

CINÉTICA E MODELAGEM DA EXTRAÇÃO DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) (P(3HB)), PRODUZIDO POR *Cupriavidus necator*, COM CABONATO DE PROPILENO

F. M. MARTINHAGO¹, T. R. GUIMARÃES¹, N. M. SALVADOR¹, M. SCHMIDT¹, L. K. QUINES¹, K. ZANFONATO¹, W. SCHMIDELL¹ e G. M. F. de ARAGÃO¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia química e Engenharia de Alimentos

E-mail para contato: glaucia.aragao@ufsc.br

RESUMO – Poli(3-hidroxibutirato) P(3HB) é um biopolímero biodegradável sintetizado intracelularmente, como reserva de energia, por bactérias. Seu uso comercial é limitado devido às técnicas de produção e extração serem bastante dispendiosas. Modelos matemáticos baseados na cinética de extração do P(3HB) podem auxiliar na definição de condições de processo economicamente viáveis. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo cinético da recuperação de P(3HB) utilizando carbonato de propileno como solvente nas temperaturas de 120, 130 e 150 °C, e propor um modelo matemático capaz de descrever o comportamento cinético da extração em outras temperaturas, dentro do intervalo estudado. Observou-se que com o aumento da temperatura e do tempo de extração obteve-se maior recuperação de P(3HB). A partir dos coeficientes cinéticos, calculados usando os resultados experimentais obtidos, foi possível propor um modelo matemático capaz de prever a cinética de extração em outras temperaturas, dentro do intervalo estudado.

1. INTRODUÇÃO

O P(3HB), material de reserva de carbono e energia acumulado intracelularmente por diversos micro-organismos, é um poliéster biodegradável e biocompatível da família dos Poli-hidroxialcanoatos (PHAs) (Lee, 1996). No entanto, seu uso comercial é limitado devido às técnicas de produção e extração serem bastante dispendiosas (Quines, 2010). Por se tratar de um produto intracelular, o P(3HB) deve ser extraído a partir das células no final da cultura. Esta etapa pode representar até 50% dos custos de produção do polímero (Silva, 2007). De acordo com Chen et al. (2001), é necessário o desenvolvimento de novos processos para extração e síntese deste polímero que possuam um baixo custo e impacto ambiental reduzido, a fim de torná-lo economicamente competitivo e, assim, aumentar a sua aplicabilidade.

Estudos vêm sendo desenvolvidos buscando estratégias mais eficientes para a produção e extração dos PHAs (Khanna e Srivastava, 2005). Dentre os métodos de extração de P(3HB) abordados na literatura, os que fazem uso de solventes são os mais extensivamente utilizados. O carbonato de propileno (CP) é proposto como uma alternativa aos solventes halogenados nos processos de recuperação de P(3HB) (Mcchalicher et al., 2010), o seu elevado ponto de ebulição (240 °C) é uma vantagem, uma vez que, evita a evaporação e permite sua

reutilização, o que pode reduzir seu consumo, e portanto, é considerado economicamente vantajoso. Além disso, o CP é considerado um solvente de baixa toxicidade (Kunasundari e Sudesh, 2011).

Estudar a cinética do processo de extração com CP viabiliza definir as variáveis de processo que conferem as melhores condições de extração do polímero. Kshirsagar et al. (2013) estudaram a cinética de extração de P(3HB), produzido por *Halomonas campisalis*, utilizando clorofórmio como solvente em diferentes temperaturas. A partir deste estudo cinético os autores propuseram um modelo capaz de descrever a cinética de extração, dentro do intervalo de temperatura estudado.

Frente ao exposto, este trabalho teve como objetivo realizar cinéticas de extração de P(3HB), produzido por *Cupriavidus necator*, utilizando CP como solvente nas temperaturas de 120, 130 e 150 °C, e propor um modelo matemático capaz de prever o comportamento cinético da extração em outras temperaturas, dentro do intervalo estudado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Tratamento da Biomassa

Biomassa de *Cupriavidus necator* DSM 545 contendo 66 % de P(3HB), produzido em cultivo com glicose e frutose como fonte de carbono, foi utilizada no presente estudo. Ao término do cultivo, as células foram separadas do meio de cultivo por centrifugação a 2.000 g durante 15 min. O sobrenadante (meio de cultivo isento de biomassa) foi descartado e o precipitado, contendo as células, foi lavado duas vezes com água destilada e submetido à secagem em estufa a 65 °C por 24 h.

2.2. Recuperação de P(3HB)

O solvente utilizado para a extração de P(3HB) foi o CP (Merck). Para a extração do polímero, utilizou-se o método de Quines (2010), com a utilização do dobro do volume de solvente na etapa de extração. O volume de água adicionado na etapa de precipitação do polímero foi aumentado de forma proporcional ao aumento do volume de solvente.

2.3. Cinética e desenvolvimento do modelo para extração de P(3HB)

A cinética de extração de P(3HB) com CP em diferentes temperaturas foi realizada a 120, 130 e 150 °C, em tempos de contato de 5, 10, 20, 30, 45 e 60 min.

Ho et al. (2005) demonstraram que a cinética de extração sólido-líquido se baseia em uma equação de velocidade de segunda ordem representada pela Equação 1. Onde k é a constante de segunda ordem de velocidade de extração ($L\ g^{-1}min^{-1}$), C_s é a capacidade de saturação de extração ($g\ L^{-1}$), e C_t é a concentração de P(3HB) ($g\ L^{-1}$) no CP no tempo t (min).

$$\frac{dC_t}{dt} = k(C_s - C_t)^2 \quad (1)$$

Integrando a Equação (1), e rearranjando os termos, obtém-se a Equação 2.

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{kC_s^2} + \frac{t}{C_s} \quad (2)$$

A velocidade inicial de extração $h = kC_s^2$, a capacidade de saturação de extração C_s , e a constante de velocidade de segunda ordem k , podem ser determinados experimentalmente plotando-se t/C_t versus t . Os coeficientes cinéticos do modelo matemático foram calculados usando os resultados experimentais obtidos. A cinética é dependente da temperatura de acordo com a lei de Arrhenius, representada na Equação 3.

$$\ln k = \ln k_o + (-E_a / R) \frac{1}{T} \quad (3)$$

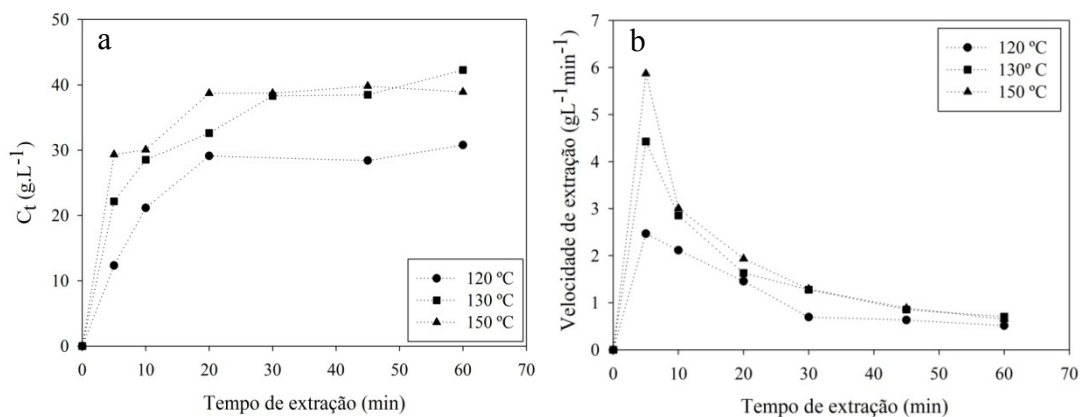
Onde, k é a constante de segunda ordem de velocidade de extração ($L \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$), k_o o termo independente da temperatura ($L \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$), E_a a energia de ativação para a extração ($J \text{ mol}^{-1}$), R a constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e T é a temperatura absoluta (K).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cinética de extração de P(3HB) em diferentes temperaturas

A concentração de P(3HB) extraído em diferentes temperaturas é apresentada na Figura 1 (a). A concentração de P(3HB) no CP inicialmente aumenta rapidamente com o tempo, devido a força motriz do solvente puro, e reduz conforme se aproxima do ponto de saturação. O aumento na temperatura resultou em um aumento da difusão e da solubilidade do P(3HB) extraído. As velocidades máximas de recuperação obtidas foram de 2,47; 4,43 e 5,87 $\text{g.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ para 120, 130 e 150 °C, respectivamente (Figura 1 (b)), em 5 min de extração, e após 45 min estas velocidades caíram para 0,63; 0,85 e 0,88 $\text{g.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Porcentagens de recuperação de 59, 76 e 77% de P(3HB) foram alcançadas com 1 h de extração, para as temperaturas de 120, 130 e 150 °C, respectivamente. Zanfonato et al (2013) reportaram recuperação de 83% de P(3HB), produzido por *C. necator*, no tempo de 45 min de extração.

Figura 1 – Comparação da evolução da extração (a) e da velocidade de extração (b) de P(3HB) produzido por *C. necator*, ao longo do tempo, nas temperaturas de 120, 130 e 150 °C.



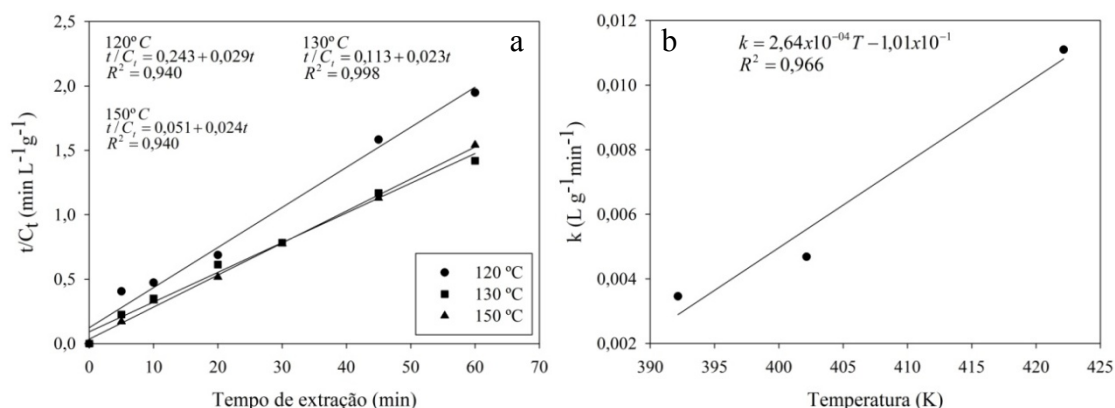
3.2. Determinação de k , C_s e h do modelo preditivo

Os valores de t/C_t versus o tempo de extração, obtidos através das cinéticas de extração, foram ajustados utilizando o modelo de extração de segunda ordem linearizado. Os valores de C_s , k , h e R^2 foram determinados para as temperaturas estudadas com auxílio do *software* Microsoft Office Excel 2007, como mostrado na Figura 2 (a). Como esperado, h , e k aumentam com o aumento da temperatura (Tabela 1). A solubilidade do P(3HB) aumenta com o aumento da temperatura, e assim esperava-se um comportamento de C_s similar ao dos outros parâmetros, porém isto não foi observado. Provavelmente, a solubilidade do P(3HB) em CP não sofra grandes incrementos acima de 130 °C. A relação da constante de velocidade com a temperatura pode ser descrito por uma equação linear (Figura 2 (b)).

Tabela 1 – Valores de C_s , k , h e R^2 , obtidos a partir dos dados cinéticos de extração nas temperaturas de 120, 130 e 150 °C.

Temperatura (°C)	k (L.g ⁻¹ .min ⁻¹)	C_s (g.L ⁻¹)	h (g.L ⁻¹ .min ⁻¹)	R^2
120	0,003	34,4	4,1	0,94
130	0,004	43,5	8,8	0,99
150	0,011	41,7	19,2	0,99

Figura 2 – Cinética de extração de segunda ordem para extração de P(3HB) com CP nas temperaturas de 120 (●), 130 (■) e 150 °C (▲) (a); Relação entre a temperatura e a constante de segunda ordem de extração (b).



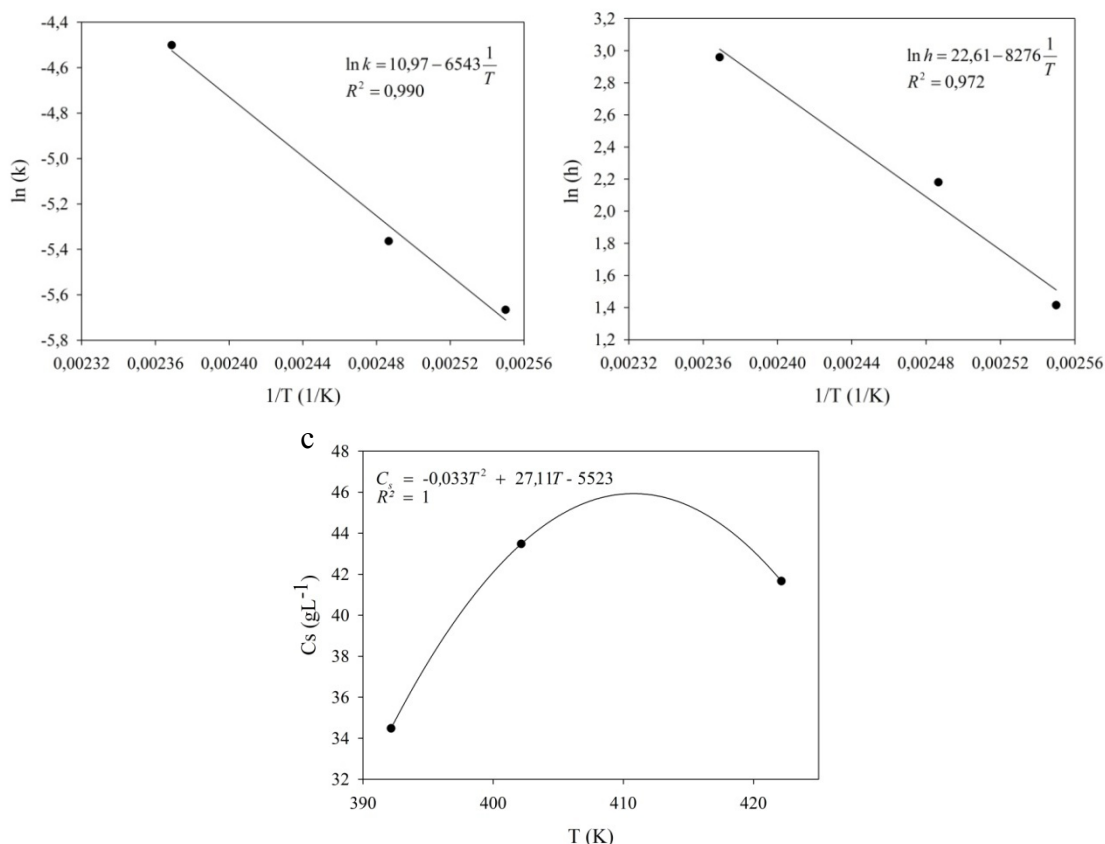
3.3. Construção do modelo

A partir da equação de Arrhenius linearizada (Equação 3) pode-se calcular o fator independente da temperatura. Plotando-se $\ln k$ versus $1/T$ (Figura 3 (a)), obtém-se k_0 igual a 58104 L.g⁻¹.min⁻¹. A velocidade inicial de extração (h) foi obtida pelo ajuste linear de $\ln h$ versus $1/T$ (Figura 3 (b)).

Figura 3 – Relação entre a constante de segunda ordem da extração e o inverso da temperatura (a), relação entre a velocidade inicial de extração e o inverso da temperatura de extração (b) e relação de concentração de saturação e a temperatura de extração de P(3HB), produzido por *C. necator*, nas temperaturas de 120, 130 e 150 °C.

a

b



É possível obter uma relação entre a concentração de saturação e a temperatura de extração (Figura 3 (c)). A equação da curva obtida está representada na Equação 4.

$$C_s = -0,033T^2 + 27,11T - 5523 \quad (4)$$

Combinando as Equações 2, 4 e a equação gerada na Figura 3 (b), a equação que descreve a variação de C_t versus tempo e temperatura de extração utilizando CP como solvente, pode ser representada pela Equação 5. Esta equação pode ser utilizada para prever as cinéticas de extração em outras temperaturas, dentro do limite estudado.

$$C_t = \frac{t}{1,78 \times 10^{-10} e^{\frac{8276}{T}} + \frac{t}{-0,033T^2 + 27,11T - 5523}} \quad (5)$$

4. CONCLUSÃO

A cinética de extração de P(3HB) em diferentes temperaturas utilizando CP revelou que a velocidade de recuperação decai com o tempo. Com o aumento da temperatura (120 para 150 °C) e do tempo de extração (5 para 60 min) obteve-se maior recuperação de P(3HB).

A partir dos coeficientes cinéticos k , h e C_s , calculados usando os resultados experimentais obtidos, foi possível propor um modelo matemático capaz de prever o comportamento cinético da extração em outras temperaturas, dentro do intervalo estudado.

5. REFERÊNCIAS

- HO, Y. S.; H. OUMAROU, H. A.; FAUDUET, H. and PORTE, C. "Kinetics and model building of leaching of water-soluble compounds of *Tilia sapwood*," Separation and Purification Technology, v. 45, p. 169-173, 2005
- KHANNA, S.; SRIVASTA, A. K. Computer simulated fed-batch cultivation for over production of PHB: a comparison of simultaneous and alternate feeding of carbon and nitrogen. Biochem. Eng. J., v. 27, p.197-203, 2005.
- KSHIRSAGAR, P. R.; KULKARNI, S. O.; NILEGAONKAR, S. S.; KANEKAR, P. P. Kinetics and model building for recovery of polyhydroxyalkanoate (PHA) from *Halomonas campisalis*. Separation and Purification Technology, v. 103, p. 151-160, 2013.
- KUNASUNDARI, B.; SUDESH, K. Isolation and recovery of microbial PHAs. Express Polym Lett., v. 5, p. 620-634, 2011.
- LEE, S. Y. Bacterial polyhydroxyalkanoates. Biotechnol. Bioeng.,v. 49, p. 1-14, 1996.
- MCCHALICHER, C. W. J.; SRIENC, F.; ROUSE, D. P. Solubility and degradation of polyhydroxyalkanoate biopolymers in propylene carbonate. AIChE J., v. 56, p. 1616-1625, 2010.
- QUINES, L. K. M. Extração de poli(3-hidroxibutirato) produzido por *Cupriavidus necator* DSM 545 com 1,2-carbonato de propileno. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Orientador: G. M. F. Aragão. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.
- SILVA, L.F.; GOMEZ, J.G.C.; ROCHA, R.C.S.; TACIRO, M.K.; PRADELLA, J.G.C. Produção biotecnológica de poli-hidroxialcanoatos para a geração de polímeros biodegradáveis no Brasil. Quím. Nova., v. 30, n. 7, p. 1732-1743, 2007.Y. Chen, H. Yang, Q. Zhou, J. Chen, G. GU. Process Biochemistry, v. 36, p. 501-506, 2001.
- ZANFONATO, K.; QUINES, L. K.; SCHMIDT, M.; STEFFEN, W. F.; MARTINHAGO, F. M.; SCHMIDELL, W. e ARAGÃO, G. M. F. Comparação da extração de Poli(3-hidroxibutirato) a partir de *Cupriavidus necator* e *Escherichia coli* recombinante. XIX Simpósio nacional de bioprocessos, 2013.