



DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO
PARA BENEFICIAMENTO DA TORTA DE
CASTANHA DO BRASIL (*Bertholletia excelsa*)

Bernardo Dias Ribeiro
Diogo Biagioni
Nairalice Carneiro Reis
Paulo André Nóbrega Marinho

Projeto de Final de Curso

Orientador

Prof. Daniel Weingart Barreto, D. Sc.

Dezembro de 2005

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO PARA
BENEFICIAMENTO DA TORTA DE CASTANHA DO BRASIL**
(Bertholletia excelsa)

Bernardo Dias Ribeiro
Diogo Biagioni
Nairalice Carneiro Reis
Paulo André Nóbrega Marinho

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Aprovado por:

Prof^a Maria Alice Zarur Coelho, D.Sc.

Prof^a Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

Prof. Ricardo de Andrade Medronho, Ph.D.

Orientado por:

Prof. Daniel Weigart Barreto, D. Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Dezembro de 2005

Ribeiro, B.D., Biagioni, D., Reis, N.C., Marinho, P.A.N.
Obtenção de produto protéico a partir de castanha-do-pará
(*Bertholletia excelsa*) através de hidrólise enzimática /
Bernardo Dias Ribeiro, Diogo Biagioni,
Nairalice Carneiro Reis, Paulo André Nóbrega Marinho.
Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2005.
vii, 122 p.; il. (romano: pags. texto inicial; arábico: pags. trabalho)
(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2005.
Orientador: Prof. Daniel Weingart Barreto
1. Castanha-do-pará. 2. Enzimas. 3. Proteases. 4. Monografia.
(Graduação – UFRJ/EQ). 5. Prof. Daniel Weingart Barreto. I. D. Sc.

Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem: Por quê?
Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo: Por que não?
George Bernard Shaw

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração da Prof^a Maria Alice e o Laboratório de Enzimologia (E-113), a Prof^a Magali e o Laboratório de Tecnologia Ambiental (E-115), a Prof^a Leda. Também agradecemos a Aline, namorada do Bernardo, Amigos e Familiares.

Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro Químico.

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO PARA BENEFICIAMENTO DA TORTA DE CASTANHA DO BRASIL (*Bertholletia excelsa*)

Bernardo Dias Ribeiro
Diogo Biagioni
Nairalice Carneiro Reis
Paulo André Nóbrega Marinho
Dezembro, 2005

Orientador: Prof. Daniel Weingart Barreto, D.Sc.

A castanha-do-pará, ou castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) é cultivada em toda a Amazônia e se tornou um dos principais produtos comerciais da Região Norte do Brasil, apresentando uma amêndoa de alto valor energético, com cerca de 60 a 70% de óleo, 15 a 20% de proteínas, sendo estas, uma das mais ricas fontes de aminoácidos sulfurados (8% cisteína e 18% metionina) e selênio, que tem função antioxidante, aumentando assim o interesse do mercado consumidor e de pesquisadores.

As amêndoas quebradas ou com algum defeito, geralmente 10% do total, têm seu valor comercial reduzido em 60%, e são utilizadas principalmente por pequenas indústrias para extração do óleo, gerando como subproduto uma torta, rica em proteínas, que geralmente era utilizada como ração animal. Atualmente a torta de castanha-do-pará tem tido aplicação no enriquecimento e preparo de alimentos, como biscoitos, doces, farinhas, pães e outros.

Para valorização deste subproduto há alguns estudos que propõem o isolamento, modificação (acetilação) ou concentração da globulina, ou excelsina, uma das principais proteínas da castanha-do-pará, incorporando aos alimentos melhores características funcionais, como emulsificação, viscosidade e solubilidade.

O objetivo deste trabalho é promover uma valorização da torta da castanha-do-pará através de um processo enzimático envolvendo enzimas celulolíticas, amilolíticas e proteolíticas, obtendo produtos protéicos, como concentrados, isolados e hidrolisados, ricos em aminoácidos e selênio, de grande interesse para indústria de cosméticos, para formulação de cremes hidratantes e condicionadores capilares, e na indústria alimentícia, como flavorizantes e emulsificantes.

Em uma escala piloto, 70% da torta de castanha foram convertidos em produtos, sendo que destes 27% de produtos protéicos (com concentrações de 12% p/p de albumina e 27% p/p de globulina, 7,8% p/p de hidrolisado protéico), 10% de óleo recuperado e 33% de fase emulsionada, que geralmente apresentam uma concentração protéica de 50% p/p.

As análises foram feitas, em sua maioria, baseados em métodos espectrofotométricos, como o Lowry, para a determinação de proteínas; Somogyi, para determinação de açúcares redutores, e outros, como o teor de sólidos totais e método micro-Kjeldahl, para determinação de proteínas em amostras sólidas.

ÍNDICE

<i>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO</i>	12
<i>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</i>	16
<i>2.1) CASTANHA-DO-PARÁ</i>	16
2.1.1) Características Gerais	16
2.1.2) Madeira e o Reflorestamento	17
2.1.3) Ouriço (Fruto)	18
2.1.4) Amêndoa (Castanha)	19
2.1.5) Produtos e Tecnologias	25
<i>2.2) ENZIMAS</i>	31
2.2.1) Funções e Fontes	31
2.2.2) Carboidrases.....	32
2.2.3) Proteases	35
2.2.4) Outras Enzimas	38
<i>2.3) PRODUTOS PROTÉICOS</i>	39
2.3.1) Concentrados e Isolados	39
2.3.2) Hidrolisados.....	45
<i>CAPÍTULO 3 – ANÁLISE DE MERCADO</i>	48
3.1) Castanha-do-Pará	48
3.2) Produtos Protéicos	50
<i>CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO ANALÍTICO</i>	52
4.1) Caracterização da Castanha-do-Pará.....	52
<i>Materiais e aparelhos:</i>	52
4.2) Métodos Analíticos.....	54
Procedimento:.....	55
<i>CAPÍTULO 5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</i>	56
5.1) Rota de Processo pelo Método Enzimático	56
5.2) Rotas.....	57
5.3) Otimização da Rota Enzimática	59
5.4) Processo Integrado: Produção dos Derivados Protéicos	60
<i>CAPÍTULO 6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	61

6.1) Caracterização da Castanha-do-Pará	61
6.2) Ensaio de Processo Enzimático	61
6.3) Otimização da Rota Enzimática	64
6.4) Processo Integrado: Produção dos Derivados Protéicos	66
<i>CAPÍTULO 7 – DIMENSIONAMENTO DE EQUIPAMENTOS</i>	68
7.1) Dimensionamento.....	68
7.2) Fluxogramas	75
<i>CAPÍTULO 8 – ANÁLISE ECONÔMICA</i>	78
8.1 Estimativa de Custos.....	78
8.2) Taxa Interna de Retorno	82
<i>CAPÍTULO 9 – CONCLUSÃO</i>	84
<i>PERSPECTIVAS FUTURAS</i>	85
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:</i>	86
<i>GLOSSÁRIO:</i>	91
<i>APÊNDICE – Manual de Processo</i>	94
Fluxograma do Processo:.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 - Esquema simplificado de Valorização de Resíduos</i>	14
<i>Figura 2 - Castanheira</i>	16
<i>Figura 3 - Flores da Castanheira</i>	17
<i>Figura 4 - Muda de castanheira</i>	18
<i>Figura 5 - O ouriço da castanheira</i>	19
<i>Figura 6 - Utilização do ouriço como velas decorativas</i>	19
<i>Figura 7 - Exemplos de proteína: albumina da semente de nabo (A); vicilina da soja (B); legumina da soja (C)</i>	22
<i>Figura 8 - Óleo da castanha e sua utilização em cosméticos</i>	23
<i>Figura 9 - Problemas gerados pelo selênio</i>	24
<i>Figura 10 - Aflatoxinas B1 e G1</i>	25
<i>Figura 11 - Castanha in natura</i>	26
<i>Figura 12 - Produção de Castanha in natura, o pontilhado representa as etapas mais suscetíveis a contaminação por aflatoxinas</i>	26
<i>Figura 13 - Extrusor e Expeller</i>	29
<i>Figura 14 - Torta de Castanha do Pará</i>	30
<i>Figura 15 - Mecanismo geral de ação enzimática</i>	31
<i>Figura 16 - (a): Celulose e (b): Amido; Esquema da parede celular vegetal</i>	32
<i>Figura 17 - Mecanismo de ação de celulases</i>	33
<i>Figura 18 - Mecanismo de ação amilásica</i>	34
<i>Figura 19 - Reação de Proteólise</i>	35
<i>Figura 20 - Abacaxi e Aspergillus flavus</i>	37
<i>Figura 21 - Rhizopus sp. e Bacillus amyloliquefaciens</i>	37
<i>Figura 22 - Ultrafiltração, Microfiltração e Osmose Inversa em escala industrial</i>	44
<i>Figura 23 - Produção mundial de castanha-do-pará entre 1994 e 2004 (FAOSTAT, http://www.fao.org/)</i>	48
<i>Figura 24 - Balança de Importações e Exportações Mundiais de Castanha-do-Pará referente a 2003 (FAOSTAT, http://www.fao.org/)</i>	48
<i>Figura 25 – Quadro de Exportação Brasileira de Castanha-do-Pará (MDIC, Aliceweb; http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/)</i>	49

<i>Figura 26 - Quadro de Exportação Brasileira de Produtos Protéicos (MDIC, Aliceweb; http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/).....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 27 - Quadro de Importação Brasileira de Produtos Protéicos (MDIC, Aliceweb; http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/).....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 29 - Quantificação de Proteínas pelo Método de Micro-Kjeldahl.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 33 - Centrifuga Industrial.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 34 - Spray-dryer</i>	<i>73</i>
<i>Figura 35 - Fluxograma da 1ª Parte do Projeto</i>	<i>74</i>
<i>Figura 36 - Fluxograma da 2ª Parte do Projeto</i>	<i>76</i>
<i>Figura 37 - Fluxograma da 3ª Parte do Projeto.....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 38 - Variação e Projeção do Marshall & Swift Index.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 39 - Fluxograma do Processo</i>	<i>94</i>

INDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1 - Exemplos de Resíduos Agroindustriais e Agrícolas produzidos no Brasil (Carvalho, 1992)</i>	<i>14</i>
<i>Tabela 2 - Perfil típico de aminoácidos de algumas sementes</i>	<i>20</i>
<i>Tabela 3 - Aminograma das frações protéicas de castanha-do-pará</i>	<i>22</i>
<i>Tabela 4 - Composição percentual de alguns óleos vegetais.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabela 5 - Fontes naturais de selênio</i>	<i>24</i>
<i>Tabela 6 - Principais enzimas hemicelulásicas.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 7 - Comparação da reatividade de proteases (Godfrey & West, 1996).....</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 8 - Composição de produtos protéicos de soja</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 9 - Propriedades funcionais de hidrolisados protéicos e suas aplicações.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 10 - Quadro resumido das Rotas Utilizadas</i>	<i>57</i>
<i>Tabela 11 - Condições ótimas das proteases utilizadas.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 12 - Caracterização da Castanha.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabela 13 - Após centrifugação:</i>	<i>62</i>
<i>Tabela 14 - Composição da emulsão:</i>	<i>62</i>
<i>Tabela 15 - Quantificação da fase aquosa, após centrifugação:.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 16 - Composição do produto final e de sua emulsão</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 17 - Resultados da Escala Aumentada</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 18 - Resultados em quantidade.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 19 - Principais características dos tipos de módulos com membrana.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 20 - Características do módulo da DDS</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 21 - Características da membrana da DDS</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 22 - Características dos produtos protéicos obtidos no processo</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 23 - Legendas de Correntes da 1ª Parte do Fluxograma.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 24 - Legendas de Correntes da 2ª Parte do Fluxograma.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabela 25 - Legendas de Correntes da 3ª Parte do Fluxograma.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabela 26 - Composição dos custos ISBL e OSBL (Ferreira, Castilho & Paiva, 1995)</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 27 - Estimativa do Investimento Total.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabela 28 - Estimativa do Custo Total de Produção</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 29 – Fluxo da Caixa</i>	<i>83</i>
<i>Tabela 30 - Condições das Enzimas.....</i>	<i>84</i>

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Resíduos agroindustriais são aqueles provenientes do beneficiamento industrial e/ou processamento secundário de produtos agrícolas, pecuários e florestais; e seu acúmulo, lançamento em rios, ou depósito em aterros vem gerando um grande impacto ambiental.

A natureza não consegue degradar estes resíduos de uma forma tão rápida quanto o crescimento do agronegócio, onde o Brasil alcança recordes de produção agropecuária, se tornando um dos exportadores do setor, mas não conseguindo evitar o crescente desperdício de alimentos. Uma estimativa, com base em dados da safra 2002/2003, aponta, para um desperdício de 32 milhões de toneladas da produção ao consumidor final, ou seja, aproximadamente 15% do total produzido, somando grãos, frutas, hortaliças e produtos de origem animal.

Alguns exemplos de resíduos agroindustriais e agrícolas podem ser observados na Tabela I (Carvalho, 1992), onde a grande maioria destes resíduos tinha como destino alimentar os animais da propriedade rural, ou vendidos como ração animal; adubagem do solo, compostagem, aterros sanitários e, até mesmo, a queima destes materiais.

Devido aos problemas ambientais gerados e às perdas de matéria-prima, outras alternativas estão sendo criadas com o objetivo de aproveitar e valorizar ao máximo o potencial de cada resíduo, transformando, assim, o que era prejuízo ou desperdício em lucro e benefício a todos, tanto comercialmente como ambientalmente. As novas alternativas são exemplificadas abaixo, e na figura 1, tendo como focos:

✓ **Energia:**

- **Queima direta:** ciclos a vapor, utilizados em indústrias de papel e celulose e etanol (cana); (Demirbas, 2004; Yaman, 2004)
- **Gaseificação de biomassa:** geração de um gás constituído de 20% de CO, 17% H₂, 10% CO₂, 2,5% CH₄, 50,5% N₂, que são utilizados em ciclos para geração de energia elétrica. (De Filippis, 2004)

✓ **Valorização:**

- **Etanol:** produção a partir de hidrólise (ácida ou enzimática) de resíduos lignocelulósicos, como bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz e de trigo, sabugo de milho, e posterior fermentação (Gong, 1999; Martin, 2002; Nigam, 2001; Sun & Cheng, 2005)
- **Biodiesel:** produção a partir de catálise heterogênea (ácido níobico), enzimática ou transesterificação (etanol, metanol) de óleos vegetais, como de mamona, soja, dendê, sebo, algodão, girassol, amendoim, babaçu, canola, *Jatropha curcas* e, inclusive, os óleos de fritura; (Ferrari, 2005; Alcantara, 2000; Oliveira, 2004; Abreu, 2004; Pramanik, 2003; Kalam & Masjuki, 2002)
- **Furfural:** produção a partir de pré-hidrolisado (ácido ou enzimático) de bagaço de cana, casca de arroz, casca de aveia e resíduos florestais, com altos teores de hemicelulose ou pentosanas. (Oashi, 1999; Mansilla, 1998)
- **Xilitol:** produção por via biotecnológica ou hidrogenação a partir de xilose de hidrolisados de material lignocelulósico. (Tamanini, 2004; Roberto, 1995)
- **Novos materiais:** produção a partir de fibras naturais, como fibra de coco, sisal, juta, e resíduos florestais, gerando compósitos e materiais de construção “verdes”. (Reddy & Yang, 2005; Van Dam, 2004; Tôledo Filho, 2003)

✓ **Novos Conceitos**

- **Biorrefinaria:** uso de matérias-primas renováveis (*biomassas*) e de seus resíduos, de maneira mais integral e diversificada, para a obtenção, por rota química ou biotecnológica de uma variedade de produtos e energia, com mínima geração de resíduos e emissões (Ohara, 2003, Pinatti, 2003).
- **Desenvolvimento sustentável:** exploração e desenvolvimento de tecnologias que utilizem e reciclem os recursos naturais, mantendo a preservação da biodiversidade. (Vilhena, 2004)

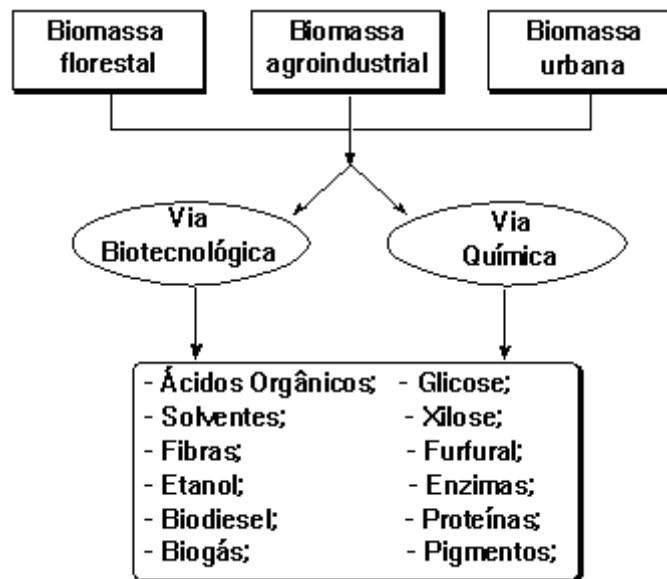


Figura 1 - Esquema simplificado de Valorização de Resíduos

Tabela 1 - Exemplos de Resíduos Agroindustriais e Agrícolas produzidos no Brasil (Carvalho, 1992)

Produto	Resíduos
Abacate	resíduo da extração de óleo (farelo da casca, polpa e caroço)
Abacaxi	farelo de resíduo de compotas e sucos
Algodão	torta da extração de óleo ou farelo
Amendoim	Casca, farelo
Arroz	Casca (palha), farelo, quirera, farelo desengordurado, palhada
Aveia	farelo (cascas e pêlos), farinha (pontas dos grãos), palhada
Banana	Engaço (pedúnculo), casca, Folhas e pseudocaule
Cacau	Casca
Café	Casca (palha)
Caju	resíduo da extração do suco e da castanha
Cana-de-açúcar	Bagaço, melaço, torta de filtro de usina, vinhoto, levedura, palha, Pontas, ponteiros, folhas laterais
Caqui	Cascas e refugo
Cevada	1ª Fase: malte seco, raiz de malte e gérmen seco; 2ª Fase: borra de cervejaria ou bagaço de cevada; 3ª Fase: Lúpulo esgotado e fundo de mosto; 4ª Fase: Levedura de cerveja
Feijão	Palhada
Laranja	Resíduo peletizado da extração do suco (bagaço, casca e semente); melaço cítrico
Girassol	Farelo
Goiaba	resíduos (semente, restos florais e outros)
Maçã	Bagaço
Mandioca	Casca; Farelo dos resíduos; Resíduo da produção do álcool; Vinhaça, Parte aérea, Rama
Maracujá	Casca, e resíduo da torta de óleo da semente
Milho	Farelo (fubá); Gérmen e envoltórios, sabugo, Palha, folhas, bráctea, colmo

Soja	Farelo, Palhada, matéria seca e verde
Sorgo	Colmo, palhada
Tomate	bagaço (casca e semente)
Trigo	Farelo, triguilho, palhada
Uva	Engaço; semente + cascas

O objetivo deste projeto é promover a valorização do resíduo (torta) proveniente da extração do óleo da Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*) através do desenvolvimento de um processo biotecnológico, com a utilização de carboidrases e proteases, para a obtenção de um produto rico em aminoácidos sulfurados, que é de grande interesse para a indústria alimentícia e cosmética.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1) CASTANHA-DO-PARÁ

2.1.1) Características Gerais

A castanha-do-pará, ou castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) é uma árvore de grande porte, que pode atingir até 50 m de altura e 2 m de diâmetro na base, e nativa de toda a Região Amazônica (onde, além do Brasil, incluem-se Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Suriname, Peru e Venezuela), principalmente em solos pobres, bem estruturados e drenados, levando de 12 a 15 anos para chegar à maturidade. Apresenta caule liso, ramificando-se apenas na porção superior, com casca escura e fendida, e copa reduzida. As folhas são verde-escuras, onduladas e brilhantes, e as flores são branco-amareladas e aromáticas, florescendo entre novembro e fevereiro.

A castanheira ainda gera o fruto, chamado de ouriço, e dentro dele há entre 12 a 25 castanhas, que se tornou a base de alimentação dos nativos por vários séculos, e um dos principais produtos comerciais da Região Norte do Brasil. (Lorenzi & Matos, 2002)



Figura 2 - Castanheira

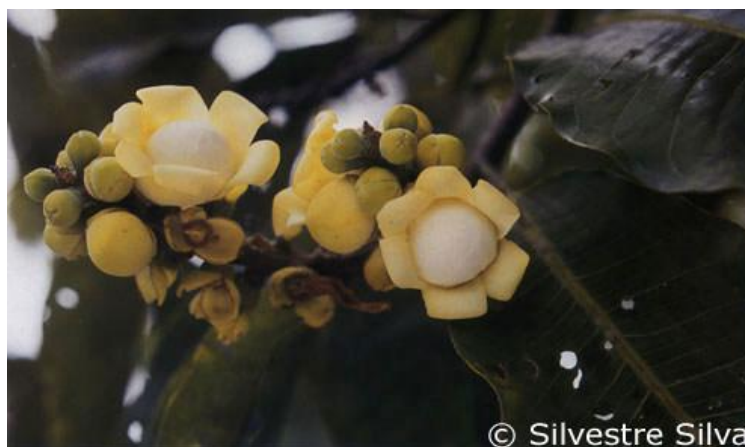


Figura 3 - Flores da Castanheira

2.1.2) Madeira e o Reflorestamento

Nos últimos tempos, milhares de castanheiras têm sido derrubadas devido a valiosa madeira, que é de ótima qualidade para construção civil e naval, tábuas para assoalhos e paredes, painéis decorativos, forros e fabricação de compensados, sendo inclusive de boa resistência ao ataque de organismos xilófagos, e uma fonte de celulose. Apesar da exploração de exemplares ser proibido pelo Decreto n°. 1282, de 19/10/1994, este comércio vem causando uma significativa redução dos castanhais nativos, especialmente na região conhecida como Polígono dos Castanhais no Estado do Pará.

Alguns experimentos desenvolvidos pelo Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental da EMBRAPA de Belém do Pará têm demonstrado que, ao lado de outras essências florestais, a castanheira-do-brasil é excelente alternativa para o reflorestamento de áreas degradadas de pastagens ou de cultivos anuais através de plantios puros ou sistemas consorciados. Assim, espera-se que, motivados pelos lucros advindos tanto da produção de frutos como da extração racional de madeira reflorestada, muitos proprietários e investidores se voltem para o cultivo da castanha-do-brasil, deixando os castanhais nativos e seculares em paz. (Vilhena, 2004; www.embrapa.br; www.ambientebrail.com.br)



Figura 4 - Muda de castanheira

2.1.3) Ouriço (Fruto)

Os frutos da castanheira, também chamados pelo nativo de "ouriços", possuem uma cápsula lenhosa, globosa e bastante dura, chegando a pesar quase dois quilos, sendo de 51 a 57% de casca e 43 a 49% de semente, que se apresenta em número variado, cujo tamanho varia entre 4 a 7 centímetros de comprimento, tendo também uma casca muito dura e rugosa, encerrando a amêndoa procurada. As sementes são liberadas através do rompimento da porção inferior do ouriço, no período que vai de dezembro a março.

O ouriço vazio se torna a moradia perfeita para alguns animais na floresta, como, por exemplo, os mosquitos, sapos e rãs, que aproveitam a água acumulada neste. Este também é utilizado para produção de peças de enfeite, como pulseiras, anéis, colares e castiçais, e como combustível. (Vilhena, 2004)



Figura 5 - O ouriço da castanheira



Figura 6 - Utilização do ouriço como velas decorativas

2.1.4) Amêndoa (Castanha)

A amêndoa da castanha-do-pará apresenta um alto valor energético, com cerca de 60 a 70% de óleo e de 15 a 20% de proteínas, e a presença de selênio na sua composição química fez aumentar o interesse do mercado consumidor e de pesquisadores. O consumo da amêndoa é feito de forma in natura e através de derivados, como biscoitos, farinha, paçoca e óleo. (Souza & Menezes, 2004)

Outros constituintes, que estão em pequena quantidade, são vitaminas E, B1, B2, B5 e B6, e sais minerais, como cálcio, potássio, magnésio, fósforo e cobre.

2.1.4.1) Proteínas

As proteínas vegetais estão sendo largamente utilizadas como uma alternativa às fontes de proteínas animais e contribuem substancialmente para a dieta

humana. Podem ser classificadas em três principais classes: estruturais, de reserva e biologicamente ativas. Destas, as proteínas de reserva são as mais abundantes em sementes, como soja, mamona, amendoim, girassol, avelãs, nozes, e outros legumes e oleaginosas, e são, portanto, as que têm uma maior importância nos atributos nutricionais e de processamento destes grãos. Sua função fisiológica nas sementes é de fornecer uma fonte de aminoácidos e nitrogênio para germinação da semente, e posterior desenvolvimento vegetal.

Embora as proteínas de reserva não sejam geralmente biologicamente ativas, algumas são conhecidas por possuírem funções metabólicas específicas na semente. Como exemplo, temos:

- Inibidores de protease, que se acumulam em legumes e em cereais;
- Inibidores de β -amilase, em cereais;
- Lectinas, no feijão e na ervilha;
- Canavalina no feijão-de-porco, como uma forma modificada proteoliticamente de α -D-mannosidase;
- Urease e lipoxigenase, que tem ação como enzimas durante o desenvolvimento da semente, e como proteínas de reserva durante a germinação. (Duranti & Gius, 1997; Clemente, 2000 (a))

Tabela 2 - Perfil típico de aminoácidos de algumas sementes

	Castanha-do-pará	Milho	Ervilha	Soja	Trigo
Triptófano*	0,927	0,204	0,51	1,07	0,1
Treonina*	2,546	4,451	2,941	3,3	2,587
Isoleucina*	2,606	3,736	4,582	3,568	3,022
Leucina*	7,235	11,678	8,459	5,62	6,524
Lisina*	3,82	3,164	7,584	2,408	1,807
Metionina*	6,004	1,694	0,984	1,16	1,283
Cisteína	1,965	2,327	0,899	1,16	2,007
Fenilalanina*	4,132	0,612	5,141	3,479	5,03
Tirosina	2,724	0,204	3,306	1,07	0,569
Valina*	4,317	5,533	4,922	3,747	3,435
Arginina	14,588	4,104	8,799	6,512	3,257
Histidina*	2,622	2,47	2,662	2,408	1,729
Alanina	3,643	12,699	4,472	3,3	2,587
Aspartato	8,525	6,697	11,862	10,17	3,625
Glutamato	21,089	18,477	19,932	18,555	37,029
Glicina	4,823	5,288	4,327	22,48	6,848
Prolina	4,014	11,066	4,934	4,995	13,384
Serina	4,419	5,594	3,682	4,995	5,175

* Aminoácidos essenciais; Negrito estão o de maior quantidade

As proteínas de reserva têm sido tradicionalmente classificadas pela extração seqüencial das sementes trituradas e desengorduradas por uma série de solventes aquosos e não-aquosos:

- **Albuminas**, fração extraída com água;
- **Globulinas**, fração extraída com soluções salinas;
- **Prolaminas**, fração extraída com etanol;
- **Glutelinas**, fração extraída com ácido ou base.

Na amêndoa da castanha-do-pará, as principais proteínas existentes são as albuminas e as globulinas. A albumina tem duas subunidades de 4 e 9 kDa, sendo monomérica com 2 ligações dissulfeto, e ocorre em maior quantidade na castanha, apresentando altos teores de aminoácidos sulfurados (18% metionina e 8% cisteína), sendo estável de pH 2,2 a 6,8 e temperaturas de até 75°C, e a proteólise (dura 15 minutos em um fluido gástrico simulado). (Ampe *et al*, 1986)

As globulinas, que ocorrem com diferentes coeficientes de sedimentação 7S e 11S, são chamadas respectivamente de vicilinas e leguminas, sendo estas últimas mais abundantes em grãos não-cereais e mais termoestáveis. (Marcone, 1999)

As vicilinas são tríméricas, mostrando pH e força iônica dependentes do equilíbrio de associação e dissociação. As leguminas são hexaméricas, mas menos suscetíveis a dissociação, exceto a pH e força iônica muito baixos.

A globulina 11S na castanha-do pará é conhecida como excelsina, apresentando duas subunidades alfa (33 kDa) e beta (21 kDa) ligadas por uma única ponte dissulfeto para formar o hexâmero (300 kDa), sendo esta a principal fonte de nitrogênio para o desenvolvimento do vegetal (Sun *et al*, 1987 (a) e (b))

Separação e identificação dos componentes individuais dentro destas classes de proteínas extraídas têm aumentado com avanços em várias metodologias na qual usam HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), eletroforese capilar e SDS-PAGE (eletroforese em gel de poliacrilamida – dodecilsulfato de sódio).

Tabela 3 - Aminograma das frações protéicas de castanha-do-pará

	Total	2S	7S	11S
Triptófano	2,36	0,47	2	2,81
Treonina	2,8	0,71	3,53	3,61
Isoleucina	6,75	5,55	7,07	7,25
Leucina	2,94	1,74	4,31	3,16
Lisina	6,53	17,92	3,71	3,52
Metionina	2,65	8,73	1,02	1,66
Cisteína	3,74	0,51	5,95	4,9
Fenilalanina	2,85	1,56	3,36	2,75
Tirosina	4,02	0,73	5,52	4,78
Valina	14,89	15,7	13,02	13,81
Arginina	2,2	2,15	3,1	2,07
Histidina	3,24	1,21	3,53	3,96
Alanina	7,67	4,31	9,53	9,58
Aspartato	22,17	25,32	22,93	21,04
Glutamato	5,5	4,17	5,78	5,84
Glicina	5,1	5,6	4,83	5
Prolina	4,62	4,36	1,72	4,28

(Sun *et al*, 1987)

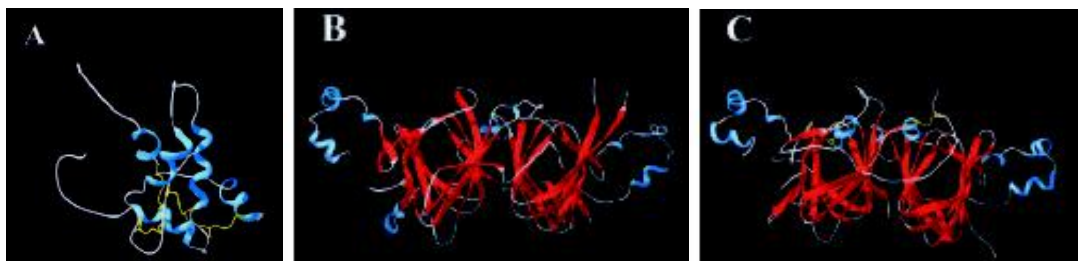


Figura 7 - Exemplos de proteína: albumina da semente de nabo (A); vicilina da soja (B); legumina da soja (C)

2.1.4.2) Óleo

O óleo da amêndoa de castanha-do-pará, de cor amarelo-claro e aroma e sabor agradável, tendo valor comestível de altíssima qualidade, sendo também muito utilizado como matéria-prima na fabricação de cosméticos, tais como sabonetes finos, produtos pós-barba e anti-envelhecimento, shampoos, condicionadores de cabelo e principalmente, hidratantes, devido ao alto teor de ácido linolêico, que contribui como barreira à perda de água trans-epidérmica. Sua composição é descrita na tabela 3, que o compara com os principais óleos comercializados no país.

Tabela 4 - Composição percentual de alguns óleos vegetais

%	Ácidos graxos	Castanha-do-pará	Soja	Oliva	Amêndoa Doce	Palma (Dendê)
12:0	láurico	-----	4,34	-----	-----	1,04
14:0	mirístico	0,92	4,34	0,67	-----	1,33
16:0	palmítico	15,13	11,2	11,66	5,5	40,87
18:0	esteárico	9,33	2,41	2,15	2,8	4,28
20:0	araquídico	-----	-----	0,48	0,1	0,47
16:1	palmitoléico	0,45	-----	1,45	0,2	1,26
18:1	oléico	37,95	20,35	73,76	70,3	41,98
18:2	linoléico	36,05	50,53	9,83	21	8,68
18:3	linolênico	0,078	6,85	-----	0,1	0,09

(Swern, 1982)



Figura 8 - Óleo da castanha e sua utilização em cosméticos

2.1.4.3) Selênio

O selênio se encontra naturalmente nos alimentos de origem animal, frutos do mar, carnes, fígado, vegetais e cereais integrais, sendo a castanha-do-brasil o alimento mais rico neste mineral, como mostra a Tabela V.

Tabela 5 - Fontes naturais de selênio

Fonte: www.emedix.com.br

Fonte	mg/100 g
Castanha-do-brasil	2960
Salmão	83,3
Farelo de trigo	77,6
Ostras cruas	63,7
Sementes de girassol secas	59,5
Fígado bovino	41,3
Camarão cru	38,0
Farinha de centeio	35,7
Peito de galinha assado	20,2
Milho	15,5
Arroz branco cru	15,1
Alho	14,2
Cogumelo	12,3
Noz pecã	5,2
Amêndoa	4,7
Avelã	4,0



Figura 9 - Problemas gerados pelo selênio

O selênio, diferentemente dos outros metais, é um elemento essencial à saúde humana. Atuando com a vitamina E, ele protege as células do organismo contra danos oxidativos, especialmente retardando a oxidação do LDL – colesterol; catalisa as reações do mecanismo intermediário, bem como apresenta ação inibidora do efeito tóxico de metais pesados As, Cd, Hg e Sn. No caso de doenças crônicas como a arteriosclerose, câncer, artrite, cirrose e enfisema, há fortes indícios de que ele atue como elemento protetor. O selênio retarda o envelhecimento, combate a tensão pré-menstrual, preserva a elasticidade dos tecidos, previne o câncer e neutraliza os radicais livres. Em homens, aumenta a potência e o interesse sexual e supre a carência gerada quando o selênio é perdido com o sêmen. Os requerimentos diários são da ordem de 50 a 75 µg para mulher e homem adultos.

A amêndoa de castanha-do-brasil apresenta uma quantidade elevada de selênio, em comparação com as demais fontes, mas não ultrapassando a dose UL de 400 µg UL (máximo nível tolerável de ingestão de selênio por dia sem riscos de efeitos adversos). (Souza & Menezes, 2004; <http://www.cq.ufam.edu.br/>)

2.1.4.4) Aflatoxina

As aflatoxinas são potentes toxinas produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, sendo as quatro principais aflatoxinas, chamadas de B1, B2, G1 e G2, que ocorrem principalmente em amendoim, castanha-do-pará, pistache, milho, arroz e outros cereais e oleaginosas, sob condições de umidade do produto, umidade relativa do ar e temperatura ambiente favoráveis. Estes são identificados pela fluorescência violeta, quando observados a luz UV, em 365 nm.

No caso da castanha, o fungo só se desenvolve quando não são obedecidos os rígidos padrões de higiene nos processos de coleta e pós-coleta, dando condições ao surgimento da toxina, sendo que os limites máximos de tolerância de presença da toxina é de 5 ppb, na União Européia, e de 30 ppb, no Brasil, pois a presença de 100 ppb é suficiente para causar hepatite aguda, câncer e necrose do fígado. (Dewick, 2002; Souza & Menezes, 2004).

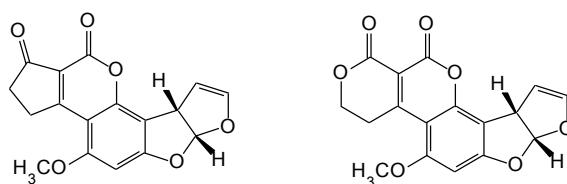


Figura 10 - Aflatoxinas B1 e G1

2.1.5) Produtos e Tecnologias

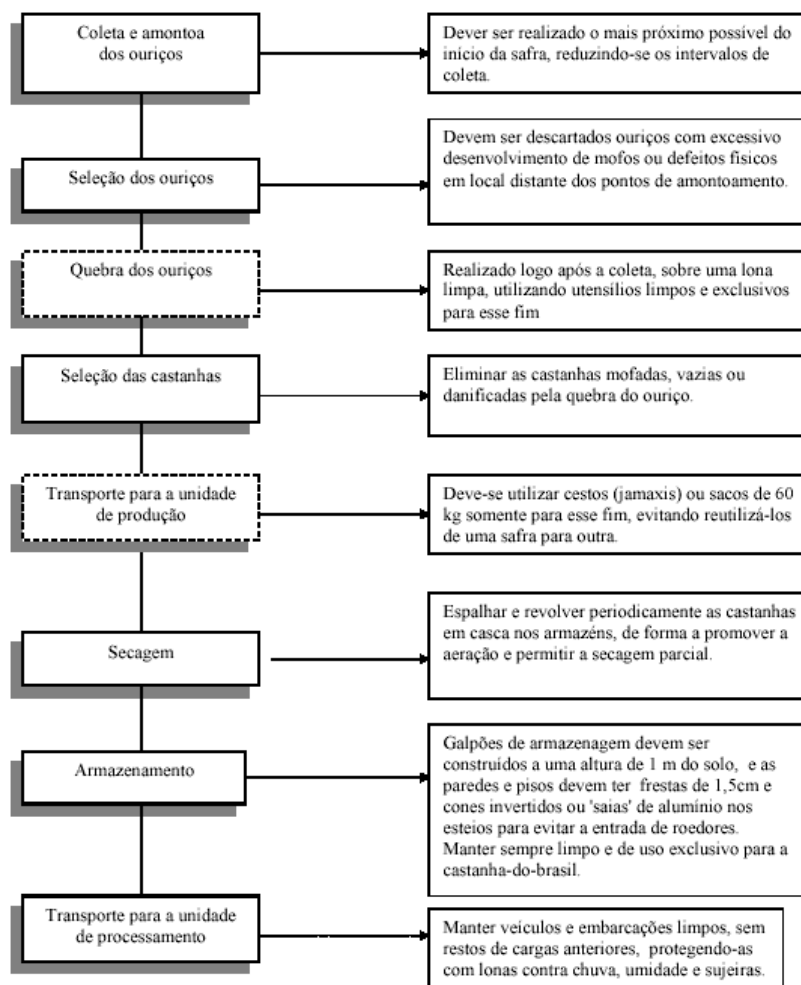
2.1.5.1) Castanha *in natura*

A castanha pode ser vendida sem beneficiamento, com casca e a granel, ou com beneficiamento, onde elas são quebradas manualmente, parcial ou totalmente desidratadas e despeliculadas ou não. (Glória & Regitano D'Arce, 2000).

Devido ao formato irregular, aproximadamente 10% delas se quebram, reduzindo seu valor comercial a apenas 60% do das castanhas perfeitas, e utilizadas principalmente por pequenas indústrias na extração do óleo.



Figura 11 - Castanha in natura



Fonte: EMBRAPA/AC, Pesquisa de Campo, Outubro, 2003

Figura 12 - Produção de Castanha in natura, o pontilhado representa as etapas mais suscetíveis a contaminação por aflatoxinas

2.1.5.2) Leite de Castanha

O leite de castanha é produzido a partir da trituração das amêndoas despelculadas com água quente, e tem um grande valor na culinária regional, sendo utilizado para consumo ou em bebidas formuladas, podendo substituir produtos similares como o leite de coco. (Cardarelli & Oliveira, 2000)

2.1.5.3) Tecnologia de Produção de Óleos Vegetais

Os óleos vegetais estão no cotidiano da humanidade há milhares de anos. Desde o azeite de oliva, que era usado tanto na alimentação como nos rituais, em que os competidores das Olimpíadas, na Grécia Antiga, se untavam com azeite, até hoje, onde há uma grande variedade de óleos vegetais, como os do algodão, soja, amendoim, palma, girassol, milho, arroz, uva, gergelim, colza (canola), castanha-do-pará, babaçu, andiroba, abacate, amêndoas.

Os óleos são definidos como misturas de ésteres de glicerol com ácidos graxos, chamados de triglicerídios, e substâncias menores; os azeites são definidos como óleos vegetais que obtidos por prensagem e apresentam um grau de acidez inferior a 1%, sendo classificados em:

- **Extravirgens:** grau de acidez < 0,8%, e não refinado; uso alimentício;
- **Virgens:** grau de acidez entre 0,8 e 2%, e não refinado; uso alimentício;
- **Virgens Lampantes:** grau de acidez >2%, e não refinado; uso industrial.

A produção de óleos vegetais, geralmente, ocorre em várias etapas:

→ **Pré-tratamento mecânico**

- *Pré-limpeza e classificação das sementes:* retirada de sementes com injúrias e classificação por cor, tamanho, formato e qualidade, e três lavagens com concentrações decrescentes de cloro e posterior neutralização com ácido cítrico;
- *Decorticação:* retirada de fibras usando rolos ou discos estriados girando em sentidos opostos com velocidades diferentes ou *Despeliculamento:* por atrito, ou por impacto;
- *Separação das amêndoas:* peneiras vibratórias para eliminação das cascas;
- *Moagem* (moinho de facas ou martelos) e *Laminação* (rolos aquecidos a 60°C) ou *Extrusão* (expander): facilita a penetração do solvente na célula.

→ **Extração**

- *Cozimento:* ajuda a inativar enzimas naturais, destruir microorganismos, torna a semente mais permeável e insolubiliza os fosfatídeos;
- *Desidratação:* secador de bandejas, com temperatura entre 55 e 65°C;

- *Prensagem a frio ou a quente*: extração mecânica para obtenção do óleo bruto, sendo que 60% de rendimento de óleo é obtido;
- *Filtração*: para remover tecidos vegetais e água;
- *Extração com solvente*: geralmente é utilizado o hexano, em um processo contínuo com fluxo contra-corrente cruzado, junto a torta proveniente da prensagem, a temperaturas de 55-65°C;
- *Destilação da miscela*: separa o óleo, que segue para a refinaria, do solvente, que é reciclado ao processo para novas extrações;
- *Dessolventização do farelo*: recuperação do solvente residual, que está em torno de 2% no farelo.

→ Refino

- *Degomagem*: remoção de gomas (fosfatídeos hidratáveis), ceras e substâncias coloidais, podendo ser neutra ou ácida;
- *Neutralização*: remoção dos fosfatídeos residuais, corantes naturais e ácidos graxos livres com NaOH, com posterior lavagem com água quente para remoção de sabões formados;
- *Branqueamento*: remoção de pigmentos, resíduos de sabões e fosfatídeos através da adição de terra diatomácea, como celite ou perlita;
- *Winterização*: resfriamento lento com centrifugação ou filtração para remoção de cristais de estearinas, ceras e resinas;
- *Desodorização*: remoção de odores e sabores desagradáveis, como peróxidos, ácidos graxos livres, pesticidas, carotenóides e outros compostos voláteis, pela passagem de vapor superaquecido;
- *Desacidificação*: destilação dos ácidos graxos livres;
- *Envase e Estocagem*: embalados a vácuo em sacos de polietileno, sendo estocado em ambiente ventilado e escuro para evitar oxidação. (Swern, 1982)

O método de extração com solvente orgânico não é visto como alternativa correta ambientalmente, pois o hexano tem uma alta inflamabilidade, um alto custo, é tóxico, pois este tem uma perda no processo em torno de 1 a 1,5%, que é emitida na atmosfera sob a forma de COVs. Por isso, atualmente, novos métodos alternativos estão

sendo implementados, tendo como objetivos uma tecnologia mais limpa, com menor consumo de energia e maior eficiência, que são:

- *Extração enzimática*, onde se utiliza de enzimas hidrolíticas, como celulases, hemicelulases, amilases, xilanases e proteases, para o rompimento da parede celular de sementes. Estas podem ser adicionadas durante a etapa de cozimento, antes da prensagem (extração combinada), ou durante uma etapa de pré-processamento e depois, incubada em meio aquoso (extração aquosa), sempre em quantidades inferiores a 1%. Um possível impacto negativo é a formação de emulsões, devido a presença de lipoproteínas nas sementes, que tem sido tratada com um pré-tratamento de extrusão termoplástica antes da extração (Godfrey & West, 1996);
- *Extração supercrítica com CO₂*, onde se utiliza pressões altas até o dióxido de carbono permanecer em um estado fluido, tendo propriedades similares ao do hexano, como exemplo temos: buriti, dendê, cupuaçu e bacuri. (Rodrigues *et al*, 2005).

O óleo da castanha-do-pará é extraído por prensas (expeller) ou manualmente, podendo ser comercializado bruto, filtrado ou refinado, e sendo destinados para a indústria alimentícia e a de cosméticos, sendo as principais: Crodamazon, Beraca, Cognis e Natura (linha Ekos).



Figura 13 - Extrusor e Expeller

2.1.5.4) Torta ou Farelo de Castanha

O subproduto do processo de extração de óleo da castanha-do-pará, a torta ou farelo era geralmente utilizado como ração animal, mas atualmente tem tido aplicação no enriquecimento e preparo de alimentos, como biscoitos, doces, farinhas, pães e outros.

Para valorização deste subproduto há alguns estudos que propõem o isolamento, modificação (acetilação) ou concentração da globulina, ou excelsina, incorporando, assim, aos alimentos melhores características funcionais, como emulsificação, viscosidade e solubilidade. (Ramos & Bora, 2003; 2004)



Figura 14 - Torta de Castanha do Pará

2.2) ENZIMAS

2.2.1) Funções e Fontes

As enzimas são proteínas com atividade catalítica, altamente seletiva para um número limitado de substratos, sendo essenciais para o controle metabólico de muitas reações bioquímicas.

A maioria das enzimas utilizadas na indústria, aproximadamente 75%, tem ação hidrolítica e são usadas para despolimerização de substâncias naturais, como amido, celulose e proteínas. A produção de enzimas por fermentação de microrganismos representa 90% de todo material enzimático produzido para fins industriais, tendo como outras fontes as plantas, como o abacaxi (bromelina) e o mamão papaia (papaína); e os animais, como o pâncreas e o estômago de bezerros, para extração de lipases e proteases. (Godfrey & West, 1996)

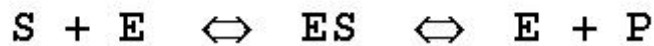
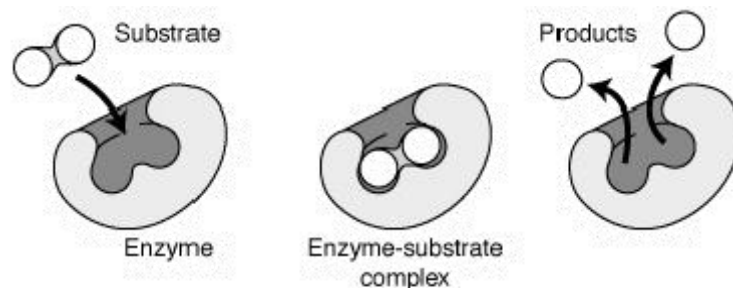


Figura 15 - Mecanismo geral de ação enzimática

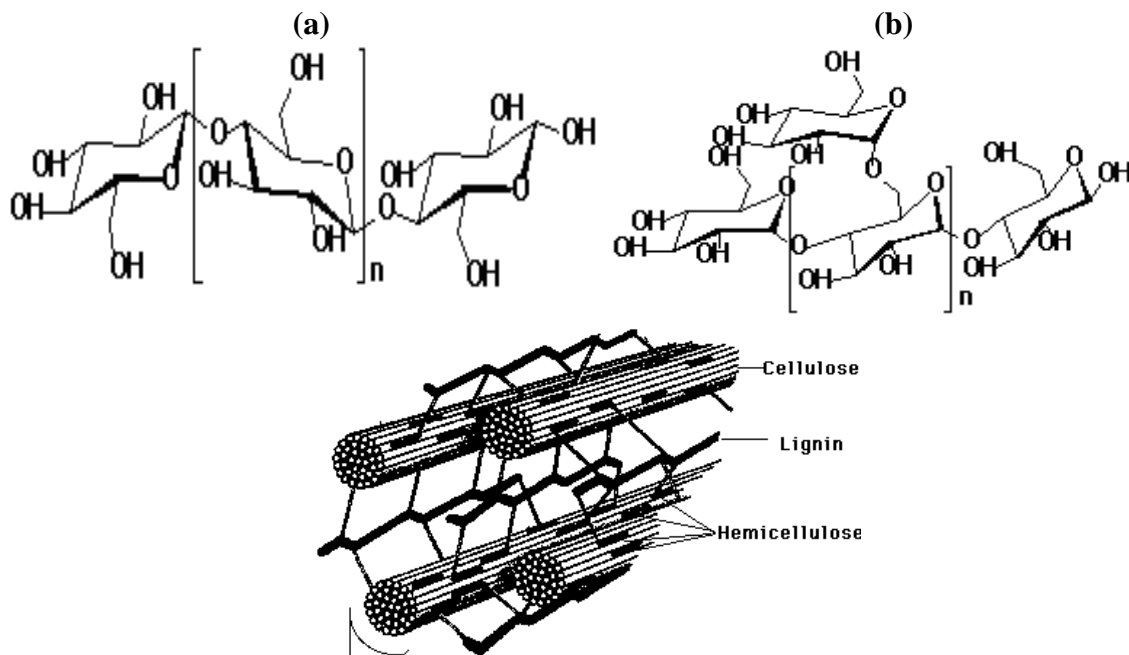


Figura 16 - (a): Celulose e (b): Amido; Esquema da parede celular vegetal

2.2.2) Carbohidrases

2.2.2.1) Celulases

Celulases compreendem um complexo enzimático com numerosas isoenzimas, que atuam sinergicamente na hidrólise da fibra celulósica, mas, no entanto, geram produtos (glicose e cellobiose) que inibem as enzimas. Em alguns casos, é feito um pré-tratamento alcalino ou ácido ao material, antes do tratamento enzimático, para tornar a celulose menos cristalina e mais suscetível à hidrólise. Este sistema multienzimático possui:

- ✓ Endoglucanases: hidrólise da cadeia β-1,4-glicosídica de celulose aleatoriamente, principalmente em zonas amorfas da cadeia;
- ✓ Exoglucanases ou Cellobiohidrolases: hidrólise da cadeia β-1,4-glicosídica de celulose cristalina na sua extremidade e de cellodextrinas, gerando cellobiose;
- ✓ β-glicosidases: cellobiose e cellodextrinas são hidrolisadas em glicose. (Uhlig, 1998)

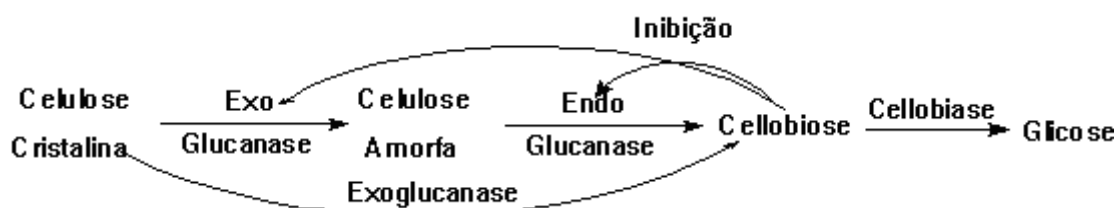


Figura 17 - Mecanismo de ação de celulases

As celulases comerciais têm como fontes principais os fungos do gênero *Trichoderma*, *Humicola* e *Aspergillus*, e são de especial interesse para:

- ✓ Produção de álcool, reaproveitando resíduos vegetais como bagaço de cana e palha de milho, com posterior fermentação;
- ✓ Formulações de detergentes, removendo microfibrilas do tecido, aumentando seu brilho e sua maciez;
- ✓ Aumento do rendimento de sucos de frutas e da extração de óleos vegetais;
- ✓ Aumento da taxa de drenagem da polpa mecânica e remoção de tinta em indústrias de papel e celulose;
- ✓ Produção de calças de brim, mais claras e macias, na indústria têxtil.

(Godfrey & West, 1996)

2.2.2.2) Hemicelulases

As hemicelulases ou pentosanases são classificadas em diferentes enzimas, pois a hemicelulose é um heteropolímero complexo devido à possibilidade de vários monômeros e ligações presentes. Abaixo, temos na Tabela VI quais são as principais enzimas. (Uhlig, 1998)

Tabela 6 - Principais enzimas hemicelulásicas

Enzimas	Substratos	Fonte	Aplicação Industrial
β - glucanases	β -1,4-; 1,3-; 1,6-glucana	<i>Bacillus</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillium</i> , cevada	Ração animal, Cervejaria, Vinhos e Panificação
Galactomananases	β -1,4-manana com α -1,6- galactose	<i>Aspergillus niger</i>	Sucos de frutas (abacaxi), Extração de óleos vegetais
Arabinases	α -1,3; 1,5- arabinana	<i>Aspergillus niger</i>	Sucos de frutas (maçã e pêra)
Xilanases	β -1,4; 1,3- xilana	<i>Bacillus</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Aspergillus</i>	Ração Animal, Suco de frutas (maçã, pêra e abacaxi), Papel e celulose, Cervejaria

2.2.2.3) Amilases

As amilases são responsáveis pela degradação do amido e de dextrinas em oligossacarídeos, dissacarídeos e glicose, diminuindo a viscosidade de materiais e soluções, facilitando maceração e filtração de sucos de frutas, aumentando o rendimento da produção de álcool e de cerveja e extração de óleos vegetais. (Uhlig, 1998)

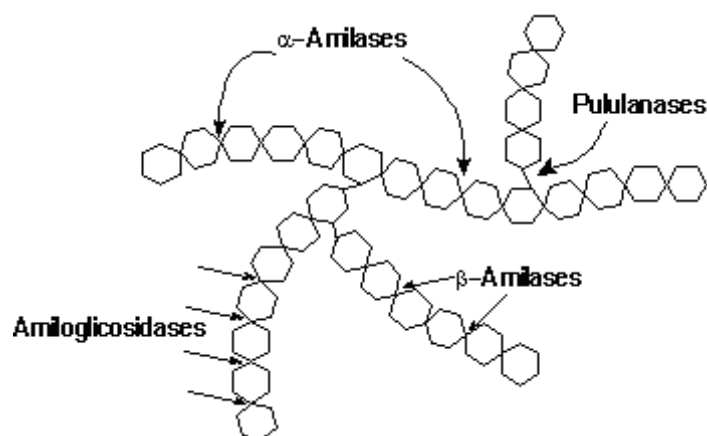


Figura 18 - Mecanismo de ação amilásica

Há vários tipos de amilase, cada qual, com seu mecanismo de ação:

- ✓ α-Amilase: hidrolisa ligações α-1,4-glicosídicas em amido, produzindo oligossacarídeos e dextrinas, sendo que a taxa de hidrólise diminui gradualmente quanto menor o grau de polimerização e de ramificação. Suas fontes principais são *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, malte e pâncreas bovino;
- ✓ Pululanase: cliva ligações α-1,6-glicosídicas, onde ocorre as ramificações no amido, pululana e β-dextrinas, gerando dextrinas lineares. Sua fontes principais são *Bacillus sp*, *Klebsiella pneumoniae* e *Aerobacter aerogenes*;
- ✓ Amiloglicosidase: hidrolisa preferencialmente ligações α-1,4-glicosídicas, mas também cliva ligações α-1,3- e α-1,6-glicosídicas dos terminais não-redutores da cadeia amilácea. Tem como fontes principais *Aspergillus niger* e *Rhizopus sp.*.

- ✓ β-Amilase: hidrolisa ligações α-1,4-glicosídicas nos terminais não-redutores da cadeia amilácea, gerando β-maltose. Suas fontes principais são malte, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas sp.* e *Streptomyces sp.*

2.2.3) Proteases

As proteases clivam as proteínas por uma reação de hidrólise, onde uma molécula de água é adicionada a uma ligação peptídica, facilitando o ataque nucleófilo a uma carbonila normalmente não reativa. (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004)

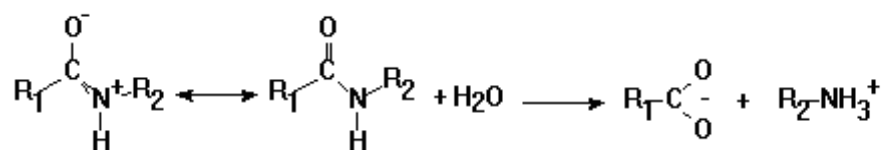


Figura 19 - Reação de Proteólise

Devido a diferentes estratégias de catálise utilizadas pelas proteases, estas foram classificadas em 4 classes: serínicas, cisteínicas, aspárticas e metaloproteases, que por isso tem a reatividade variando sobre diferentes tipos de substratos (Tabela VII)

Tendo como fontes os mais diversos tipos de organismos, como plantas (abacaxi, mamão e figo), órgãos de animais (estômagos de bezerros, cabritos e ovelhas) e microorganismos (*Aspergillus sp.*, *Bacillus sp.*, *Mucor sp.*).

Tabela 7 - Comparação da reatividade de proteases (Godfrey & West, 1996)

Enzimas	hemoglobina	gelatina	caseína	Proteína soja
Papaína (referência)	1	1	1	1
Ficina	0,5	1,1	0,2	0,3
Pepsina	0,65	0,7	0,95	0,1
Subtilisina	1,6	1,3	1,65	1,7
Neutra (<i>Bacillus sp.</i>)	1,35	1,4	1,3	1,4

2.2.3.1) Proteases Cisteínicas

A estratégia utilizada por estas enzimas é a ativação do radical de cisteína por uma histidina, fazendo a função de nucleófilo que ataca a ligação peptídica.

As principais fontes deste tipo de protease são o abacaxi (*Ananas sativa*), do qual se obtém a bromelina por precipitação em álcool, o mamão papaia (*Carica papaya*),

do qual se obtém o látex do fruto verde, que contém 20% de papaína e quimopapaína, e o figo (*Ficus carica*), do qual se extrai do látex a ficina.

A aplicação industrial desta classe de proteases é referente ao amaciamento de carnes, estabilização de cervejas e vinhos, fabricação de couro, auxiliares digestivos e produção de hidrolisados protéicos. (Godfrey & West, 1996)

2.2.3.2) Proteases Serínicas

Este tipo de protease cliva ligações peptídicas seletivamente no lado carboxílico de aminoácidos, como triptófano, tirosina, fenilalanina e metionina, onde o centro ativo é formado por radicais de serina, histidina e aspartato, que levam a uma alta reatividade do radical serina, devido ao íon alcóxido formado e promove o ataque nucleófilo sobre a carbonila do substrato. (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004)

As fontes desta classe de proteases são variadas, oriundas tanto de animais, como a quimotripsina, a tripsina e a elastase (pâncreas de bezerro), quanto de microrganismos, como a subtilisina (*Bacillus licheniformis*) e outras proteases fúngicas (*Aspergillus flavus*, *A. candidus*, *A. oryzae*, *A. melleus*). (Uhlig, 1998)

As aplicações também variam, pois a quimotripsina e a tripsina são utilizadas em diagnósticos e análise clínica, a subtilisina é utilizado em formulações de detergentes e as outras proteases fúngicas são aplicadas para hidrólise de proteínas em geral, principalmente para melhorar o sabor dos alimentos. (Godfrey & West, 1996)

2.2.3.3) Proteases Aspárticas

A característica principal destes centros ativos é um par de radicais de ácido aspártico que agem juntos, permitindo que uma molécula de água ataque a ligação peptídica. (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004)

São também conhecidas como proteases ácidas, e tem como fontes os estômagos de bezerros e cabritos (pepsina e quimosina ou renina), e os fungos (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *A. saitoi*, *Mucor pusillus*, *M. miehei*, *Endothia parasítica*, *Rhizopus sp.*).

Estas enzimas são utilizadas principalmente na fabricação de queijo, e também na clarificação de cervejas e vinhos. (Godfrey & West, 1996)

2.2.3.4) Metaloproteases

O centro ativo de uma destas proteínas contém um íon metálico ligado (zinco), que ativa uma molécula de água a agir como nucleófilo para atacar a carbonila peptídica. (Berg, Tymoczko & Stryer, 2004)

Este tipo de protease tem origem apenas microbiana, sendo as fontes principais o *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. stearothermophilus*, *Aspergillus niger* e *A. oryzae*, e são utilizados na hidrólise protéica generalizada, tendo a vantagem de agir em pH neutros e são insensíveis a inibidores naturais de protease. (Godfrey & West, 1996)



Figura 20 - Abacaxi e *Aspergillus flavus*

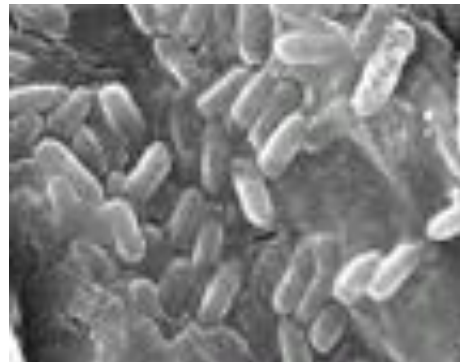


Figura 21 - *Rhizopus* sp. e *Bacillus amyloliquefaciens*

2.2.4) Outras Enzimas

A aplicação industrial das enzimas é extensa, abrangendo:

✓ **Processamento de alimentos**

→ Modificação de características organolépticas, para melhorar a qualidade do produto, como:

- ◆ Cor; polifenoloxidase, promovendo o escurecimento do chá e café.
- ◆ Sabor; naringinase, reduzindo o amargor de sucos cítricos.
- ◆ Aroma; lipoxigenase, mantendo o aroma em comidas congeladas.
- ◆ Textura; pectinases, melhorando a maceração e liquefação de frutas para obtenção de sucos. (Fennema, 1996)

→ Remoção de compostos indesejáveis

- ◆ β -Galactosidase, hidrólise da lactose do leite para geração de produtos para pessoas com deficiência nessa enzima.
- ◆ Fitase, hidrólise do ácido fítico, promovendo uma maior absorção do fósforo na digestão do alimento.

→ Produção de compostos importantes

- ◆ α -Galactosidase, produção de gomas modificadas.
- ◆ Lípases, produção de aromas de queijo e manteiga.

✓ **Cosméticos** (Wilkinson & Moore, 1990)

- Queratinase em cremes depilatórios.
- Dextranases, em pastas dentifrícias.
- Amilases e Proteases, na limpeza de dentaduras.
- Peroxidases, em tinturas de cabelo.

✓ **Farmacêuticos**

- L-Asparaginase, como antileucêmico.
- Uroquinase, Hialuronidase, como antitrombótico.
- Proteases, como auxiliar digestivo e cicatrizante.
- Superóxido dismutase, como antiinflamatório.

(Godfrey & West, 1996)

2.3) PRODUTOS PROTÉICOS

2.3.1) Concentrados e Isolados

A legislação brasileira define concentrados e isolados protéicos como produtos protéicos, com, no mínimo, 68 e 88% de proteína (%N x 6,25) em base seca, respectivamente, sendo os de soja os únicos concentrado e isolado classificados, semelhantemente a legislação européia, que tem como valores mínimos 65 e 90% de proteína respectivamente. Para castanha-do-pará, o fator recomendado pela AOAC é de 5,46, pois o teor médio de nitrogênio em sementes varia em torno de 12 a 19%, e o fator 6,25 está relacionado ao valor médio de 16% de proteína na semente. (Glória e Regitano-d'Arce, 2000)

Tabela 8 - Composição de produtos protéicos de soja

g/100 g de produto	Semente de soja	Concentrado	Isolado
Proteína	38	64	92
Açúcares	10	14 - 15	-
Óleo (mínimo)	17 - 20	0,3	0,5
Cinzas	4,5 - 5,5	7	4
Umidade (máximo)	10 - 12	10	<5
Fibras	17,1	4,5	<1

(Kumar *et al*, 2002; Van Eys, Offner & Bach, 2004)

Os concentrados e isolados protéicos tem variadas fontes e aplicações, como por exemplo, o grão-de-bico, que vem sendo utilizado como ingrediente potencial em fórmulas infantis (concentrado) ou no preparo de queijo, pão e carne (isolados) (Clemente *et al*, 1999); a soja, que é a fonte mais consumida e conhecida, tem como derivados o isolado proteico rico em isoflavonas, a proteína texturizada, e o tofu, que são utilizados em salsichas, nuggets, patês e “carnes vegetais”, e outras fontes como cereais e sementes oleaginosas (Sadler, 2004).

A produção de concentrados e isolados protéicos normalmente ocorre a partir da extração das proteínas do farelo desengordurado da semente oleaginosa, e posterior precipitação e concentração destas, onde vários métodos são possíveis e alguns mais utilizados serão discutidos (Pessoa Jr. & Kilikian, 2005).

2.3.1.1) Métodos de Separação por Precipitação

→ Isoelétrica:

É um dos métodos mais simples e utilizado para precipitação e purificação industrial de proteínas, executado apenas pelo ajuste do pH da solução para valores próximos ou iguais ao seu ponto isoelétrico (pI), ocorrendo uma minimização da repulsão eletrostática entre as proteínas e a precipitação pela interação entre as zonas hidrófobas.

Este método é mais utilizado para proteínas com alta superfície hidrofóbica, como a globulina e a caseína, formando agregados grandes e resistentes.

A maior vantagem da precipitação isoelétrica é o baixo custo dos ácidos minerais utilizados (H_3PO_4 , HCl, H_2SO_4), e sua principal desvantagem é o potencial dos ácidos de provocar desnaturação irreversível, pois muitas proteínas são sensíveis a valores baixos de pH.

Os ácidos são utilizados em concentrações relativamente altas que variam de 2 a 10 M. Com isso, o dimensionamento do reator quanto ao tipo de mistura proteína-ácido é importante para evitar concentrações localizadas que possam provocar quebra dos precipitados formados pela diminuição das forças atrativas pela redução do pH em valores abaixo do pI, assim como desnaturação.

→ Salting-out:

A precipitação por sais ocorre por neutralização das cargas superficiais da proteína e redução da camada de hidratação, favorecendo a agregação dos resíduos hidrofóbicos, sendo *salting-out* quando a precipitação ocorre sob altas concentrações salinas, evitando a desnaturação da proteína, e apesar do aumento de temperatura favorecer a precipitação, este método ocorre a 4°C para evitar a proteólise.

Os sais mais adequados são os que apresentam elevada solubilidade, que aumentam a tensão superficial do solvente, resultam em um nível menor de hidratação das zonas hidrófobas, e um aumento da interação entre elas, onde os cátions monovalentes (NH_4^+ , Na^+ e K^+) e certos ânions bivalentes (SO_4^{2-} , PO_4^{3-} e citrato) são melhores que cátions bivalentes (Mg^{2+}) e ânions monovalentes (Cl).

O sal mais empregado é o sulfato de amônio, $(NH_4)_2SO_4$, pois tem uma ação estabilizante e antibacteriana sobre as proteínas, devido à alta concentração da solução saturada (533 g/L a 20°C). O maior inconveniente é que o sulfato de amônio é corrosivo,

de difícil manuseio e disposição final, e necessitam de uma máxima remoção deste em produtos alimentícios por apresentarem gosto e toxicidade.

A eficiência do processo de precipitação de proteínas com sais em larga escala é difícil de ser reproduzida, pois a concentração de saturação varia com a temperatura; o controle dos diferentes lotes deve ser rigoroso, e a manutenção da homogeneidade do sistema é complicada.

→ Solventes orgânicos

O principal efeito é a redução da atividade da água pela diminuição da constante dielétrica do meio, quer dizer, com o aumento da concentração do solvente, ocorre a diminuição do poder de solvatação da água nas regiões carregadas e hidrofílicas da superfície da proteína e o aumento da atração eletrostática entre as proteínas.

Os principais solventes orgânicos utilizados são metanol, etanol, acetona e éteres. A utilização destes solventes para precipitação de proteínas já era conhecida desde o século XIX, mas o processo só foi utilizado em escala industrial a partir da década de 1940 pela Marinha norte-americana durante a Segunda Guerra Mundial, sendo conhecido como Método de Cohn, para fracionamento das proteínas do plasma sanguíneo por etanol frio.

Uma das vantagens do uso de solventes é sua volatilidade, que permite sua recuperação e reciclo ao processo, e uma fácil remoção dos precipitados, possuindo, além disso, propriedades bactericidas.

Outra vantagem é que muitos solventes orgânicos apresentam densidade menor que da água, acelerando a sedimentação do precipitado formado, sendo necessários apenas a decantação deste, ou uma operação de baixa força centrífuga refrigerada.

A principal desvantagem é a tendência dos solventes causarem mudanças conformacionais nas proteínas e sua inflamabilidade, exigindo sempre baixas temperaturas de operação para trabalhos em larga escala.

→ Scale-up

De modo geral, o ambiente químico em que está envolta a proteína (pH, força iônica, concentração de precipitante) controla a solubilidade das proteínas e a composição do agregado, e o ambiente físico (tensão de cisalhamento, configuração do reator e tipo de operação escolhida) é responsável pelas propriedades físicas do agregado como tamanho e estrutura.

As configurações básicas usadas para a precipitação de proteínas são processo descontínuo, processo contínuo CSTR ou PFR.

Processos com tempos de nucleação elevados geralmente são descontínuos, projetados de forma a evitar efeitos de desnaturação e co-precipitação.

Em um processo contínuo, o tempo de retenção da mistura deve ser curto, e o rendimento varia com as condições da mistura, apresentando vantagens em mistura, transferência de calor, monitoração e controle. Para evitar problemas de precipitação não-uniforme, incorpora-se uma zona de turbulência ao reator.

A precipitação é uma operação que, no *scale-up*, apresenta perda no rendimento e na qualidade final do produto devido a problemas relacionados a ineficiência da mistura e a transferência de calor em volumes grandes de trabalho, sobretudo no processo descontínuo.

Na precipitação por ação de solventes, o parâmetro crítico na ampliação de escala do processo é o controle da transferência de calor, enquanto no *salting-out* as características (densidade e tamanho constante) do precipitado são o fator fundamental para o *scale-up*, sendo recomendável manter constante a potencia transmitida por unidade de volume durante a agitação e o tempo de processo.

2.3.1.2) Métodos de Separação por Membranas

→ Microfiltração

Similar a uma filtração clássica que utiliza membranas sintéticas como barreira seletiva e, em face das características da membrana, dispensa auxiliares de filtração, necessita de uma força motriz baseada na diferença de pressão ($\Delta P = 0,5 - 2$ bar). A microfiltração emprega membranas microporosas, isotrópicas ou anisotrópicas, com tamanho de poros de 0,05 a 5 μm , que retém as partículas em suspensão (M.M. > 500 kDa), sendo os compostos solúveis totalmente permeáveis independentemente da suas massas molares.

Uma das aplicações é a filtração estéril, a esterilização de mostos e do ar em biorreatores, clarificação de vinhos e purificação da água para lavagem de circuitos impressos.

→ Ultrafiltração

Emprega membranas anisotrópicas e uma força motriz baseada na diferença de pressão ($\Delta P = 1 - 7$ bar). Estas possuem poros com diâmetros variando entre 1 e 500 nm sendo, por isso, capaz de reter macromoléculas (M.M. > 5 kDa) em solução. Todos os solutos de baixa massa molar são permeáveis. Enquanto as membranas de microfiltração são caracterizadas, comercialmente, pelo tamanho médio de seus poros, as de ultrafiltração utilizam o *cut-off* (massa molar limite), sendo o “limite de retenção” definido como o valor da massa molar de uma macromolécula rejeitada em 95% pela membrana.

A ultrafiltração vem sendo utilizada nas etapas de *downstream* de processos biotecnológicos, tanto na purificação quanto na concentração de proteínas e enzimas; na pré-concentração de leite e na recuperação de proteínas de soro de queijo, na indústria de laticínios; e na recuperação de pigmentos nas indústrias automobilística e têxtil.

→ Nanofiltração

Utiliza membranas anisotrópicas cuja massa molar de corte (*cut-off*) está entre 0,3 e 2 kDa, apresentando características intermediárias entre a ultrafiltração e a osmose inversa, necessitando de uma pressão operacional entre 5 e 25 bar, sendo o seu permeado apenas água e sais. Suas principais aplicações são a obtenção de água potável a partir de águas superficiais e a concentração de antibióticos de mostos fermentados e microfiltrados.

→ Osmose inversa

Utiliza membranas anisotrópicas densas (integrais ou compostas), por isso as membranas são permeáveis apenas ao solvente. As pressões de operação são bastante elevadas, em torno de 40 a 80 bar, pois têm que ser superiores à pressão osmótica da solução contendo solutos de baixa massa molar.

A dessalinização de águas marinhas e salobras, a concentração de sucos de frutas e de antibióticos são aplicações importantes da osmose inversa.

→ Diafiltração

É um modo alternativo de operar os sistemas de separação por membranas, que consiste em se adicionar continuamente, na solução a ser processada, solvente puro ou

solução tampão, em vazão equivalente à vazão de permeado que sai do sistema, sendo considerada um processo de “purificação” a volume constante.

A diafiltração é empregada quando se deseja eliminar componentes de menor tamanho ou de menor massa molar, de uma dada mistura.



Figura 22 - Ultrafiltração, Microfiltração e Osmose Inversa em escala industrial

→ Scale-up

As principais características dos Processos de Separação por Membranas são a economia de energia, já que promovem a separação sem mudança de fase; especificidade; separação de termolábeis; e simplicidade de operação e de *scale-up*, pois os sistemas são modulares e os dados para o dimensionamento de uma planta podem ser obtidos a partir de equipamentos pilotos.

Outras vantagens deste tipo de separação é uma operação contínua e em regime estabelecido de transferência de massa, mas quando as membranas são empregadas para concentrar ou fracionar soluções, os fluxos permeados são bem menores do que o previsto devido a problemas de polarização de concentração, que promove uma queda acentuada no fluxo, e *fouling*, que provoca uma queda lenta e constante até estabilização do fluxo.

O *fouling* é o conjunto de alterações na membrana, como adsorção, entupimento de poros e depósito na superfície, provocadas pelas espécies presentes na solução. Este tende a ser minimizado quando a operação ocorre a baixa pressão, gerando uma membrana menos polarizada e fluxo permeado se estabilizando mais rapidamente.

A limpeza da membrana é algo importante já que, com o tempo, a queda do fluxo permeado é inevitável. A mais comum é a retrolavagem, que é a inversão, por um intervalo curto de tempo, do sentido do fluxo permeado, sendo necessárias lavagens ácida e alcalina para uma melhor limpeza, e depois de vários ciclos, a substituição da membrana.

2.3.2) Hidrolisados

Hidrolisados enzimáticos protéicos tem sido relatados como fontes adequadas de proteína pra nutrição humana devido a sua absorção gastrintestinal, especialmente di- e tripeptídeos, que são mais efetivos do que a de proteínas intactas ou aminoácidos livres, pois são menos hipertônicos e mais estáveis e solúveis em água do que os aminoácidos livres (Clemente, 2000 (b)). Por isso, hidrolisados protéicos tem sido largamente utilizados em formulações específicas, para melhorar propriedades funcionais e nutricionais, que incluem aplicações clínicas, como produtos geriátricos, suplementos energéticos, controle de peso, dietas terapêuticas ou entéricas, e também em fórmulas infantis hipoalergênicas, já que possuem atividade antigênica reduzida. (Clemente et al, 1999).

Esta hidrólise protéica também pode ser feita por ácido e álcalis, tendendo a ser um processo de difícil controle, com geração de produtos com qualidade nutricional reduzida, podendo destruir L-aminoácidos, produzir D-aminoácidos e formar substâncias tóxicas como lisino-alanina. A proteína hidrolisada, produzida principalmente usando-se ácido clorídrico, é um ingrediente comum para produtos como sopas, cubos para caldos e molhos salgados.

A hidrólise enzimática é desenvolvida sob condições suaves de pH (6 – 8) e temperatura (40 – 60°C), evitando os extremos usuais requeridos por tratamentos químicos e físicos e minimizando reações laterais. A composição total de aminoácidos do hidrolisado enzimático é similar ao material inicial. Além disso, hidrolisado protéico mostra as vantagens tecnológicas como solubilidade melhorada, estabilidade térmica e relativa alta resistência à precipitação por muitos agentes, como pH ou íons metálicos.

Para desenvolver hidrolisados protéicos comerciais com características físicas, químicas e nutricionais definidas, muitos fatores diferentes devem ser levados em conta: escolha de fonte protéica adequada, proteases, e o desenvolvimento de processos pós-hidrólise.

As fontes protéicas mais comuns são a caseína, o soro de leite, a carne e a gelatina, mas recentemente as proteínas vegetais, oriundas da soja, grão-de-bico e ervilhas também tem tido aplicação comercial, como proteína isoelétrica solúvel de soja, emulsificadores de proteína de soja e glúten de trigo. (Clemente, 2000 (b)).

As proteínas vegetais precisam ser processadas antes da hidrólise enzimática. O alto conteúdo protéico e baixo nível de polifenóis, açúcares e inibidores de

protease facilitam o controle do processo enzimático, aumentando a efetividade das proteases e o rendimento do processo. A principal desvantagem dos hidrolisados protéicos vegetais em relação à caseína e ao soro é o baixo nível de aminoácidos essenciais (por exemplo, aminoácidos sulfurados nos hidrolisados derivados de legumes), que devem ser adicionados à formulação para alcançar o perfil de aminoácidos padrão necessário.

Os processos de pós-hidrólise mais comuns são relacionados ao controle do tamanho molecular, pelo uso de ultrafiltração; a eliminação/redução do amargor dos hidrolisados, por adsorção em resinas de troca iônica ou em carvão ativado dos aminoácidos hidrofóbicos ou pelo uso de exopeptidases para um aumento da extensão da hidrólise; e a remoção de aminoácidos específicos, como fenilalanina, pelo uso de enzimas, nesse caso, a fenilalanina amônia liase.

Tabela 9 - Propriedades funcionais de hidrolisados protéicos e suas aplicações

Propriedades	Aplicações
Emulsificação	Carnes, molhos de salada
Hidratação	Massas, carnes
Viscosidade	Bebidas e massas
Gelificação	Salsichas, sobremesas de geléia, queijos
Espumabilidade	Coberturas, merengues, pães-de-ló
Ligação coesa	Produtos texturizados, massa
Textura	Alimentos texturizados
Solubilidade	Bebidas

Scale-up (D’Alvise et al, 2000)

As principais desvantagens da batelada convencional de hidrólise enzimática são a utilização de uma grande quantidade de enzimas, a produção eventual de aromas (off-flavours) e amargor no caso de hidrólise excessiva, os baixos rendimentos, e baixa produtividade devido pela reação incompleta inibida pelo produto, a composição não-uniforme do produto final que pode conter várias frações de pesos moleculares variados e a necessidade de inativar as enzimas no final da reação.

Para superar muito destes problemas, reatores enzimáticos de ultrafiltração são utilizados, que permitem reuso dos biocatalisadores, controle do tamanho molecular do

hidrolisado pela membrana apropriada, maior produtividade devido à remoção simultânea de produtos de baixa massa molar e inibidores durante a reação.

Há uma falta de dados obtidos de unidades de ultrafiltração de larga escala pelo uso de sistemas de interesse comercial comparados ao desenvolvimento de estudos feitos em escala de bancada usando modelos de sistemas protéicos.

A perda de atividade enzimática pode ocorrer no reator de ultrafiltração por dois motivos: parâmetros físico-químicos (solubilidade do substrato, parâmetros cinéticos da preparação enzimática: pH, temperatura, concentração de enzima, concentração de substrato) e hidrodinâmicos (pressão transmembranar, taxa de fluxo, vazamento pela membrana, desnaturação mecânica da enzima devido à circulação no reator). Sabendo as variações do fluxo de permeado e da resistência hidráulica como uma função do tempo e da concentração protéica, é possível estimar a importância dos efeitos de adsorção no desempenho durante as corridas de ultrafiltração quando comparados com o efeito das condições operacionais.

CAPÍTULO 3 – ANÁLISE DE MERCADO

3.1) Castanha-do-Pará

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de castanha-do-pará, menor apenas que a Bolívia, sendo que se pode observar no gráfico abaixo, uma queda na produção em 1996, devido às maiores barreiras impostas a castanha, como a diminuição do nível de tolerância a aflatoxina para 5 ppb, e ao maior desmatamento da Floresta Amazônica, devido a substituição por pastos.

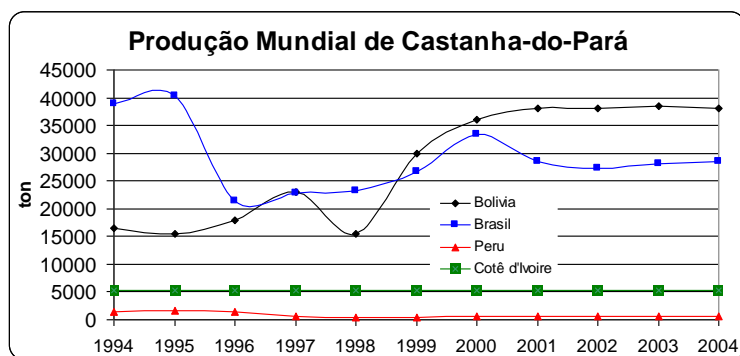


Figura 23 - Produção mundial de castanha-do-pará entre 1994 e 2004 (FAOSTAT, <http://www.fao.org/>)

O Brasil e a Bolívia são responsáveis por 65% da quantidade de exportações da castanha-do-pará, enquanto Reino Unido, Estados Unidos e Alemanha juntos somam 70% do total das importações.

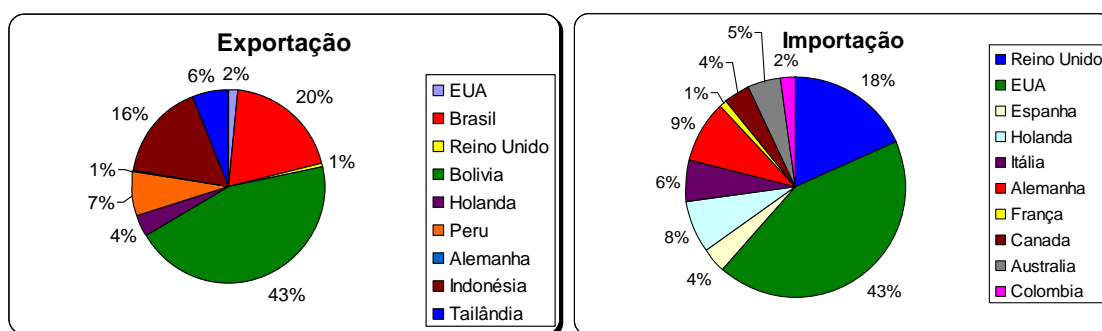


Figura 24 - Balança de Importações e Exportações Mundiais de Castanha-do-Pará referente a 2003 (FAOSTAT, <http://www.fao.org/>)

As exportações brasileiras de castanha-do-pará demonstram oscilações nestes últimos dez anos, mas a partir de 2004 vêm obtendo um crescimento expressivo,

duplicando o total de 2003. Dados mais recentes (setembro/2005) demonstram que as exportações de 2005 já superam o total de 2004, totalizando até agora 15800 toneladas exportadas. O preço de 1 kg de castanha com casca está em torno de US\$ 1, e sem casca, em torno de US\$ 5.

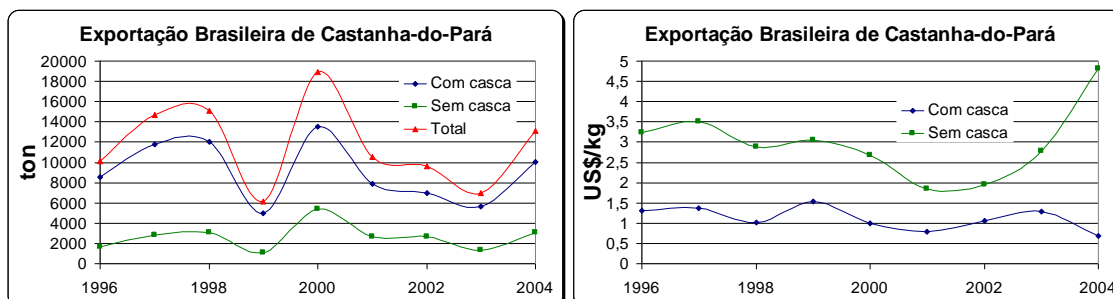


Figura 25 – Quadro de Exportação Brasileira de Castanha-do-Pará (MDIC, Aliceweb; <http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/>)

A produção brasileira está concentrada na Região Norte, com 98,6%, em 2003, e distribuídos em Amazonas, 37%; Acre, 23%; Pará, 22%; Rondônia, 14% e Amapá, 4%, sendo que 60% desta produção estão destinados à comercialização *in natura*, onde 90% é exportado.

No mercado interno, 40% das castanhas comercializadas *in natura* são utilizadas nas indústrias de chocolate, confeitos, bolos, padarias e restaurantes.

Do total de castanhas produzido, de 10 a 15% é quebrado e perde 60% do seu valor, sendo então utilizados nas indústrias de extração de óleo. A prensagem das amêndoas quebradas fornece 45% de óleo e 55% de torta de castanha. Assim, considerando que a partir de 1998 os dados de produção de castanha-do-pará tenham se mantido estáveis, o Brasil produz de 2000 a 2500 toneladas de torta de castanha anualmente. A torta de castanha-do-pará geralmente é utilizada para fabricação de biscoitos e farinhas, que utilizam 15% de torta de castanha em sua composição. Considerando que cada quilo de biscoito ou farinha vale, em média, R\$ 3,75, isso significa que cada quilo de torta vale R\$ 0,56 ou US\$ 0,23. (Vilhena, 2004).

3.2) Produtos Protéicos

Como não há nenhum dado sobre comercialização de produtos protéicos derivados da castanha-do-pará, foi feita uma estimativa a partir dos dados de importação e exportação de concentrados protéicos em geral e de concentrados de soja, com teor de 90% de proteína (MDIC, Aliceweb, <http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/>)

Foi observado um crescimento nas quantidades exportadas de concentrados protéicos em geral nos últimos anos, com uma certa estagnação na exportação do concentrado de soja. Os preços têm se mantido constantes a 0,6 e 2,2 US\$/kg, respectivamente, tendo como principais países compradores a África do Sul, Chile, Argentina, Holanda e Rússia.

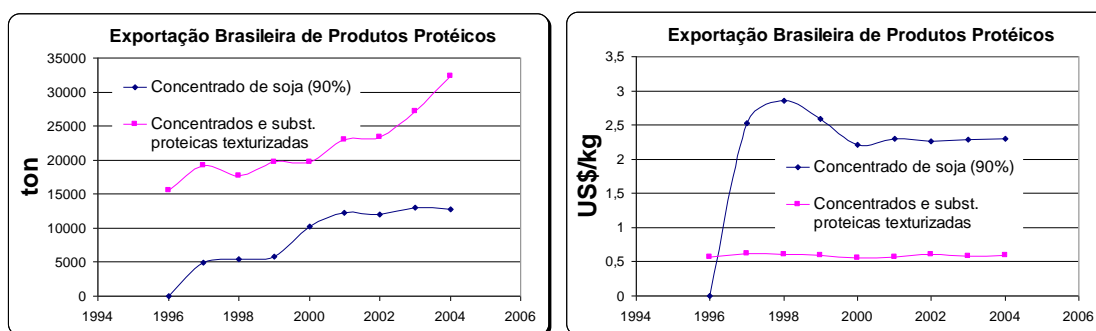


Figura 26 - Quadro de Exportação Brasileira de Produtos Protéicos (MDIC, Aliceweb; <http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/>)

Os dados mostram uma diminuição nas quantidades importadas de concentrados protéicos, e de concentrado de soja, demonstrando que a produção nacional já consegue suprir o mercado interno e externo. Os preços foram mantidos em 1,70 US\$/kg, tendo como principais países vendedores Estados Unidos e Bélgica.

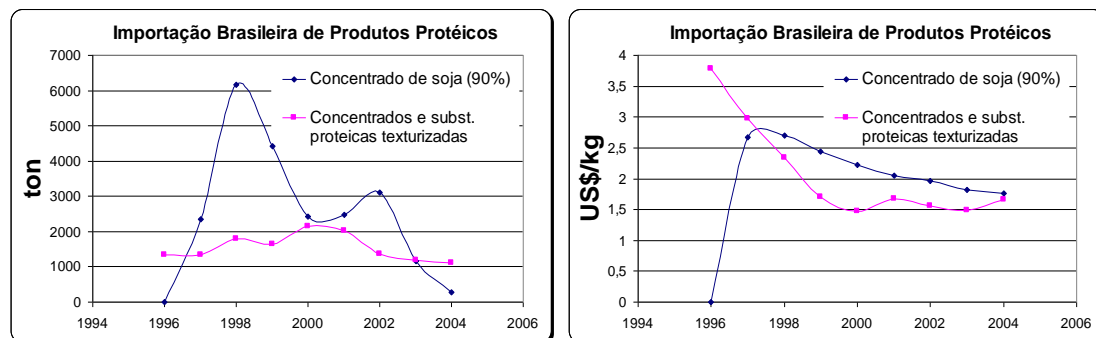


Figura 27 - Quadro de Importação Brasileira de Produtos Protéicos (MDIC, Aliceweb; <http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/>)

Com estes dados, e considerando que a castanha-do-pará apresenta um balanço de aminoácidos essenciais superiores ao da soja; que os produtos protéicos derivados da castanha-do-pará são ricos em aminoácidos sulfurados e selênio; e por ser originária da floresta amazônica - o que confere uma característica exótica aos seus produtos - pode-se imaginar que os derivados protéicos da castanha-do-pará podem alcançar preços de venda superiores aos do concentrado de soja.

CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO ANALÍTICO

4.1) Caracterização da Castanha-do-Pará

4.1.1) Extração do óleo:

Materiais e aparelhos:

- ✓ Manta de aquecimento e regulador de voltagem
- ✓ Soxhlet e cartuchos de extração
- ✓ Balão de destilação redondo de 500 mL
- ✓ Coluna de refluxo
- ✓ 300 mL de n-hexano (Vetec)
- ✓ Rotovaporador

Determinação:

Em um cartucho, foram colocados 5 g de castanha, fechado, de modo que fique na mesma altura do loop do Soxhlet. Ao balão de destilação, seco e pesado, são adicionados 300 mL de n-hexano. Em seguida a aparelhagem Soxhlet e a coluna de refluxo são acopladas, aquecendo o balão a 70°C, por 4 horas, o que resulta em 10 ciclos de extração.

Ao terminar a extração, foi utilizado o rotovaporador para extrair o solvente do óleo, sendo depois o balão resfriado e pesado para a determinação da quantidade de óleo extraída da semente.

4.1.2) Dosagem de proteína total

A massa de castanha desengordurada foi seca a 60°C na estufa, e encaminhada ao Laboratório de Tecnologia Ambiental para ser analisada pelo Método de Micro-Kjeldahl.

4.1.3) Dosagem de carboidratos solúveis

A 10 g de massa desengordurada de castanha foram adicionadas 100 mL de água, já a 80°C, mantendo agitação constante por 15 minutos, aquecendo-se depois a 100°C por 5 minutos. A solução foi filtrada, e dois métodos foram realizados para comparação.

- a) Dosagem do açúcar sobrenadante foi pelo Método do Fenol-Sulfúrico

- b) Determinação de carboidratos solúveis pela dosagem por diferença de massas inicial e final (após a extração aquosa).

4.1.4) Dosagem de umidade

A massa triturada de castanha foi encaminhada à empresa ASSESSA para ser analisada quanto à umidade presente por gravimetria.

Nesse ensaio, 2 g de amostra são colocadas em um cadinho previamente seco e pesado (m_1), secas em uma estufa a 103°C, durante 3 horas, até o peso constante. A umidade é determinada pela fórmula:

$$\%Umidade = \left(1 - \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) \times 100$$

$m_2 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra
 $m_3 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra seca

4.1.5) Dosagem de cinzas

A massa triturada de castanha foi encaminhada à empresa ASSESSA para ser analisada quanto às cinzas presentes por calcinação.

Nesse ensaio, 2 g de amostra, já seca, são colocadas em um cadinho, previamente seco e pesado (m_1), e calcinadas em uma mufla a 550°C, durante 3 horas, até o peso continuar constante, com as cinzas já brancas. . As cinzas são determinadas pela fórmula:

$$\%Cinzas = \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) \times 100$$

$m_2 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra seca
 $m_3 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra calcinada

4.2) Métodos Analíticos

4.2.1) Método de Lowry (Quantificação do teor de proteínas)

Reagentes:

- ✓ Reagente A → Adicionar 1 mL de CuSO₄ 1% (p/v) e 1 mL de solução de tartarato duplo de Na e K 2% (p/V) a um balão volumétrico de 100 mL, e completar com solução de Na₂CO₃ 2% em NaOH 0,1M.
- ✓ Reagente B → Solução aquosa 50% de Folin-Ciocalteu.

Procedimento:

Foi adicionado 2 mL de reagente A à 500 µL de amostra, deixando por 10 minutos em espera. Depois, foi adicionado 200 µL do reagente B, marcando exatos 30 minutos, até a leitura em espectrofotômetro UV-VIS Hach, em absorbância de 660 nm.

Foi elaborada a curva-padrão com uma solução de BSA 0,1 mg/mL, em concentrações de 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10 mg/mL, e utilizando como branco a água destilada em substituição à amostra.

4.2.2) Sólidos Totais (Gravimetria)

Foi retirada uma alíquota de 2 mL da fase aquosa, ao final da extração enzimática. A amostra foi adicionada a um cadinho, previamente seco e pesado (m_1), e seca em uma estufa a 103°C, durante 24 horas. . O teor de sólidos totais na amostra é determinada pela fórmula:

$$\% \text{Sólidos Totais} = \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) \times 100$$

$m_2 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra
 $m_3 \rightarrow$ peso do cadinho + amostra seca

4.2.3) Método Somogyi (Açúcares Redutores Totais)

Reagentes:

- ✓ Reagente A: Dissolver 16 g de NaHCO₃, 12 g de tartarato duplo de sódio e potássio, 24 g de Na₂CO₃ anidro e 114 g de Na₂SO₄ anidro em água e dilui a 800 mL de água destilada.

- ✓ Reagente B: Dissolver 36 g de Na_2SO_4 anidro em 100 mL de uma solução de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a 4% (p/V) e completar o volume a 200 mL com água destilada.
- ✓ Reagente C: Dissolver 25 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ em 450 mL de água destilada. Adicionar 25 mL de ácido sulfúrico concentrado e misturar, juntando uma solução de 3 g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 25 mL de água. Homogeneizar e deixar na estufa a 37°C por 2 dias. Manter em frasco escuro.

Procedimento:

Foi adicionado 1 mL de amostra (solução diluída) em tubo de Folin-Wu, e depois 1 mL da mistura 4:1 das soluções A e B de Somogyi, respectivamente. Em seguida, foi aquecido em banho-maria (100°C), por 10 minutos exatos, resfriado, e adicionado 2 mL da solução C com intensa agitação, até total desprendimento gasoso e completado a 25 mL com água destilada.

A mistura reacional foi bem misturada para homogeneizar a cor e ler a absorbância em 540 nm.

Foi elaborada a curva-padrão com uma solução de glicose 1 mg/mL, em concentrações de 20, 60, 100, 140, 180, 200 $\mu\text{g/mL}$, utilizando como branco a água destilada.

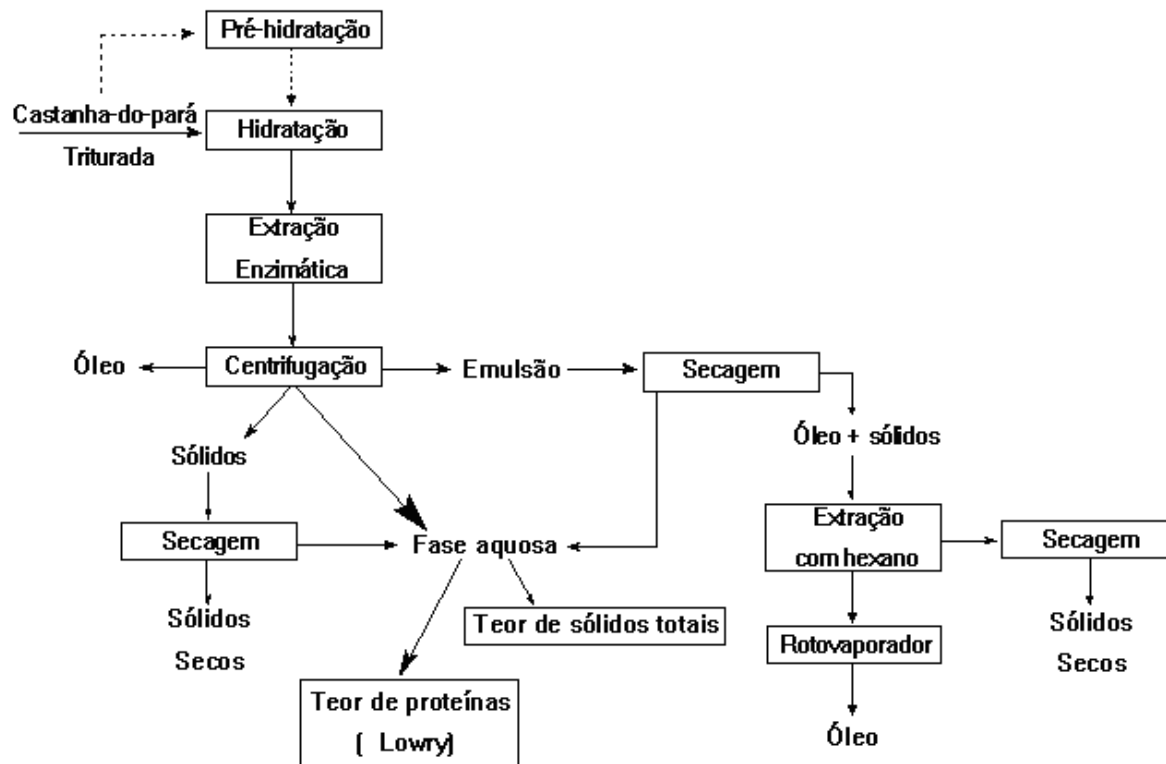
4.2.4) Determinação de Atividade Enzimática (Bromelina)

A enzima bromelina foi extraída da polpa do abacaxi, por precipitação com álcool, que foi adicionado duas vezes e mantidos 24 horas no freezer, gerando um precipitado inicial impuro amarelado e um precipitado final branco, que foi utilizado na reação enzimática.

Foram pesados 100 mg da enzima, que foram dissolvidos em 10 mL de tampão fosfato, a pH 6, mantendo 40°C . Em seguida foram adicionados 5 mL desta solução a 45 mL de uma solução aquosa de caseína 2% p/v, retirando-se imediatamente uma alíquota de 250 μL e adicionando 500 μL de uma solução de TCA 9,8% p/v (ácido tricloroacético). Após esperar por 10 minutos e centrifugar, foi retirada uma alíquota do sobrenadante, para determinação de proteínas pelo método de Lowry, utilizando-se como padrão a tirosina. O tempo total de reação foi de duas horas, retirando alíquotas a cada quinze minutos.

CAPÍTULO 5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1) Rota de Processo pelo Método Enzimático



5.2) Rotas

Tabela 10 - Quadro resumido das Rotas Utilizadas

Rotas	Viscozyme (pH 6)	AMG (pH 6)	Neutrased (pH 7)	Extras
1	1%, 1 h, 45°C	-	0,5%, 1 h, 45°C	-
2	1%, 1 h, 45°C	0,5%, 1 h, 60°C	0,5%, 1 h, 60°C	Torta
3	1%, 1 h, 50°C	0,5%, 1 h, 60°C	0,5%, 1 h, 60°C	Autoclave 0,5 h; 0,5 atm
4	1%, 1 h, 50°C	0,5%, 1 h, 60°C	0,5%, 1 h, 60°C	Autoclave, Hidratação (sol. 2,5% PEG 4000)
5	1%, 1 h, 50°C	0,5%, 1 h, 60°C	0,5%, 1 h, 60°C	Autoclave; a. Fase líquida (sat. NaCl, 2 h, 80°C); b. Emulsão (variação de pH)
Atividade Enzimática	100 FBG/g	300 AGU/mL	1,5 AU/g	-
Tipos de Enzimas	Celulases, arabinases e xilanases	Amilo- glicosidase	Protease	-

5.2.1) Rota 1

Esse ensaio foi conduzido baseado nas condições ótimas de processamento do artigo de SANT'ANNA *et al.*, e também com algumas adaptações feitas devido ao fato da castanha apresentar uma rede celulósica e amilácea mais densa que a polpa do coco.

Foi utilizada uma relação castanha/água de 1/5, (20 g de castanha em 100 mL de água) com uma fase hidratação de 5 minutos, a 45°C, e adição de 1 mL de Viscozyme, por 1 hora, e depois, mais 0,5 g de Neutrased, e 600 µL de NaOH 1 M, até ser verificado pH 7, sob agitação constante, durante 1 hora e na mesma temperatura de 45°C.

O material foi centrifugado, e seguiu as análises e separação das fases, conforme demonstrado no fluxograma acima.

5.2.2) Rota 2

Esse ensaio foi conduzido, utilizando uma torta parcialmente desengordurada em laboratório, manualmente e por hexano, simulando a torta obtida industrialmente, e também baseado nas condições de processamento da patente da página 20 do livro **Vegetable Protein Processing**.

Foi utilizada uma relação castanha/água de 1/5, (10 g de castanha em 50 mL de água) com uma fase hidratação de 5 minutos, a 45°C, e adição de 500 µL de Viscozyme, por 1 hora, e depois, mais 250 µL de AMG, por 1 hora, a 60°C, e ao final, mais 0,25 g de Neutrase, e 1,0 mL de NaOH 0,1 M, até ser verificado pH 7, sob agitação constante, durante 1 hora e na mesma temperatura de 60°C.

O material foi centrifugado, e seguiu as análises e separação das fases, conforme demonstrado no fluxograma acima.

5.2.3) Rota 3

Diferentemente dos outros dos ensaios, nesta rota foi realizada uma pré-hidratação da massa de castanha-do-pará, com intuito de melhorar ou facilitar a atuação das enzimas sobre as redes celulósicas e amiláceas, hidrolisando as proteínas de forma mais eficaz.

A pré-hidratação consistiu em colocar em um autoclave, a 0,5 atm e 111°C, um erlenmeyer com 20 g de castanha e 30 mL de água, durante 30 minutos.

Depois, foram adicionados 70 mL de água, a 50°C, sob agitação constante, durante 15 minutos. A seguir foi adicionado 1 mL de Viscozyme, mantendo agitação constante, durante 1 hora, a 50°C. A seguir, foram adicionados 500 µL de enzima AMG, também sob agitação constante, por 1 hora, a 60°C, e finalmente, neutralizando (pH 7) com 1 mL NaOH 1 M, e adicionando 0,5 g de Neutrase, por 1 hora, a 60°C.

O material foi centrifugado, e seguiu as análises e separação das fases, conforme demonstrado no fluxograma acima.

5.2.4) Rota 4

Neste ensaio, a Rota 3 foi repetida, apenas alterando na fase de hidratação, onde foram adicionados 70 mL de uma solução aquosa 2,5% de PEG 4000, com objetivo de evitar ou diminuir a formação da emulsão.

5.2.5) Rota 5

Neste ensaio, a Rota 3 foi repetida, sendo que após a centrifugação, separada a fase líquida dos sólidos, foram adicionados 30 g de NaCl à fase líquida, sob agitação constante, por 2 horas, a 80°C, com objetivo de evitar ou diminuir a formação da emulsão.

Depois de novamente centrifugada, a emulsão formada, com pH 6, foi dividida em 2, sendo uma parte tratada com ácido sulfúrico até pH 1, e a outra parte tratada com NaOH até pH 10, sendo adicionadas de água destilada em uma relação emulsão/água de 1/10.

5.2.6) Branco

Neste ensaio, foi repetido a Rota 3, mas sem a adição de enzimas, de forma a avaliar a eficiência das enzimas na extração de óleo e proteína da torta de castanha-do-pará..

5.3) Otimização da Rota Enzimática

Tomando-se a rota 3 como base dos experimentos, foi feita a otimização de alguns parâmetros que podem influenciar o processo, como o tempo de atuação de cada enzima, os tipos de protease e a quantidade de cada enzima.

O tempo de atuação e a quantidade de cada enzima ótimos são justamente o mínimo de tempo e de quantidade necessários para que a hidrólise se mantenha constante e máxima, pois quanto menor o tempo, menos custos no processo.

Como cada protease tem uma estratégia de catálise diferente, cada tipo deve ser testado para verificar qual gera uma maior hidrólise das proteínas.

Tabela 11 - Condições ótimas das proteases utilizadas

	pH	T (°C)	Atividade Enzimática
Neutrase <i>Novozymes</i>	5,5 - 7,5	45 - 55	1,5 AU/g
Alcalase <i>Novozymes</i>	7 - 10	55 - 65	2,0 AU/g
Bromelina	5 - 8	45 - 60	12,8 BU/g
Renina (Ha-La)*	4 - 6	40 - 55	1 : 3000 (poder coagulante)

*enzima fabricada pelo Chr. Hansen, as demais são de origem da Novozymes

Para otimizar o tempo de atuação, foi feito o acompanhamento cinético do processo, onde alíquotas foram retiradas em intervalos periódicos de 15 minutos, e sendo avaliadas quanto ao teor de proteínas (Lowry), de açúcares totais (Somogyi) e de sólidos totais (gravimetria). As enzimas foram sendo inativadas que as alíquotas eram retirada. Foram utilizadas 2 tipos de protease nesse caso, Neutrase e Alcalase.

O produto final também foi caracterizado quanto à composição de óleo, teor de sólidos, percentual de fase aquosa e emulsão formada.

Outros ensaios foram realizados variando a concentração de cada enzima, sendo de 0,2; 0,5 e 1% para a enzima Viscozyme e 0,1; 0,3 e 0,5% para as enzimas AMG e protease.

5.4) Processo Integrado: Produção dos Derivados Protéicos

Com todas as condições ótimas do processo já obtidas, foi feita a integração do processo para produção de concentrados e hidrolisados protéicos, realizado com quantidades maiores de torta de castanha.

Nesta etapa, foi feito o processo de hidrólise enzimática em etapas:

1. Autoclave e hidratação da torta de castanha-do-pará;
2. Hidrólise enzimática das cadeias polissacarídicas presentes na torta;
3. Separação da fração protéica de albumina e do óleo;
4. Adição de solução salina 0,5M a torta residual, 1 hora de agitação e separação da fração protéica de globulinas;
5. Hidrólise enzimática da torta residual e separação do hidrolisado protéico.

Alguns subprodutos formados como a solução rica em oligossacarídeos e glicose e a torta exaurida, também podem ser reaproveitadas tanto no processo, onde uma fração destes poderia ser reciclada na matéria-prima, quanto como produto, onde a solução poderia entrar em formulações de meios de cultivo e a torta exaurida como ração animal.

A separação das frações protéicas foi realizadas pela adição de solução de HCl e mudança para pH 3 (precipitação isoelétrica).

CAPÍTULO 6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1) Caracterização da Castanha-do-Pará

Os resultados das análises foram obtidos com média de três repetições, e estão representados na tabela a seguir, sendo expressa em g/ 100 g de castanha, conforme a metodologia descrita:

Tabela 12 - Caracterização da Castanha

	castanha utilizada	literatura
Lipídeos	64,2	60 – 70
Proteína Total (%N x 5,46)	16,7	15 – 20
Carboidratos Solúveis	11,7	7 – 13
Umidade	3,14	4 – 5
Cinzas	4,26*	4 – 5

* O processo de dosagem de cinzas não foi feito, sendo que o valor foi obtido através da diferença de 100.

Em relação aos métodos para dosagem de carboidratos solúveis, foram obtidos resultados próximos, com um erro relativo de 10%, entre o método gravimétrico e de Fenol-Sulfúrico.

6.2) Ensaio de Processo Enzimático

No processo de tratamento enzimático, várias rotas foram testadas, seguindo modelos descritos na literatura, adaptados a estrutura polissacarídica mais densa da castanha-do-pará, com o objetivo de avaliar qual forneceria resultados ótimos ao processo, dado seu custo e seu benefício.

Para tal avaliação, vários parâmetros foram estabelecidos como base de comparação aos resultados ótimos, entre eles:

- ✓ **Inexistência de emulsão**, pois a emulsão gera perdas de produto protéico e óleo e aumenta o custo operacional para separação de mais uma fase;
- ✓ **Maior extração de óleo**;
- ✓ **Maior hidrólise das proteínas**, que estão presentes na fase aquosa;

- ✓ **Alto teor de sólidos totais na fase aquosa**, que facilitaria uma etapa de concentração posterior.

Análise das tabelas:

Tabela 13 - Após centrifugação:

	Branco	Rota 1	Rota 2	Rota 3	Rota 4	Rota 5
Óleo	3,88	6,81	0	5,53	8,22	4,64
Água	56,98	37,01	45,81	72,25	69,79	61,07
Emulsão	10,07	29,18	5,56	12,34	8,46	15,43
Sólidos	29,07	27,00	48,63	9,88	13,53	18,86

*expressa em g/100g de mistura reacional

Tabela 14 - Composição da emulsão:

Massa (g)	Branco	Rota 1	Rota 2	Rota 3	Rota 4	Rota 5 (pH =1)	Rota 5 (pH =10)
Óleo	30,55	10,28	19,28	48,36	24,90	22,03	2,80
Água	57,20	83,87	80,72	44,84	59,12	35,84	66,45
Sólidos	12,25	5,85	-	6,80	15,98	42,13	30,75

*expressa em g/100g de mistura reacional

Foi observado, como é demonstrado na Tabela 1, que o tratamento enzimático aumenta a extração de óleo, variando de 32,0% até 98,8% de aumento, quando comparado ao branco. A Rota 2 não foi comparada quanto ao óleo extraído, pois a torta utilizada já havia sido desengordurada.

Em todas as rotas foi notada a presença de emulsão, em proporções semelhantes, mostrado pela Tabela 1, e também uma certa invariância na sua composição, descrita pela Tabela 2. Com isso, foi percebido que a adição de PEG 4000, na Rota 4, e de NaCl, juntamente com as variações de pH, na Rota 5, não obtiveram os resultados pretendidos.

A menor quantidade de sólidos (redução de 100% comparado ao Branco) e o aumento de 18%, comparado ao branco, na quantidade de fase aquosa na Rota 3 demonstra uma hidrólise mais eficiente neste ensaio.

Tabela 15 - Quantificação da fase aquosa, após centrifugação:

	% Proteína (Lowry)	% Sólidos totais	% Proteína /% sólidos totais
Branco	0,176	2,26	7,79
Rota 1	0,230	4,76	4,83
Rota 2	0,316	6,26	5,05
Rota 3	0,434	5,59	7,76
Rota 4	0,512	6,99	7,32
Rota 5	0,138	31,03	0,45

* expressa em g/100 g de fase aquosa

Por intermédio da Tabela 3, foi observado elevado grau de hidrólise, comparativamente ao branco, sendo a Rota 3 e 4 consideradas as de melhores rendimentos, visto que o objetivo principal desse projeto é obter um concentrado protéico para a indústria de cosméticos. Sendo que a rota 3 foi considerada a melhor, não só pela maior concentração de proteínas em relação aos sólidos totais, mas também por evitar a utilização de reagentes (PEG), o que aumentaria o custo do processo.

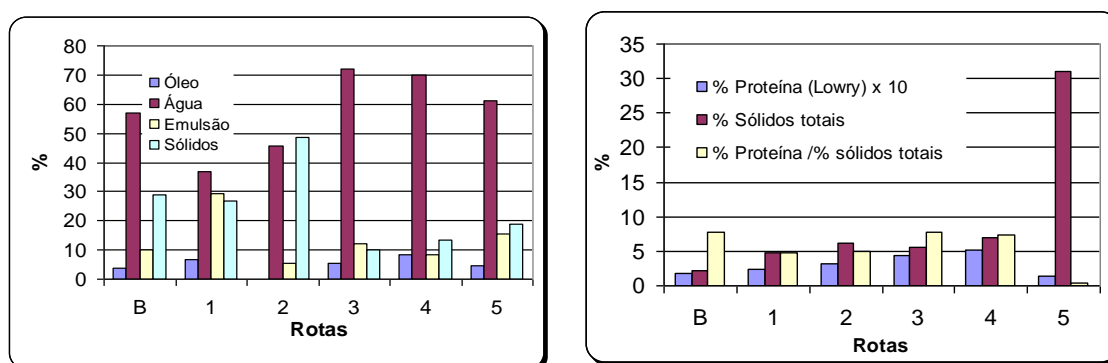


Figura 28 - Comparação das Rotas

Nos gráficos acima, foi feita uma comparação resumida entre as rotas utilizadas, acrescentando no gráfico abaixo, os dados de quantificação de proteínas nas tortas e emulsões secas pelo método de micro-Kjeldahl, onde é confirmado a rota 3 como a melhor pelo fato de resultar em baixo de teor de proteínas tanto na torta quanto na emulsão formada.

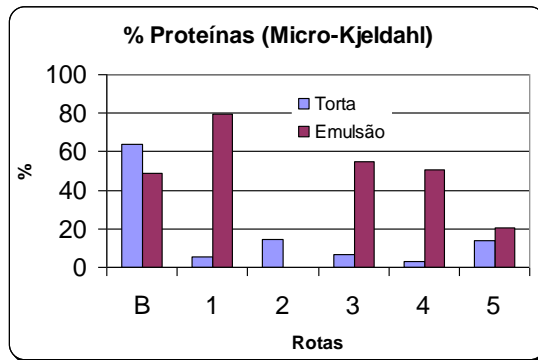


Figura 29 - Quantificação de Proteínas pelo Método de Micro-Kjeldahl

6.3) Otimização da Rota Enzimática

O acompanhamento cinético das reações enzimáticas foi descrito nos quatro gráficos abaixo, onde foram duas proteases diferentes, a Neutrase e Alcalase.

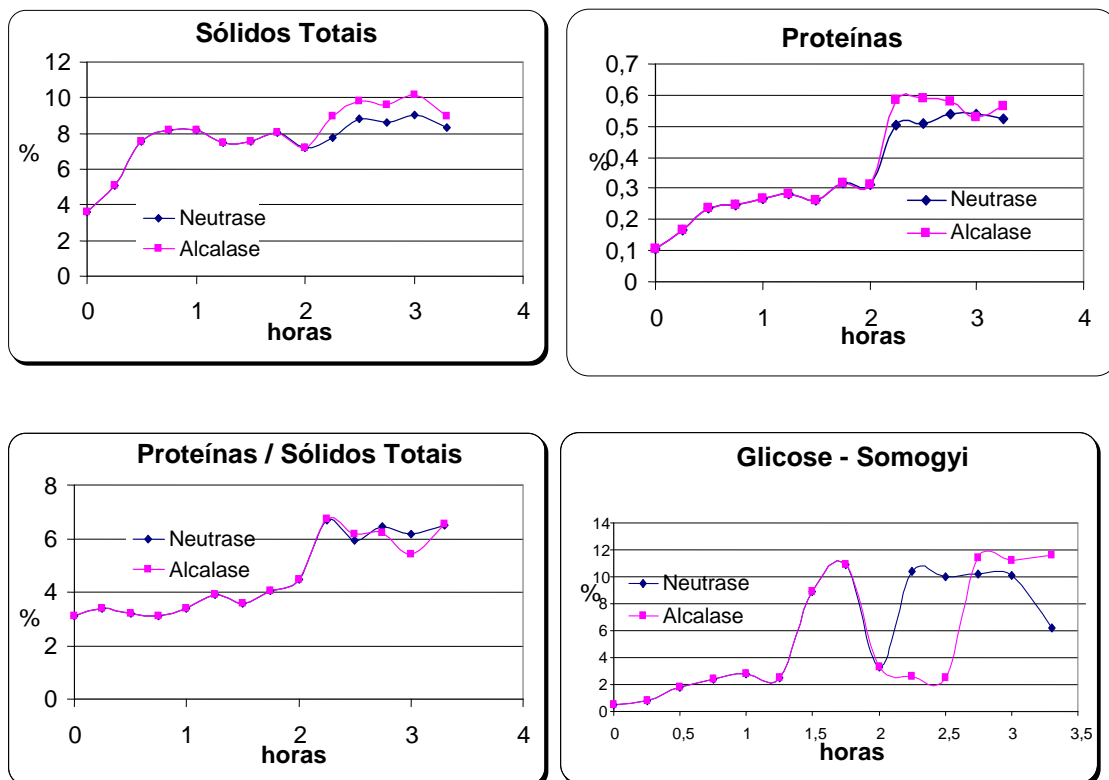


Figura 30 - Avaliação do tempo de atuação de cada enzima

Nestes gráficos, os tempos de cada enzima são subdivididos em: 0 – 1 h (Viscozyme), 1 – 2 h (AMG) e 2 – 3 h (Protease). Foi observado que depois da primeira

meia hora, há certa constância nos teores de proteína, sólidos totais e açúcares redutores, indicando a necessidade de apenas 30 minutos de atuação para a Viscozyme. Para a AMG e a protease, o tempo de atuação de 45 minutos seria suficiente, pois há certo aumento dos teores em 30 minutos de cada reação.

O produto final também foi caracterizado quanto sua composição de óleo, fase aquosa, sólidos e emulsão, na qual esta última também foi caracterizada.

Tabela 16 - Composição do produto final e de sua emulsão

Massa (g)	Neutrase	Alcalase	Emulsão	Neutrase	Alcalase
Óleo	1,33	1,39	Óleo	22,64	17,72
Água	45,90	50,22	Água	69,81	73,66
Emulsão	13,40	14,51	Sólidos secos	7,55	8,62
Sólidos	39,37	33,88			

Foi observado que as duas proteases testadas geraram produtos finais com composições semelhantes, não tendo como avaliar qual a melhor somente pela variação destes parâmetros, por isso outras proteases foram testadas e demonstradas nos gráficos abaixo.

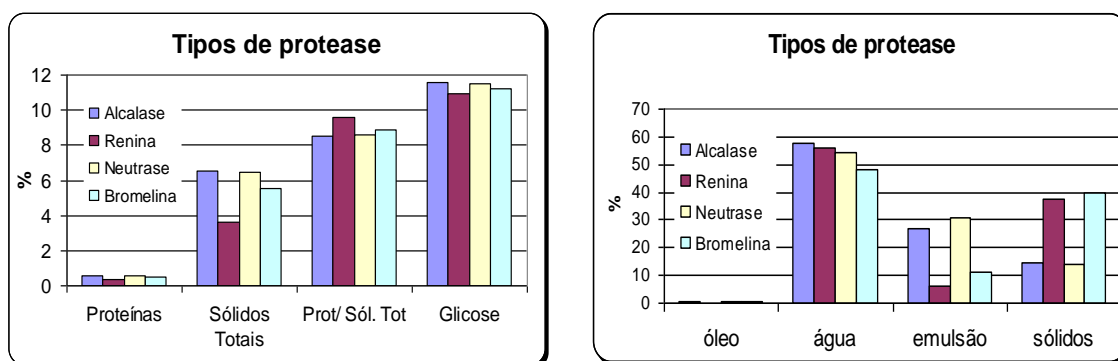


Figura 31 - Avaliação dos Tipos de Protease

A Neutrase e a Alcalase mantiveram os melhores resultados quando comparadas com a renina e a bromelina, sendo que a Neutrase apresentou melhor desempenho, já que não há necessidade de adição de solução alcalina como no caso da Alcalase, o que, em escala industrial, poderia gerar um custo extra ao processo.

Nos gráficos abaixo, foram avaliados como a quantidade de cada enzima pode influenciar a reação enzimática.

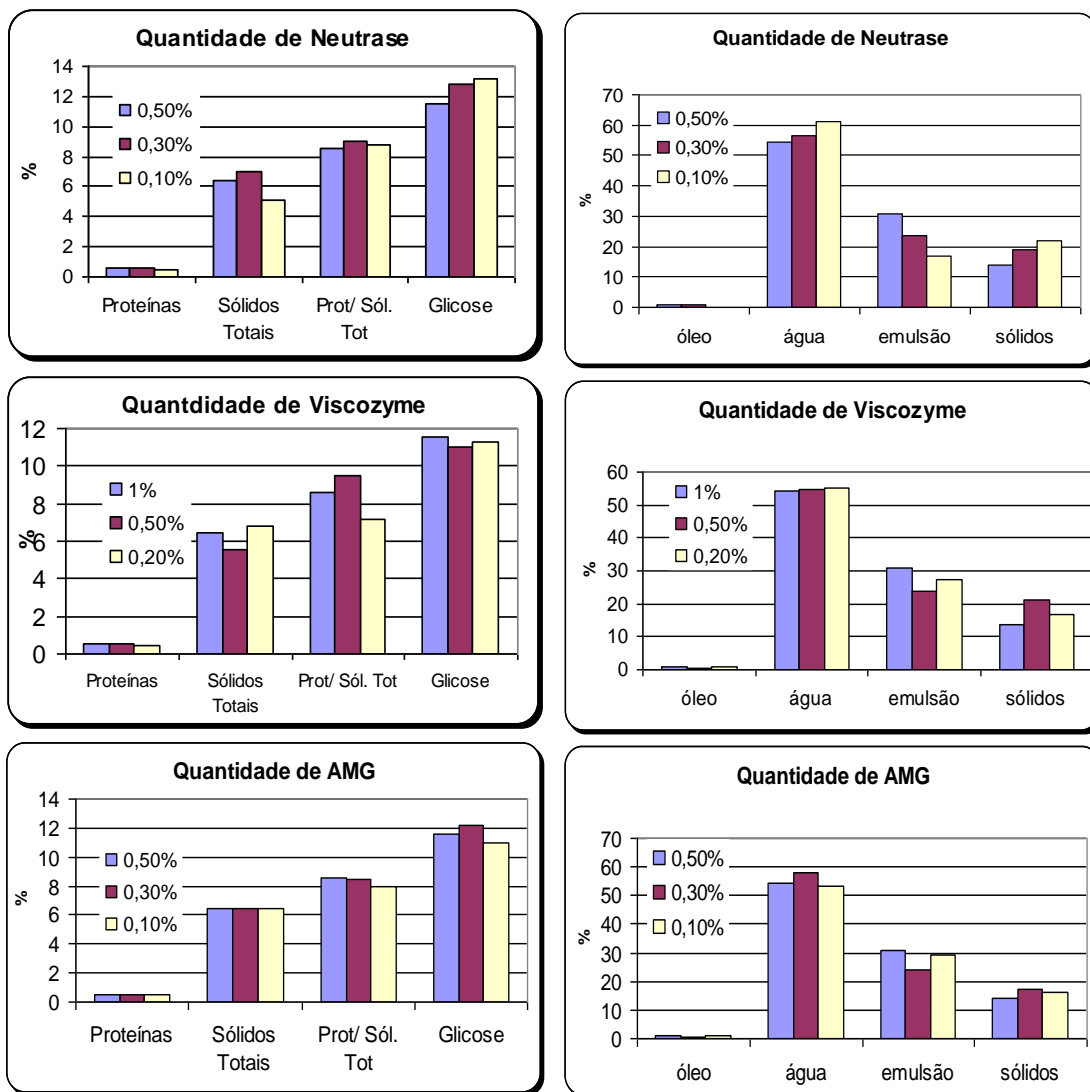


Figura 32 - Avaliação da quantidade de cada enzima

Foi observado que as quantidades intermediárias de cada enzima, 0,3% de AMG e Neutrase, e 0,5% de Viscozyme apresentaram os melhores resultados, pois conseguem balancear os teores de emulsão formada e de sólidos baixos e a quantidade de proteína com uma relação de proteínas/sólidos totais mais alta, mantendo uma taxa de hidrólise enzimática semelhante à de quantidade maiores de enzima.

6.4) Processo Integrado: Produção dos Derivados Protéicos

Foi simulado, em escalas maiores que as de ensaio, o processo para produção tanto de hidrolisados quanto de concentrados protéicos, resultando em 5 produtos: concentrado protéico de albumina rica em selênio e em aminoácidos sulfurados,

concentrado protéico de globulinas, hidrolisado protéico, torta exaurida e solução rica em oligossacarídeos e glicose.

Tabela 17 - Resultados da Escala Aumentada

Fases	%Proteína	%Sólidos Totais	%Prot/Sol.	%Glicose
Hidratação	0,64	2,17	29,33	0,16
Viscozyme	0,86	3,36	25,50	0,94
AMG	0,99	3,70	26,89	2,17
Albumina	2,17	18,44	11,75	4,28
Sol. Glicose (1)	0,31	3,69	8,31	2,18
Globulina	2,42	8,95	27,08	3,17
Sol. Glicose (2)	0,15	4,05	3,74	1,73
Hidrolisado	0,25	3,17	7,86	0,40

Tabela 18 - Resultados em quantidade

Matéria-Prima e Produtos	Quantidades
Torta de castanha utilizada / Água	80 g / 400 mL
Óleo obtido	7,5 g
Fração protéica albumina	5,94 g
Fração protéica globulina	6,07 g
Sol (1) glicose ref. albumina (emulsão / fase aquosa)	4,31 g / 265 mL
Sol (2) glicose ref. globulina (emulsão / fase aquosa)	6,45 g / 295 mL
Hidrolisado (emulsão / fase aquosa)	23,66 g / 305 mL
Torta úmida / Torta seca	89 g / 25 g

Em uma escala piloto, 70% da torta de castanha foram convertidos em produtos, sendo que destes 27% de produtos protéicos (com concentrações de 12% p/p de albumina e 27% p/p de globulina, 7,8% p/p de hidrolisado protéico), 10% de óleo recuperado e 33% de fase emulsionada, que geralmente apresentam uma concentração protéica de 50% p/p.

Em um sistema industrial, poderia ser utilizado como processo de separação um sistema de permeação por membranas.

CAPÍTULO 7 – DIMENSIONAMENTO DE EQUIPAMENTOS

Baseando-se no Processo Integrado, foi gerado um fluxograma do bioprocesso, especificando os equipamentos a serem utilizados para a produção de derivados protéicos. Os equipamentos foram dimensionados neste capítulo.

Todos os equipamentos dimensionados têm como material de construção base o aço inoxidável 316, de modo a proporcionar uma maior durabilidade e evitar o risco de liberação de impurezas para o produto, que deve ter grau alimentício.

7.1) Dimensionamento

7.1.1) Reator 1 e/ou 2 (Tanque de Mistura Encamisado)

Esse reator enzimático tem uma camisa, que manterá a temperatura em 55°C através do trocador de calor, que recirculará a água que sai da camisa, e será utilizado no início do processo (Reator 1) e no final do processo (Reator 2).

A quantidade diária de torta de castanha-do-pará será de 800 kg, que é, considerando 1 ano útil equivalente a 330 dias, um consumo de 264 ton de torta, representando apenas 13,2% do total produzido no Brasil.

No reator 1, será adicionado, inicialmente, 800 kg de torta de castanha do pará, 4000 L de água e 20 L de Viscozyme. Após 30 minutos de reação, será adicionado a mistura 12 L de AMG. No total, este reator operará em batelada por 75 minutos.

No reator 2, será adicionado a torta residual da centrífuga 2, que está em torno de 2150 kg, 4000 L de água, 11.5 L de NaOH 5M e 12 kg de Neutrase

A densidade da torta está entre 400 e 600 kg/m³, enquanto a torta residual da centrífuga está entre 1220 e 1320 kg/m³, pois a torta absorve quase 4 vezes o seu peso em água. Desta forma, os volumes úteis dos reatores serão:

$$\text{Reator 1} \rightarrow V_u = 4 + \frac{800}{1270} + 0,02 + 0,012 = 4,66 \text{ m}^3$$

$$\text{Reator 2} \rightarrow V_u = 4 + \frac{2150}{1270} + 0,0115 + 0,012 = 5,72 \text{ m}^3$$

Como o Reator do processo = máx (Reator 1, Reator 2), então o volume útil do reator será de 5,72 m³, que corresponde a 80% do volume total do reator. Assim o volume final do reator será 7,15 m³.

A literatura (Perry, 1999) sugere um volume de líquido, em reatores pequenos, de, no máximo, 4000 L, para manter uma boa homogeneização da mistura reacional, e também um diâmetro máximo de 1,8 m, e um número de Reynolds (Re) entre 50 e 500.

Considerando um reator cilíndrico, temos que:

$$V = \frac{\pi D^2 L}{4} \Rightarrow L = \frac{4 * 7,15}{\pi * 1,8^2} = 2,81 \text{ m}$$

A rotação sugerida é de 1000 rpm, que juntamente com diâmetro do impelidor sendo $D_i = D/3 = 0,6 \text{ m}$, geram um Re próximo de 50.

7.1.2) Trocador de Calor (Aquecedor elétrico)

Antes da manutenção da temperatura em 55°C, é necessário elevar a temperatura do fluido, de 25°C até 55°C, para isso fizemos algumas estimativas:

- Um intervalo de 30 minutos seria aceitável para o aumento de temperatura
- Fluxo mássico de entrada no tanque seria 4800 kg/30 min = 2,67 kg/s
- Fluxo mássico de entrada na camisa seria 4 kg/s
- Capacidade calorífica da água (Cp) seria 4182 J/kg.K, de 0 a 100°C
- Índice t → tanque; índice c → camisa

$$Q = m_t C_{p_t} (T_{st} - T_{et}) = m_c C_{p_c} (T_{ec} - T_{sc})$$

$$Q = 334560 \text{ W}; T_{sc} = 45^\circ\text{C}$$

Para manter a temperatura a 55 °C, é necessário saber quanto de calor é perdido, neste caso, pela convecção livre do ar no ambiente externo, estimando 23°C, obter o coeficiente de transferência de calor por convecção (h), onde a partir de dados de literatura (Incropera & De Witt, 2002), temos:

$$Q = hA\Delta T = \frac{Nuk}{D} A\Delta T = \frac{CRa_D^n k}{D} A\Delta T$$

$$Ra_D^n = \frac{g\beta\Delta TD^3}{\nu\alpha} = \frac{9,8m/s^2 * 2,725 * 10^{-3} K^{-1} * 30K * 1,8^3 m^3}{22,8 * 10^{-6} m^2/s * 32,8 * 10^{-6} m^2/s} = 6,664 * 10^{11}$$

$$C = 0,125; n = 0,333$$

$$h = \frac{0,125 * (6,664 * 10^{11})^{0,333}}{1,8} * 0,0313 W/mK = 18,98 W/m^2K$$

$$Q = 18,98 * (0,25\pi D^2 + \pi DL) * (55 - 23) = 11200 \text{ W}$$

No trocador de calor é necessário, então, alterar a vazão de entrada na camisa:

$$11200 = \dot{m} * 4182 * (65 - 45) \Rightarrow \dot{m} = 0,134 kg/s$$

A área do trocador necessária para que 334560 W sejam fornecidos a camisa do tanque foi calculada por $Q = UA\Delta T$, sendo que iremos considerar um escoamento interno da água, quer dizer, $U = h$, e turbulento já que:

$$Re_D = \frac{4\dot{m}}{\pi\mu D} = \frac{4 * 0,134 kg/s}{\pi * 528 * 10^{-6} Ns/m^2 * 0,2m} = 48228,77 > 10000$$

Por isso, utilizamos a equação de Dittus-Boelter de Aquecimento:

$$h = \frac{Nu_D k}{D} = 0,0243 Re_D^{0,8} Pr^{0,4} \frac{k}{D} = 0,0243 * 48228,77^{0,8} * 3,42^{0,4} * \frac{0,645 W/mK}{0,2m} = 715,14 W/m^2K$$

Com isso, a área de troca térmica do trocador será 23,39 m²

7.1.3) Centrífuga

Para separação da mistura reacional, foi proposta a utilização de centrifugas de discos, pois teria um diâmetro de corte menor e seria mais eficiente.

Alguns dados foram estimados:

- Número de discos: $n = 50$
- Diâmetro interno: 120 cm; diâmetro externo: 150 cm
- Rotação: $\Omega = 6000 \text{ rpm}$, ângulo de disposição dos discos: $\theta = 45^\circ$
- Tempo de centrifugação: 30 min

Com isso:

$$d_{50} = \left(\frac{9\mu}{(\rho_s - \rho)\Omega^2 t} \ln \left(\frac{2D_e^2}{D_e^2 + D_i^2} \right) \right)^{0,5} = 0,442 \mu m$$

$$Q = \frac{2(\rho_s - \rho)\pi m d_{50}^2 \Omega^2}{27 \mu t g \theta} \left(\frac{D_e^2 - D_i^2}{4} \right) = 2,353 * 10^{-3} m^3 / s$$

Isso quer dizer, que em 1 min, 141 L de solução serão centrifugados, dando um total de 34 min para centrifugar toda a mistura reacional.



Figura 33 - Centrifuga Industrial

7.1.4) Tanque de Mistura sem Camisa

Neste tanque, é adicionado 4000 L de solução 0,5M NaCl e 1310 kg de torta residual da centrifuga 1, à temperatura ambiente, por 60 minutos, considerando os mesmos dados de densidade e da literatura descritos no item 8.1.1, temos que:

$$\text{Tanque} \rightarrow V_u = \frac{4}{1,194} + \frac{2150}{1270} = 5,04 m^3$$

O volume total então será 6,3 m³, o diâmetro de 1,8 m e a altura de 2,48 m, com a mesma rotação e diâmetro do impelidor do reator 2.

7.1.5) Tanque de Decantação

Considerando que o fluxo de entrada no decantador deve ser baixo para evitar a mistura das fases (o fluxo de saída da centrífuga como 2 L/s, estimando uma eficiência de 85%); o tempo de residência deve estar entre 0,5 a 1 h, e a relação L/D entre 0,75 e 1,5.

Portanto, tem-se um volume útil de 3,6 m³, significando um volume total de 4,5 m³, com um diâmetro vertical de 1,56 m e um comprimento horizontal de 2,34 m, com um tempo de residência de 30 minutos, gerando um fluxo de óleo de 0,02 L/s e um fluxo de mistura reacional de 1,98 L/s.

7.1.6) Ultrafiltração

Industrialmente, os sistemas com membranas são modulares e operados de maneira contínua, podendo ter geometrias distintas, como descrita na tabela abaixo:

Tabela 19 - Principais características dos tipos de módulos com membrana

Tipos	Área/volume (m²/m³)	Custos de produção	Condições de escoamento	Custos Operacionais
Quadro & placa	400 – 600	Elevados	Satisfatórias	Baixos
Tubular	20 – 30	Muito elevados	Boas	Elevados
Capilar	800 - 1200	Baixos	Boas	Baixos

Neste projeto, serão utilizados módulos do tipo quadro-placa por serem os mais utilizados e apresentarem baixos custos operacionais, com membranas de polissulfona sobre polipropileno, que possui uma alta resistência química e grande parcela do mercado.

No Catálogo da DDS (Ferreira, Castilho & Paiva, 1995) são descritas as características do módulo e da membrana, que são apresentadas abaixo:

Tabela 20 - Características do módulo da DDS

Tipo	Área efetiva da membrana (m²)	Pressão máxima de operação (bar)	Altura x comprimento (cm)	Diâmetro (cm)	Peso aproximado (kg)
35 - 18	18,00	15	100 x 159	35	270

Tabela 21 - Características da membrana da DDS

Tipo	M.M de corte (kDa)	Fluxo inicial de água (L/m².h)	pH	T (°C)	P (bar)
GR81PP	10	100 - 325	1 - 13	0 - 75	0 - 10

A vazão que sai do tanque de decantação é 7128 L/h, sendo que o objetivo é concentrar em no máximo 20 vezes o volume, quer dizer até 200 L. Considerando um tempo de operação médio de 7 horas, a vazão do concentrado será de 28,6 L/h.

Logo, por balanço de massa, temos que a vazão de permeado será de 7099,4 L/h, considerando um fluxo médio de permeado de 20 L/m².h, verifica-se a necessidade de uma área de filtração de 354,97 m², o que corresponde a 20 módulos do tipo selecionado.

7.1.7) Spray-Dryer

Para dimensionamento de um spray-dryer com um disco centrífugo atomizador, foram utilizados dados da literatura (Perry, 1999), como diâmetro e altura de 6 m e condições similares aos da proteína da castanha, no caso, levedura, que apresenta um teor de sólidos de 14%, e onde a temperatura do ar na entrada do spray-dryer é de 227°C, e na saída, de 62°C, com uma taxa de evaporação de 8,2 kg/s.



Figura 34 - Spray-dryer

A vazão de concentrado que sai da ultrafiltração tem teores de proteína, sólidos totais e concentrações diferentes para cada tipo de produto, descrito na tabela abaixo:

Tabela 22 - Características dos produtos protéicos obtidos no processo

Produtos	% Proteínas	% Sólidos Totais	Concentração
Albumina	7,28	11,94	61,0
Globulina	5,58	6,91	80,7
Hidrolisado	6,6	40,95	16,1

Considerando a taxa de evaporação de 8,2 kg/s e o produto com maior quantidade de água, temos que o tempo máximo de atuação do spray-dryer para secar 200 L, que tomando como referência a densidade da torta úmida de 1270 kg/m³, tem-se 254 kg é 31 s.

Assim, a quantidade de produto por batelada será 30,3 kg de albumina concentrada, 17,5 kg de globulina concentrada e 104 kg de hidrolisado.

7.1.8) Secador em Bandejas

O secador em bandejas é utilizado para secar a torta residual exaurida do processo, que úmida tem 890 kg, mas seca, é apenas 31% da quantidade inicial de torta de castanha seca, quer dizer 250 kg.

Por falta de dados experimentais, foi utilizado os dados relativos a secagem de gelatina (Perry, 1999), que estão descritos abaixo:

- Temperatura do ar na entrada do secador: 52°C
- Umidade inicial: 3,3 kg de água/kg de sólidos
- Umidade final: 0,12 kg de água/ kg de sólidos
- Velocidade do ar: 1,27 m/s
- Kg de produto/área de troca térmica: 9,1 kg/m²
- Taxa de secagem: 9,91 kg de água evaporada/m²h

Assim, a área superficial de secagem deve ser 97,8 m², sendo que a umidade inicial da torta era de 2,56 kg de água/kg de sólidos, supondo chegar na umidade final relativo à secagem da gelatina, serão retirados 610 kg de água e gerando um total de 280 kg de torta exaurida, e considerando a taxa de secagem acima, isso correrá em 95,3 min.

7.1.9) Tanque de Armazenamento

Todo o permeado vai ser reciclado ao processo, durante 5 bateladas, quando terá em torno de 11% de teor de açúcares redutores, e armazenado em um só tanque, que deve possuir um volume útil de 10260 L, pois 10% do volume processado geralmente é perdido por evaporação, significando um volume total de 12825 L.

7.2) Fluxogramas

1ª Parte: Produção de Óleo, Albumina e Solução de Açúcar

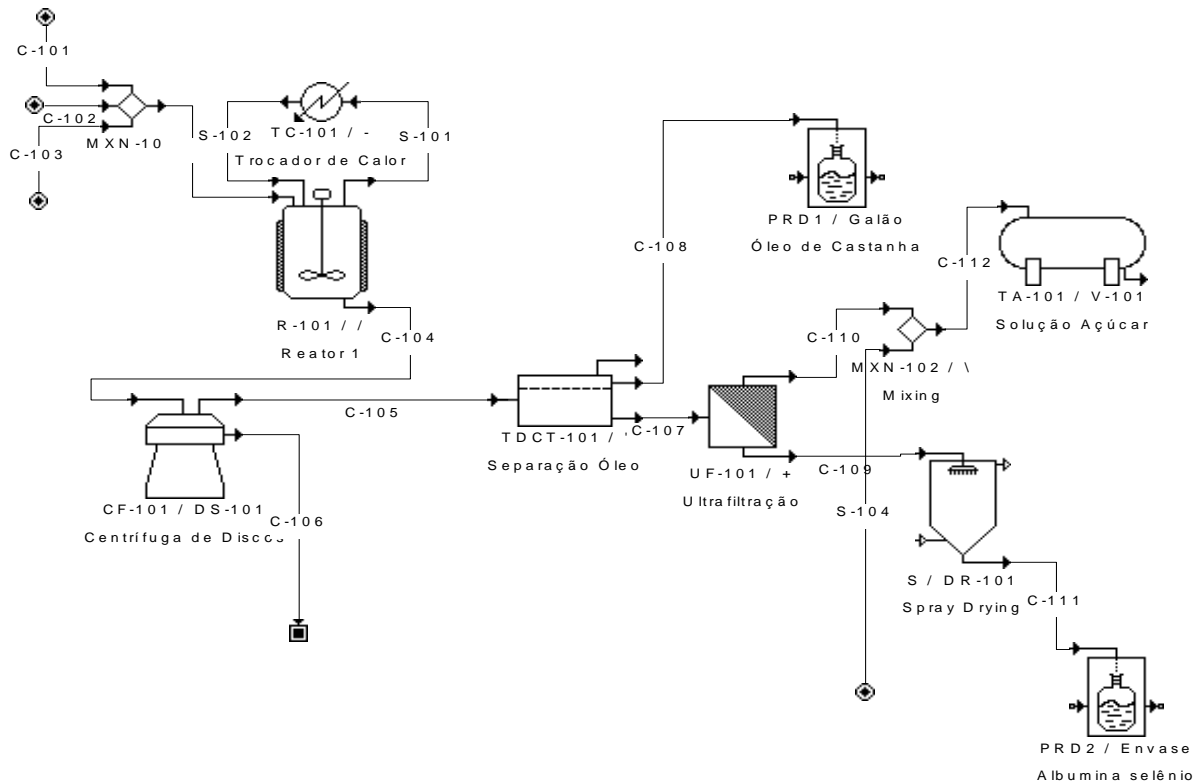


Figura 35 - Fluxograma da 1ª Parte do Projeto

Tabela 23 - Legendas de Correntes da 1ª Parte do Fluxograma

Correntes	Descrição	Direção	Equipamento
C-101	Água	Entrada	Reator 1
C-102	Enzimas	Entrada	Reator 1
C-103	Torta Castanha	Entrada	Reator 1
C-104	Mistura reacional	Saída	Reator 1
		Entrada	Centrífuga 1
S-101	Água	Entrada	Trocador de Calor
S-102	Água	Saída	Trocador de Calor
C-105	Mistura líquida	Saída	Centrífuga 1
		Entrada	Tanque de Decantação
C-106	Torta úmida 1	Saída	Centrífuga 1
		Entrada	Tanque de Mistura
C-107	Solução aquosa	Saída	Tanque de Decantação
		Entrada	Ultrafiltração 1
C-108	Óleo	Saída	Tanque de Decantação
		Entrada	Ultrafiltração 1
C-109	Concentrado	Saída	Ultrafiltração 1
		Entrada	Spray-Dryer 1
C-110	Permeado	Saída	Ultrafiltração 1
		Entrada	Tanque de Armazenamento
C-111	Albumina	Saída	Spray-Dryer 1

2ª Parte: Produção de Globulina e Solução de Açúcar

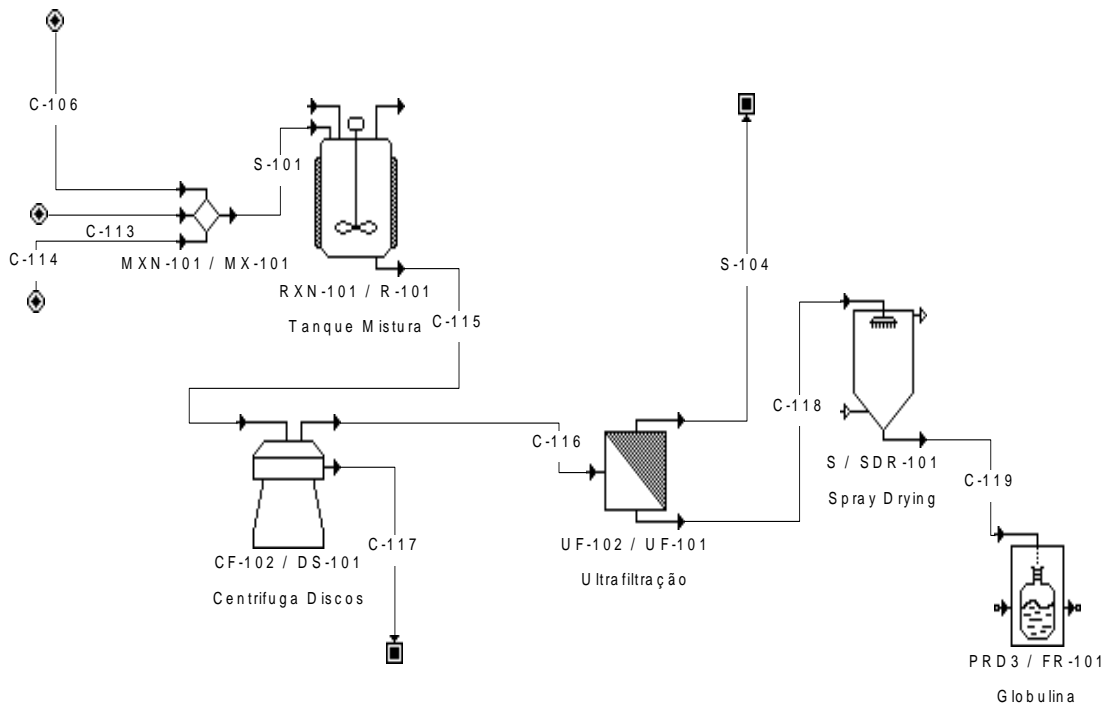


Figura 36 - Fluxograma da 2ª Parte do Projeto

Tabela 24 - Legendas de Correntes da 2ª Parte do Fluxograma

Correntes	Descrição	Direção	Equipamento
C-114	Água	Entrada	Tanque de Mistura
C-113	NaCl	Entrada	Tanque de Mistura
C-106	Torta úmida 1	Saída	Centrífuga 1
		Entrada	Tanque de Mistura
C-115	Mistura reacional	Saída	Tanque de Mistura
		Entrada	Centrífuga 2
C-116	Mistura líquida	Saída	Centrífuga 2
		Entrada	Ultrafiltração 2
C-117	Torta úmida 2	Saída	Centrífuga 2
		Entrada	Reator 2
C-118	Concentrado	Saída	Ultrafiltração 2
		Entrada	Spray-Dryer 2
S-104	Permeado	Saída	Ultrafiltração 2
		Entrada	Tanque de Armazenamento
C-119	Globulina	Saída	Spray-Dryer 2

3ª Parte: Produção de Hidrolisado e Torta Exaurida

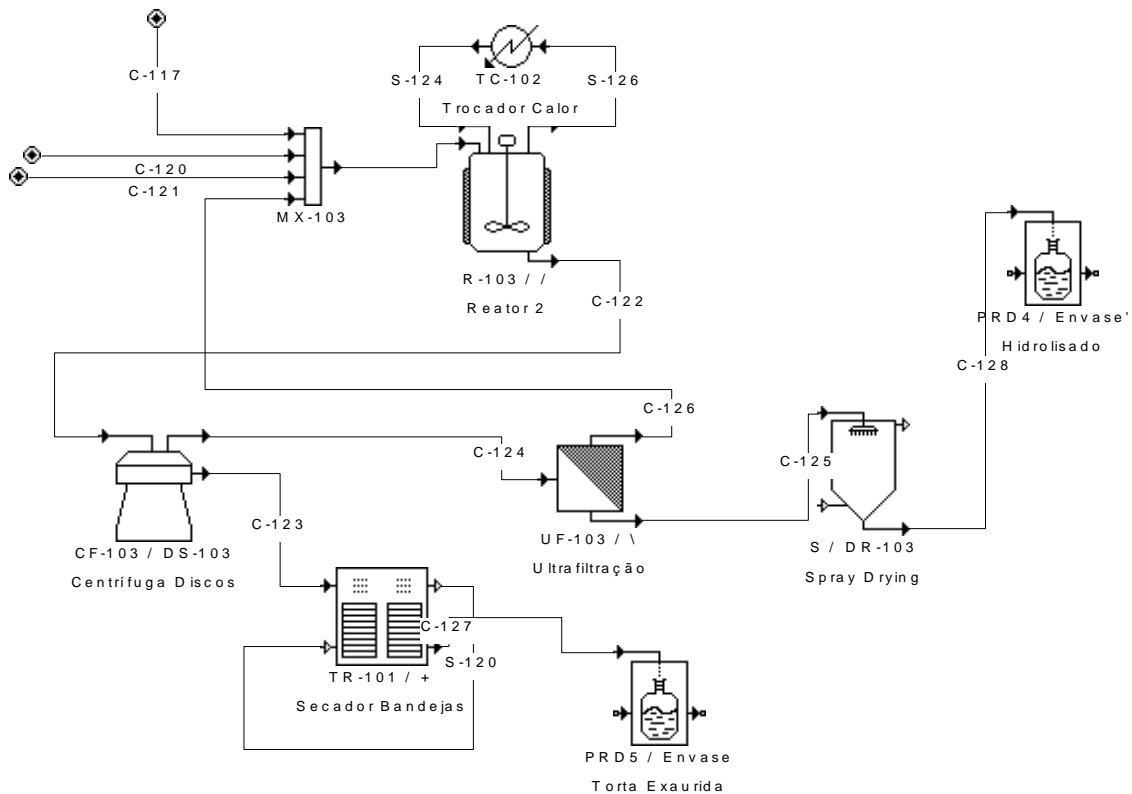


Figura 37 - Fluxograma da 3ª Parte do Projeto

Tabela 25 - Legendas de Correntes da 3ª Parte do Fluxograma

Correntes	Descrição	Direção	Equipamento
C-120	Água	Entrada	Reator 2
C-121	Protease	Entrada	Reator 2
C-117	Torta úmida 2	Saída	Centrífuga 2
		Entrada	Reator 2
C-122	Mistura reacional	Saída	Reator 2
		Entrada	Centrífuga 3
S-124	Água	Entrada	Trocador de Calor
S-126	Água	Saída	Trocador de Calor
C-123	Mistura líquida	Saída	Centrífuga 3
		Entrada	Ultrafiltração 3
C-124	Torta úmida 1	Saída	Centrífuga 3
		Entrada	Secador em Bandejas
C-125	Concentrado	Saída	Ultrafiltração 3
		Entrada	Spray-Dryer 3
C-126	Permeado	Saída	Ultrafiltração 3
		Entrada	Reator 2
C-127	Torta exaurida	Saída	Secador em Bandejas
C-128	Hidrolisado	Saída	Spray-Dryer 3

CAPÍTULO 8 – ANÁLISE ECONÔMICA

8.1 Estimativa de Custos

8.1.1 Investimento Total

O investimento total é definido como o montante dos recursos necessários para implantar um projeto até torná-lo em condições de operação comercial, sendo calculado como o somatório do investimento fixo, capital de giro e custos de partida da planta. (Ferreira, Castilho & Paiva, 1995).

O investimento fixo representa o capital necessário para aquisição e instalação de equipamentos, sendo subdividido em custos diretos e indiretos.

Os custos diretos são subdivididos em ISBL (“inside battery limits”), relacionados às unidades do processo, correspondendo 50 – 60% do investimento fixo, e em OSBL (“outside battery limits”), relacionados às unidades auxiliares necessárias, sendo 45% do ISBL.

Tabela 26 - Composição dos custos ISBL e OSBL (Ferreira, Castilho & Paiva, 1995)

Item	%CIF	%AE
ISBL		
Aquisição de equipamentos (AE)	20 – 40	100
Instalação de equipamentos	7,3 – 26	40
Controle e Instrumentação	2,5 – 7,0	18
Tubulações	3 – 15	45
Materiais e Equipamentos Elétricos	2,5 – 9,0	14
OSBL		
Construção e serviços	6 – 20	-
Obras Preliminares	1,5 – 5,0	-
Utilidades	8 – 35	-
Terreno	1 - 2	-

Os custos indiretos são relacionados a aspectos de engenharia, supervisão, administração, logística, serviços e outros, compreendendo 15 a 30% dos custos de investimento fixo (CIF).

O capital de giro são os custos de investimento destinados a operacionalização do projeto, como o pagamento de salários, formação de estoques de matérias-primas, produtos e peças de reposição, financiamento de vendas e crédito de fornecedores, constituindo 10 – 20% CIF.

Os custos de partida da planta (8 – 10% CIF) estão ligados às alterações do processo necessárias para atender às especificações do projeto, à mão-de-obra necessária para o início da operação da planta e à perda de rendimento durante a remoção de imperfeições nas linhas de processamento.

Neste projeto, os preços dos equipamentos foram obtidos através de curvas de custo em função da capacidade do equipamento (Peters & Timmerhaus, 1991). Os resultados estão apresentados a seguir, considerando que todos os custos de equipamentos foram multiplicados por 1,335 devido a uma projeção temporal do Marshall & Swift Equipment Cost Index:

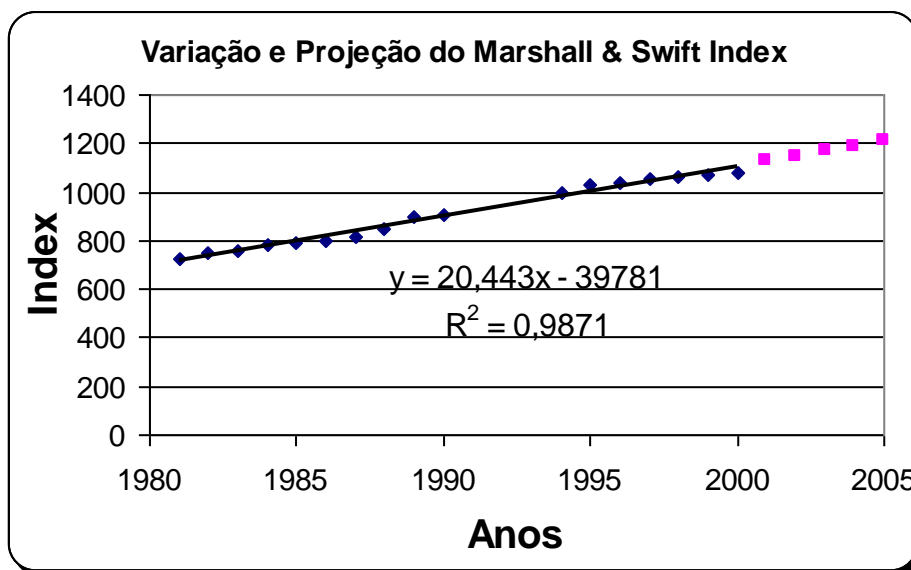


Figura 38 - Variação e Projeção do Marshall & Swift Index

Premissas da produção de derivados da torta de castanha-do-pará

Partida da Planta: 2007

Data de análise: 2º semestre 2005

Localização: Rio de Janeiro

Capacidade de produção:

10000 kg/ano albumina

26400 L/ano óleo

5775 kg/ano globulina

34320 kg/ano hidrolisado

92400 kg/ano torta exaurida

677160 L/ano permeado

Tabela 27 - Estimativa do Investimento Total

Equipamentos	Unidades	Custo unitário (US\$ mil)	Custo total (US\$ mil)
Reator	1	39,9	39,9
Tanque de mistura	1	26,6	26,6
Trocador de Calor	1	17,29	17,29
Centrífuga	1	59,85	59,85
Tanque de Decantação	1	10,64	10,64
Ultrafiltração	20	133	2660
Spray-dryer	1	931	931
Secador em bandejas	1	33,25	33,25
Tanque de Armazenamento	1	22,61	22,61
Total de Equipamentos (TE)			3801,14
Instalação de equipamentos		0,4* TE	1520,46
Controle e Instrumentação		0,18* TE	684,20
Tubulações		0,45* TE	1710,51
Materiais e Equipamentos Elétricos		0,14* TE	532,16
ISBL			8248,47
OSBL		0,45* ISBL	3711,81
Custos diretos			11960,28
Custos indiretos		0,25* custos diretos	2990,07
Investimento Fixo (IF)			14950,35
Capital de giro		0,15* IF	2242,55
Custos de Partida		0,1* IF	1495,04
Investimento Total			18687,94

8.1.2) Custos de Produção (CP)

Os custos de produção compreendem os custos variáveis, que dependem da quantidade produzida, representando os custos de matéria-prima (10 – 50%CP) e os custos de utilidades (10 – 20 %CP); e os custos fixos que são divididos em caixa/diretos, caixa/indiretos e não-caixa.

Os custos caixa/diretos são ligados a produção específica, incluindo mão-de-obra de operação (10 – 20 %CP), supervisão e chefia, cargos de laboratório, manutenção e despesas gerais.

Os custos caixa/indiretos, como impostos, seguros e despesas gerais, não estão ligados à produção, sendo alocados a ela por critério de proporcionalidade, quando da fabricação de diferentes produtos em uma mesma planta.

Os custos não-caixa são relativos a depreciação, que é somada aos demais custos operacionais, representando a vida útil do investimento, correspondendo 10% do custo de investimento fixo.

Tabela 28 - Estimativa do Custo Total de Produção

Matéria-prima	Unidade	Custo unitário (US\$)	Quant. anual	Custo anual (US\$ mil)
Torta de castanha	kg	0,23	264000	60,72
Água	m ³	(R\$ 1,65)* (1 US\$/R\$ 2,22)	1366,2	1,02
Viscozyme	L	147	6600	970,2
AMG	L	130	3960	514,8
Neutrase	Kg	130	3960	514,8
NaCl	ton	3000	38,6	115,8
Total MP				2177,34
Utilidades			0,15* CTP	1113,97
Total custos variáveis			Total MP + Utilidades	3291,31
Operação (MOP)			0,1* CTP	742,65
Supervisão e chefia			0,1* MOP	74,26

Cargos de laboratório			0,1* MOP	74,26
Total de mão-de-obra (TMO)			MOP + Superv + Cargos	891,17
Manutenção			0,04* ISBL	329,94
Despesas gerais			0,45* TMO	401,03
Total custos diretos			TMO + Manutenção + Despesas gerais	1622,14
Despesas gerais			0,65* (TMO+Manutenção)	793,72
Impostos e seguros			0,015* IF	224,26
Total de custos indiretos			Despesas gerais + Impostos e seguros	1017,98
Depreciação			0,1* IF	1495,04
Total de custos fixos			Total de custos indiretos + diretos + depreciação	4135,16
Custo total de produção (CTP)			Total de custos variáveis + fixos	7426,49

8.2) Taxa Interna de Retorno

A taxa interna de retorno (TIR) é a taxa de juros que zera o valor presente líquido (VPL) do fluxo de caixa de um empreendimento, que é descrito nesta fórmula:

$$VPL = -CF_0 + \sum_{j=1}^n \frac{CF_j}{(1-i)^j}, \text{ onde :}$$

$-CF_0 \rightarrow$ investimento inicial

$\sum_{j=1}^n \frac{CF_j}{(1-i)^j} \rightarrow$ retiradas em períodos j

$i \rightarrow$ taxa mínima de atratividade ($\approx 10\%$)

Se o $TIR > i$, então o projeto é viável, sendo também atrativo se o VPL mantiver-se positivo, satisfazendo lucro desejado e cobrindo riscos.

O fluxo de caixa foi montado abaixo, considerando que a realização integral do investimento fora do primeiro ano, já que é de pequeno porte.

Projeções de fluxo de caixa (US\$ mil)

Preço de venda dos derivados protéicos:

Albumina: US\$ 25000/ton

Globulina: US\$ 15000/ton

Hidrolisado: US\$ 20000/ton

Preço de venda da torta exaurida: US\$ 1000/ton

Preço de venda do permeado: US\$ 15000/m³

Preço de venda do óleo de castanha: US\$ 8000/m³

Tabela 29 – Fluxo da Caixa

Ano	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Entradas (vendas)		11484	11484	11484	11484	11484	11484	11484	11484	11484
Derivados protéicos		1023	1023	1023	1023	1023	1023	1023	1023	1023
Torta exaurida		92,4	92,4	92,4	92,4	92,4	92,4	92,4	92,4	92,4
Permeado		10157,4	10157,4	10157,4	10157,4	10157,4	10157,4	10157,4	10157,4	10157,4
óleo		211,2	211,2	211,2	211,2	211,2	211,2	211,2	211,2	211,2
Saídas		5931	5931	5931	5931	5931	5931	5931	5931	5931
Matérias-primas		2177	2177	2177	2177	2177	2177	2177	2177	2177
Utilidades		1114	1114	1114	1114	1114	1114	1114	1114	1114
Custos diretos		1622	1622	1622	1622	1622	1622	1622	1622	1622
Custos indiretos		1018	1018	1018	1018	1018	1018	1018	1018	1018
Investimentos	-18688									
Saldo	-18688	5553	5553	5553	5553	5553	5553	5553	5553	5553

Esse fluxo de caixa gera uma taxa interna de retorno de 26%, o que demonstra um projeto viável e atrativo, podendo posteriormente ser aproveitado pra produção de outros tipos de produtos protéicos de outras fontes vegetais, não sendo necessário o investimento inicial.

CAPÍTULO 9 – CONCLUSÃO

Neste projeto, foi verificada a importância de se reutilizar e valorizar produtos como resíduos agroindustriais, gerando vantagens tanto para o meio ambiente quanto para o empresário que está investindo em novas plantas industriais.

O foco principal deste projeto foi a produção de derivados protéicos através de processos de hidrólise alternativos, como o enzimático, que não necessita nem de ácidos, bases ou solventes orgânicos, sendo utilizado como fonte protéica o resíduo da extração de óleo da castanha-do-pará, que tem um bom apelo comercial por ser um produto amazônico e ter propriedades distintas de outras fontes protéicas, como grande quantidade aminoácidos sulfurados e alto teor de selênio.

Na etapa experimental do projeto, obteve-se uma castanha e uma torta com valores condizentes com os da literatura, demonstrando assim a pureza da castanha utilizada, e sendo estudado várias rotas e parâmetros que otimizassem a rota, onde foi definido:

- ✓ A pré-hidratação (autoclave) aumentou teor de proteínas na solução, mas não foi adotado na escala piloto devido ao custo, sendo substituído por uma etapa de hidratação de 30 minutos.
- ✓ A emulsão formada no processo foi agregada ao produto final em cada derivado protéico depois de ter sido concentrado na ultrafiltração.
- ✓ O tempo e a quantidade necessários de cada enzima na hidrólise foram:

Tabela 30 - Condições das Enzimas

	Tempo	Quantidade
Viscozyme	30 min	0,5%
AMG	45 min	0,3%
Neutrase	45 min	0,3%

- ✓ O óleo recuperado foi 10% da quantidade total de torta, enquanto os produtos protéicos representaram quase 20%.
- ✓ A torta exaurida pode voltar ao processo integralmente, parcialmente ou vendida para produção de ração animal.
- ✓ Foi demonstrado que, utilizando 1 batelada diária, o projeto é viável e atrativo com uma taxa interna de retorno de 26% em 10 anos.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- ✓ Realização de aminogramas nos produtos protéicos obtidos na escala piloto, como albumina, globulina e hidrolisado protéico, a partir de Neutrase, e na escala de bancada, em que foram utilizadas outras proteases, que podendo fornecer perfis de aminoácidos diferentes, sendo mais um critério de avaliação do produto.
- ✓ Testes em escala piloto
- ✓ Testar enzimas mais específicas, quer dizer, invés de adicionar uma associação de enzimas, como o Viscozyme, que têm hemicelulases e celulases, testar uma Celluclast, que têm apenas celulases, e também originárias de outros fabricantes diferentes da *Novozymes*.
- ✓ Durante o armazenamento de amostras de hidrolisado protéico para análise, foi verificado a formação de aromas similares aos de queijo Roquefort, muito provavelmente por ação microbiana. Assim a proposta é de isolar o microrganismo e utilizá-lo para produção de aromas de queijo, tendo como substrato a torta exaurida do processo, e depois extrair com solventes o aroma, gerando um novo produto: Flavorizante, sabor queijo Roquefort.
- ✓ Análise das propriedades funcionais dos produtos protéicos, para uma melhor avaliação da sua atuação como emulsificantes.
- ✓ Análise do teor de selênio em cada produto protéico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ABREU, F.R. *et al*; Utilization of metal complexes as catalysts in the transesterification of Brazilian vegetable oils with different alcohols. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 209, 29-33, 2004.
- ALCANTARA, R. *et al*; Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used frying oil and tallow. **Biomass and Bioenergy**, 18, 515-527, 2000.
- AMPE, C. *et al*; The amino-acid sequence of the 2S sulphur-rich proteins from seeds of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **European Journal of Biochemistry**; 159(3): 597-604, 1986 Sep 15.
- BARATA, E.A.F.; **A Cosmetologia – Princípios Básicos**. Tecnopress, São Paulo, 2003.
- BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L.; **Bioquímica**, 5ª ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.
- BREITENEDER, H.; RADAUER, C.; A classification of plant food allergens, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 113, n.5, 821-830, 2004.
- CARDARELLI, H.R.; OLIVEIRA, A.J.; Conservação do Leite de Castanha-do-Pará. **Scientia Agrícola**, v.57, n.4, p.617-622, out./dez. 2000.
- CARVALHO, F.C.; Disponibilidade de Resíduos Agroindustriais e do Beneficiamento de Produtos Agrícolas. **Informações Econômicas**, v.22, nº 12, dez., 1992.
- CLEMENTE, A. *et al*; Protein quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. **Food Chemistry**, 67, 269-274, 1999
- CLEMENTE, A.; Effect of Enzymatic Hydrolysis on Protein Quality and Antigenicity of Chickpea Protein Isolate. **Shaping-the-Future, Three: Nutrition**; Hannover, Germany, 1 – 6, 2000 (a).
- CLEMENTE, A.; Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition; **Trends in Food Science & Technology**, 11, 254-262, 2000 (b).
- D'ALVISE, N.; *et al*; Hydrolysis and large scale ultrafiltration study of alfalfa protein concentrate enzymatic hydrolysate. **Enzyme and Microbial Technology**, 27, 286 – 294, 2000.
- DE FILIPPIS, P. *et al*; Gasification process of Cuban bagasse in a two-stage reactor. **Biomass & Bioenergy**, 27, 247-252, 2004.
- DEMIRBAS, A.; Combustion characteristics of different biomass fuels. **Progress in Energy and Combustion Science**, 30, 219-230, 2004.

- DEWICK, P.M.; **Medicinal Natural Products, a biosynthetic approach**; 2nd ed., John Wiley & Sons, Chichester, England, 2002
- DUBOIS, M. et al; Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, vol.28, n° 3, 350-356, Março, 1956.
- DURANTI, M.; GIUS, C.; Legume seeds: protein content and nutritional value; **Field Crops Research**, 53, 31-45, 1997.
- FENNEMA, O.R.; **Food Chemistry**; 3^a edição; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1996.
- FERRARI, R.A.; OLIVEIRA, V.S.; SCABIO, A.; Biodiesel de soja – Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, 28, 1, 19-23, 2005.
- FERREIRA, J.S.G; CASTILHO, L.R.; PAIVA, S.P.; **Produção de Pectinases para a Indústria de Bebidas**, Rio de Janeiro, 168 pp.; Projeto Final de Curso, Escola de Química, UFRJ, 1995.
- GERHARTZ, W.; **Enzymes in Industry: Production and Applications**; VCH Publishers, New York, 1990.
- GLÓRIA, M.M.; REGITANO-d'ARCE, M.A.B.; Concentrado e Isolado Protéico de Torta de Castanha do Pará: Obtenção e Caracterização Química e Funcional; **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; 20(2): 1-13, may.-aug., 2000.
- GODFREY, T.; WEST, S.; **Industrial Enzymology**, 2nd ed.; The MacMillan Press, Londres, England, 1996.
- GONG, C.S.; Ethanol Production from Renewable Resources. In: SCHEPER, T.; **Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology**, vol. 65, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1999.
- HANSON, L.P.; **Vegetable Protein Processing**; Noyes Data Corporation, New Jersey, 1974.
- INCROPERA, F.P.; DE WITT, D.P.; **Fundamentos de Transferência de Calor e de Massa**, 5^a ed., LTC Editora, Rio de Janeiro, 2002
- KALAM, M.A.; MASJUKI, H.H.; Biodiesel from palmoil – an analysis of its properties and potential. **Biomass and Bioenergy**, 23, 471-479, 2002.
- KUMAR, R.; *et al*; Adhesives and plastics based on soy proteins products. **Industrial Crops and Products**. 16, 155-172, 2002.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A.; **Plantas Medicinais no Brasil, Nativas e Exóticas**. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 2002.

- LOWRY, O.H. et al; Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**; v.193, pp.265-275, 1951.
- MANAHAN, S.E.; **Fundamentals of Environmental Chemistry**; 2nd ed., IE-CRC Press, Nova York, 2000.
- MANSILLA, H.D. *et al*; Acid-catalysed hydrolysis of rice hull: Evaluation of furfural production. **Bioresource Technology**, 66, 189-193, 1998.
- MARCONE, M.F.; Biochemical and biophysical properties of plant storage proteins: a current understanding with emphasis on 11S seed globulins. **Food Research International**, 32, 79 – 92, 1999.
- MARTIN, C. *et al*; Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, 31, 274-282, 2002.
- MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F.M.; STEINER, G.; **Análisis de los Alimentos**; 2^a ed., Editorial Acribia S.A., Zaragoza, 1992.
- NIGAM, J.N.; Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. **Journal of Biotechnology**, 87, 17-27, 2001.
- OASHI, M.C.G.; **Estudo da Cadeia Produtiva como Subsídio para Pesquisa e Desenvolvimento do Agronegócio do Sisal na Paraíba**; Florianópolis-SC, 253 pp. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, UFSC, 1999.
- OHARA, H.; Biorefinery. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 62, 474-477, 2003.
- OLIVEIRA, D. *et al*; Influência das variáveis de processo na alcoólise enzimática de óleo de mamona. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24, 2, 178-182, 2004.
- PERRY, R.H.; GREEN, D.W.; MALONEY, J.O.; **Perry's Chemical Engineers' Handbook**, 7th ed., The McGraw-Hill Companies, Inc.; New York, 1999
- PESSOA JR., A.; KILIKIAN, B.V.; **Purificação de Produtos Biotecnológicos**, Editora Manole, São Paulo, 2005.
- PETERS, M.S.; TIMMERHAUS, K.D.; **Plant Design and Economics for Chemical Engineers**, 4th ed., McGraw-Hill, Inc., New York, 1991
- PINATTI, D.G. *et al*; Large scale low cost production of submicrometric powder through biomass refinery. **Materials Research**, vol. 6, n° 3, 375-388, 2003.
- PRAMANIK, K.; Properties and use of jatropha curcas oil and diesel fuels blends in compression ignition engine. **Renewable Energy**, 28, 239-248, 2003.
- RAMOS, C.M.P.; BORA, P.S.; Extraction and Functional Characteristics of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* HBK) Globulin; **Food Sci. Tech. Int.**; 9(4):265-269, 2003.

- RAMOS, C.M.P.; BORA, P.S.; Functional Characterization of Acetylated Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* HBK) Kernel Globulin; **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**; 24(1):134-138, jan.-mar., 2004.
- REDDY, N.; YANG, Y.; Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. **Trends in Biotechnology**, 23, 1, 22-27, 2005
- ROBERTO, I.C *et al.*; Xylitol production by *Candida guilliermondii* as an approach for the utilization of agroindustrial residues; **Bioresource Technology**, 51, 255-257, 1995.
- RODRIGUES, J.E. *et al.*; Phase equilibrium measurements of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) oil in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, 34, 223-229, 2005.
- SADLER, M.J.; Meat alternatives – market developments and health benefits. **Trends in Food Science & Technology**, 15, 250-260, 2004.
- SANT'ANNA, B.P.M.; FREITAS, S.P.; COELHO, M.A.Z.; Enzymatic aqueous technology for simultaneous coconut protein and oil extraction; **International Journal of Fats and Oils**; vol.54. Fasc. 1, 77-80, 2003.
- SOUZA, M.L.; MENEZES, H.C.; Processamentos de Amêndoa e Torta de Castanha-do-Brasil e Farinha de Mandioca: Parâmetros de Qualidade; **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; 24(1): 120-128, jan.-mar., 2004.
- SUN, S.S.; ALTENBACH, S.B.; LEUNG, F.W.; Properties, biosynthesis and processing of a sulfur-rich protein in Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.); **European Journal of Biochemistry**; 162(3): 477-83, 1987 (a).
- SUN, S.S.M; LEUNG, F.W.; TOMIC, J.C.; Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) Proteins: Fractionation, Composition, and Identification of a Sulfur-Rich Protein; **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 35, 232-235, 1987 (b).
- SUN, Y.; CHENG, J.J.; Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. **Bioresource Technology**, 96, 1599-1606, 2005
- SWERN, D.; **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, Vol.2; 4th ed.; Wiley-Interscience Publication, Nova York, 1982.
- TAMANINI, C. *et al.*; Avaliação da casca de aveia para produção biotecnológica de xilitol; **Acta Scientiarum Technology**, v.26, nº 2, 117-125, 2004.
- UHLIG, H.; **Industrial Enzymes and their Applications**, John Wiley & Sons, Inc.; Toronto, Canada, 1998.

- VAN DAM, J.E.G.; VAN DEN OEVER, M.J.A.; KEIJSERS, E.R.P.; Production process for high density high performance binderless boards from whole coconut husk; **Industrial Crops and Products**, 20, 97-101, 2004
- VAN EYS, J.E.; OFFNER, A.; BACH, A.; **Manual of Quality Analyses for Soybean Products in the Feed Industry**, <http://www.asa-europe.org/>, 2004.
- VILHENA, M.R.; **Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento na Economia da Castanha-do-Brasil: A transformação industrial da Castanha-do-Brasil na COMARU – Região Sul do Amapá**; Campinas-SP, 159 pp. Tese de Mestrado, Pós-Graduação em Política Científica e Tecnológica, Instituto de Geociências, Unicamp, 2004.
- WILKINSON, J.B.; MOORE, R.J.; **Cosmetología de Harry**; Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid, 1990.
- YAMAN, S.; Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks. **Energy Conversion and Management**, 45, 651-671, 2004

Referências de Internet:

<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>

<http://www.ambientebrasil.com.br/>

http://www.asa-europe.org/Library/library_e.htm

<http://www.cq.ufam.edu.br/>

<http://www.embrapa.br/>

<http://www.fao.org/>

<http://www.ibge.gov.br/>

http://www.novozymes.com/cgi-bin/bvisapi.dll/biotimes/all_articles.jsp

GLOSSÁRIO:

AGU (Novo Amyloglucosidase Unit): é a quantidade de enzima na qual hidrolisa 1 μmol de maltose por minuto sob condições padrões.

AU (Anson Units): é a quantidade de enzima que irá liberar 1 μmol de L-tirosina da hemoglobina por minuto, a 37°C e pH 7,5.

Aterro sanitário: Processo utilizado para a disposição de resíduos sólidos no solo, particularmente lixo domiciliar que, fundamentado em critérios de engenharia e normas operacionais específicas, permite um confinamento seguro em termos de controle de poluição ambiental e proteção à saúde pública.

Bráctea: Folha modificada em cuja axila nasce uma flor ou um conjunto de flores.

BU (Unidade da Bromelina): é a quantidade de enzima que irá liberar 1 μmol de L-tirosina da caseína por minuto, a 40°C e pH 6.

Cellobiose: dissacarídeo β -1,4-glicosídico.

Celulose amorfa: região onde os grupos hidroxilas são mais suscetíveis a hidrólise

Celulose cristalina: região onde os grupos hidroxilas são menos suscetíveis a hidrólise, pois são altamente ordenados.

Ceras: ésteres de ácidos graxos e álcoois de longa cadeia, conhecidos também como álcoois graxos.

Coefficiente de Sedimentação (S): tempo correspondente a 10^{-13} segundos, e relativo à sedimentação de proteínas ou ácidos nucléicos; S = Svedberg.

Colmo: Caule de nós bem definidos e entrenós maciços (ex. cana-de-açúcar) ou ocos (ex. bambus); caule típico das gramíneas.

Compósitos: Materiais de moldagem estrutural, formados por uma fase contínua polimérica (matriz) e reforçada por uma fase descontínua (fibras) que se agregam físico-quimicamente após um processo de crosslinking polimérico (cura), tendo como propriedades leveza, flexibilidade, durabilidade, resistência e adaptabilidade.

Compostagem: Processo biológico de degradação da matéria orgânica crua em substâncias húmicas, estabilizadas, com propriedades e características diferentes do material original, podendo ser aeróbio ou anaeróbio.

COV: compostos orgânicos voláteis, responsáveis pelo smog fotoquímico nas cidades.

Dalton (Da): massa igual à de um átomo de hidrogênio

Dextrinas: oligossacarídeo com 3 a 6 resíduos de glicose

Engaço: suporte que sustenta o cacho

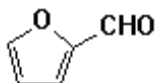
Estearinas: ésteres de esteróide

FBG (Fungal Beta-Glucanase Units): é a quantidade de enzima requerida para produzir 1 μmol de açúcares redutores por minuto sob condições de ensaio.

Fenilcetonúria: ou hiperfenilalaninemia, é causado pela ausência de uma enzima hepática, a fenilalanina hidroxilase, que converte fenilalanina a tirosina, gerando um acúmulo de ácido fenilpirúvico no sangue, causando danos intelectuais e neurológicos.

Fosfatídeos: ésteres de fosfolípidos derivados do glicerol

Furfural: Utilizado como vermicida, fungicida e intermediário para indústria química.



Lectina: glicoproteínas que atuam na adesão intercelular.

Maltose: dissacarídeo α -1,4-glicosídico.

Membranas Isotrópicas: apresentam as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura.

M.M.: massa molar

Número de Reynolds (Re):

$$\text{Re} = \frac{2\pi N \rho D_i^2}{60\mu}$$
, onde: N: agitação (rpm), ρ : densidade (kg/m^3), μ : viscosidade (Pa.s) e D_i ; diâmetro do impelidor.

Quirera: Grãos sem casca e quebrados de arroz.

Poder Coagulante: representa quanto do volume de enzima é necessário para coagular certa quantidade de leite. Ex. 1: 3000, representa 1 mL de enzima coagula 3000 mL de leite, quer dizer, 3 L de leite.

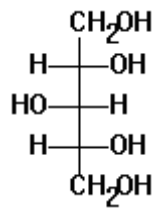
Pseudocaule: Parte da bananeira que se eleva do chão até o fruto, equivalente do tronco dos outros vegetais.

Pululana: oligossacarídeo composto de resíduos de maltose e maltotriose.

Triguilho: Grãos pequenos e quebrados de trigo, e os rejeitados na fase limpeza antes da moagem.

Vinhoto: Resíduo (efluente) final da fabricação do álcool etílico por via fermentativa. Utilizado como fertilizante.

Xilitol: poliol com poder adoçante semelhante a sacarose e anti-cárie.



Xilófagos: insetos, como cupins e brocas, que se alimentam de madeira.

APÊNDICE – Manual de Processo

Fluxograma do Processo:

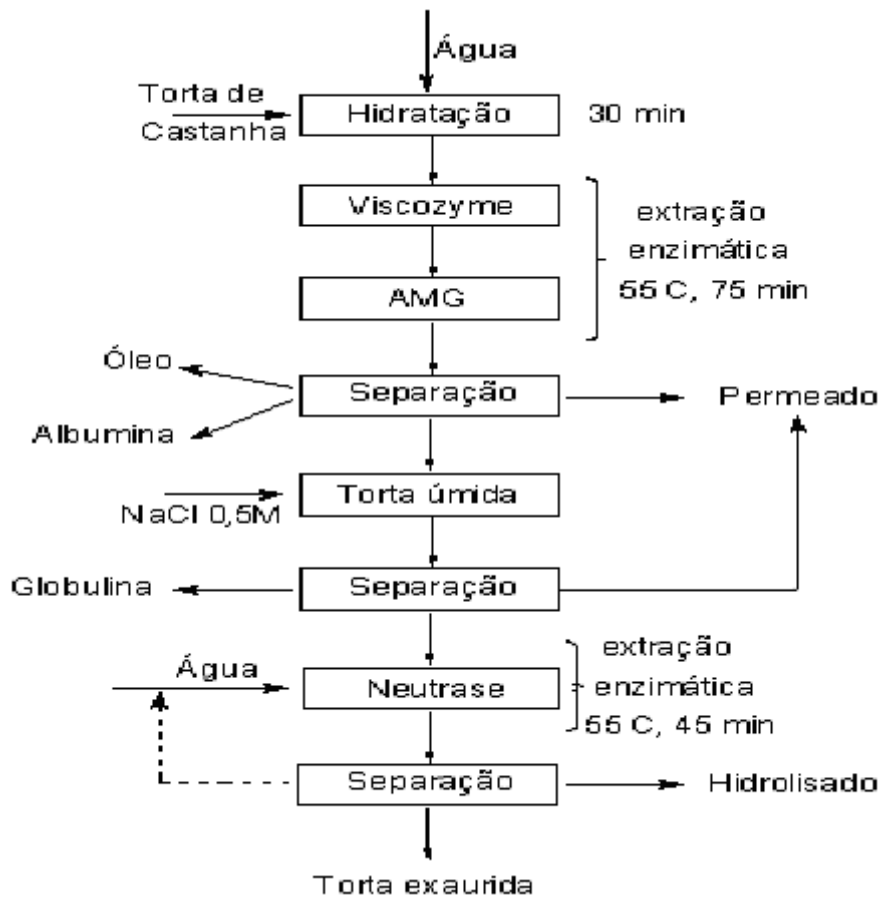


Figura 39 - Fluxograma do Processo

Descrição do Processo:

➤ Hidratação

- ✓ Adicionar a quantidade de água necessária para atingir a relação torta de castanha:água desejada, a 55°C, mantendo uma agitação suficiente para uma perfeita homogeneização da mistura.

➤ Extração Enzimática

- ✓ A quantidade de enzimas que devem ser adicionada a mistura é calculada assim: Massa de torta de castanha utilizada dividida por 200, no caso da Viscozyme, e por 333,33, no caso da AMG e da Neutrase.
- ✓ As carboidrases (Viscozyme e AMG) atuam por 30 e 45 minutos respectivamente, a 55°C, e agitação constante. O pH do guaraná, em torno de 5,5, já é o ótimo para estas enzimas.
- ✓ A protease (Neutrase) também atua por 45 minutos, a 55°C, e o pH deve ser ajustado para 7. Para isso adiciona-se uma pequena quantidade de NaOH.

➤ Extração aquosa/ salina

- ✓ Ocorre sem aquecimento, por 1 hora, com agitação, e adição de uma solução salina 0,5M invés de água.

➤ Separação

Centrifugação → 6000 rpm, 30 minutos

Ultrafiltração → concentração de 20 vezes, 16 horas