.; KASTANTINE, M.; SCHWARTZ, D. K. Apparent activation energies associated with protein dynamics on hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Biophysical Journal*, 102 (2012), 2625-2633.

LEE, E.T.; WANG, K.W. *Statistical Methods for Survival Data Analysis*. 3rd Ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003.

MELERO JR., V. *Instrumentação e identificação de um processo de sanitização cinética CIP*. São Caetano do Sul, SP: CEUN-IMT, 2011. Mestrado.

PARKAR, S. G.; FLINT, S. H., M.; BROOKS, J. D. Evaluation of the effect of cleaning regimes on biofilms of thermophilic bacilli on stainless steel. *J. of App. Microb.* 96 (2004), 110-116.

TANGA, X.; FLINT, S. H. M.; BENNETT, R. G.; BROOKS, J. D. The efficacy of different cleaners and sanitiser in cleaning biofilms on UF membranes used in the dairy industry, *J. of Membrane Science*, 352 (2010), 71-75.

TRIBIST, A. A. L.; CHRISTIANNINI, M.; MASSAGUER, P. F. Metodologia para limpeza no local em equipamento de alta pressão dinâmica *Braz. J. of Food Tech.*, 16 (2009), 43-52.

XIN, H., CHEN, X. D. AND ÖZKAN, N., , Whey protein-based gel as a model material for studying initial cleaning mechanisms of milk fouling, *Journal of Food Science*, Vol. 67(7), (2002), pp. 2702-2711.

YEUNG, K. M.; LU, Z. J.; CHEUNG, N. H. Adsorption kinetics of bovine serum albumin on fused silica: Elucidation of protein-protein interaction by single-m fluorescence microscopy. *Colloids surface. B. Bio interfaces*, 69 (2009), 246-250.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. *Química Nova*, 21 (1998), 787-793.