



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

MURILO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**INTEGRAÇÃO DE MEMBRANAS
PARA FRACIONAMENTO
DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS
DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

CAMPINAS
2021

MURILO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**INTEGRAÇÃO DE MEMBRANAS PARA FRACIONAMENTO DE
XILOOLIGOSSACARÍDEOS DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Orientadora: PROFA. DRA. TELMA TEIXEIRA FRANCO.

Coorientador: PROF. DR. MARCUS BRUNO SOARES FORTE.

Este trabalho corresponde à Versão Final de Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno Murilo Gonçalves de Oliveira e orientada pela Profa. Dra. Telma Teixeira Franco.

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

OL4i Oliveira, Murilo Gonçalves de, 1988-
Integração de membranas para fracionamento de xilooligossacarídeos da palha de cana-de-açúcar / Murilo Gonçalves de Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Telma Teixeira Franco.
Coorientador: Marcus Bruno Soares Forte.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Xilooligossacarídeos. 2. Fracionamento. 3. Cana-de-açúcar - Palha. 4. Nanofiltração. 5. Diafiltração. 6. Biomassa. I. Franco, Telma Teixeira, 1957-. II. Forte, Marcus Bruno Soares, 1980-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Integration of membranes for fractionation of xylooligosaccharides from sugarcane straw

Palavras-chave em inglês:

Xylooligosaccharides

Fractionation

Sugarcane straw

Nanofiltration

Diafiltration

Biomass

Área de concentração: Engenharia Química

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora:

Telma Teixeira Franco [Orientador]

Carla Kazue Nakao Cavaliero

Sarita Cândida Rabelo

Data de defesa: 02-06-2021

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-3236-5763>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5764258733117168>

Folha de Aprovação da Dissertação de Mestrado defendida por Murilo Gonçalves de Oliveira e aprovada em 02 de Junho de 2021 pela banca examinadora constituída pelos seguintes doutores:

Profa. Dra. Telma Teixeira Franco

Presidente e orientadora

FEQ / UNICAMP

Profa. Dra. Carla Kazue Nakao Cavaliero

Membro titular

FEM / UNICAMP

Profa. Dra. Sarita Cândida Rabelo

Membro titular

FCA / UNESP

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno: SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas que acreditam no conhecimento como único caminho válido para a verdadeira liberdade.

Dedico também aos amigos que me tornaram um ser humano melhor todas as vezes que compartilhamos momentos de angústias e alegrias.

Dedico, por fim, à minha família que sempre foi meu porto seguro: à minha amada esposa Sara; aos meus queridos pais Ana Hermantina e José Anésio; aos meus estimados irmãos Afonso e Diogo; aos meus prezados avós Antônio (*in memoriam*), Luiza (*in memoriam*), Duvaldo (*in memoriam*) e Neide.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por nunca ter permitido que a chama da esperança se apagasse em mim, por isso sempre serei grato. Foram as maneiras surpreendentes e incompreensíveis d'Ele agir que me trouxeram até aqui neste momento.

Agradeço aos familiares por todo o apoio e o amor incondicional: minha esposa Sara; meus pais Ana Hermantina e José Anésio; meus irmãos Afonso e Diogo; meus sogros Rose Lacerda e Ricardo Grillo. Mesmo em tempos difíceis e muitas vezes sem nem saberem, eles me mantiveram seguindo em frente e certamente este trabalho não teria sido possível sem a contribuição de cada um deles.

Agradeço à Profa. Dra. Telma Franco, ao Prof. Dr. Marcus Forte e à Dra. Livia Brenelli pela orientação, conselhos e fornecimento de recursos essenciais ao desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Processo 2015/50612-8 pelo financiamento do projeto de pesquisa, tornando possível a produção desta dissertação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo processo 130985/2019-8.

*“Conhece-te a ti mesmo e conhecerás
todo o universo e os deuses.”*

(Oráculo de Delfos)

RESUMO

As biomassas lignocelulósicas têm atraído o interesse para a obtenção de produtos derivados de alto valor agregado, como é o caso dos xilooligossacarídeos (XOS) a partir do hidrolisado da palha de cana-de-açúcar (SSHL). O SSHL contém, além de diversas impurezas (açúcares, ácidos orgânicos, compostos furânicos e fenólicos), uma mistura de xilose (X1), XOS de baixas massas molares (LMW XOS) compostos por xilobiose (X2) e xilotriose (X3) e XOS de altas massas molares (HMW XOS) compostos por xilotetraose (X4), xilopentaose (X5) e xilohexaose (X6). Os LMW XOS apresentam potencial de aplicações biotecnológicas, além de apresentarem potencial prebiótico já que estimulam o crescimento de bactérias benéficas no intestino humano com consequentes e notáveis benefícios à saúde. Portanto, o desafio do fracionamento dos LMW XOS provenientes do SSHL é um gargalo a ser superado e, nesta finalidade, destaca-se a integração de membranas como solução tecnológica pois são sistemas geralmente compactos, energeticamente econômicos, facilmente operáveis e ambientalmente sustentáveis. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi propor e avaliar um sistema integrado em série com duas membranas de nanofiltração (NF) para o fracionamento dos LMW XOS presentes no SSHL. Foram selecionadas membranas de NF comparando-se os coeficientes de rejeição e os fluxos de permeado obtidos das filtrações em condições fixas de 30 bar de pressão (P), 35 °C de temperatura (T) e pH 4,6. Em seguida, foram otimizadas as condições operacionais de P , T e pH de cada uma das membranas selecionadas por delineamento composto central rotacional (CCRD) utilizando-se as respostas de coeficiente de rejeição e fluxo de permeado considerando uma validação final nas condições ótimas. Finalmente, o sistema em série de fracionamento foi melhorado para as duas membranas selecionadas sob as condições operacionais otimizadas considerando-se operações de diafiltração (DF) para aumentos da concentração, pureza e rendimento dos LMW XOS. A primeira membrana selecionada para a retenção dos HMW XOS permeando-se os LMW XOS e a X1 foi a NP030 com condições operacionais otimizadas de 40 bar, 20 °C e pH 4,6. A segunda membrana selecionada para a retenção dos LMW XOS permeando-se a xilose foi a TS40 com condições operacionais otimizadas de 20 bar e 50 °C e pH 4,6. A melhoria do sistema de fracionamento em série para a produção de LMW XOS apresentou uma concentração de 3,7 g/L, pureza de 20,9% e rendimento de 46,0% sob a operação de uma DF para cada NF. O sistema de fracionamento em série dos LMW XOS provenientes do SSHL demonstrou ser uma estratégia promissora com potencial para ser empregada em etapas de purificação desde que combinada com outras estratégias de *downstream processing*.

Palavras-chave: Xilooligossacarídeos; Fracionamento; Cana-de-açúcar - Palha; Nanofiltração; Diafiltração; Biomassa.

ABSTRACT

Lignocellulosic biomasses have attracted interest to obtain derived products with high added value, as is the case of xylooligosaccharides (XOS) from the sugarcane straw hydrolyzed liquor (SSHL). The SSHL contains, in addition to several impurities (sugars, organic acids, furanic and phenolic compounds), a mixture of xylose (X1), low molecular weight XOS (LMW XOS) composed by xylobiose (X2) and xylotriose (X3) and high molecular weight XOS (HMW XOS) composed by xylotetraose (X4), xylopentaose (X5) and xylohexaose (X6). LMW XOS have potential for biotechnological applications, besides having prebiotic potential as they stimulate the growth of beneficial bacteria in the human intestine with consequent and notable health benefits. Therefore, the challenge of fractionation of LMW XOS from SSHL is a bottleneck to be overcome and, in this regard, the integration of membranes as a technological solution stands out because they are generally compact, energetically economical, easily operable and environmentally sustainable systems. Therefore, the objective of this work was to propose and evaluate an integrated serial system with two nanofiltration membranes (NF) for the fractionation of the LMW XOS present in the SSHL. The selection of NF membranes was carried out by comparing the rejection coefficients and permeate fluxes obtained from filtrations under fixed conditions of 30 bar of pressure (P), 35 °C of temperature (T) and pH 4.5. Then, the optimization of the operational conditions of P , T and pH of each selected membrane was performed by a central rotational composite design (CCRD) using the rejection coefficient and permeate flow as responses considering a final validation at optimal conditions. Finally, the serial fractionation system has been improved for the two selected membranes under the optimized operational conditions considering diafiltration (DF) operations to increase concentration, purity, and yield of the LMW XOS. The first membrane selected for the retention of HMW XOS permeating the LMW XOS and X1 was NP030 with optimized operating conditions of 40 bar, 20 °C and pH 4.6. The second membrane selected for the retention of LMW XOS permeating xylose was TS40 with optimized operating conditions of 20 bar and 50 °C and pH 4.6. The improvement of the serial fractionation system to produce LMW XOS showed a concentration of 3.7 g/L, purity of 20.9%, and yield of 46.0% under 1-time DF operation for each NF. The serial fractionation system for LMW XOS from SSHL demonstrated to be a promising strategy with potential to be used as one of the purification stages since it is combined with other downstream strategies.

Keywords: Xylooligosaccharides; Fractionation; Sugarcane straw; Nanofiltration; Diafiltration; Biomass.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: CONTEXTUALIZAÇÃO.....	11
Introdução	12
Objetivos	14
Revisão bibliográfica	15
Palha de cana-de-açúcar	15
Xilooligossacarídeos.....	17
Tecnologia de membranas	21
CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO.....	26
Abstract.....	29
Introduction	31
Materials and methods.....	34
Sugarcane straw hydrolyzed liquor.....	34
Analytical methods	34
Experimental procedure	35
Results and discussion	42
Membranes selection	42
Operational conditions optimization.....	43
System improvement.....	56
Conclusions	58
Acknowledgements.....	59
CAPÍTULO 3: CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
Conclusões	61
Sugestões para projetos futuros	62
Referências.....	63
CAPÍTULO 4: COMPLEMENTOS	70
Apêndices	71
Anexos.....	74

CAPÍTULO 1: CONTEXTUALIZAÇÃO

INTRODUÇÃO

A obtenção integrada de produtos com maior valor agregado a partir de biomassas, que é o conceito de biorrefinaria, tem sido intensamente estudada e novas tecnologias industriais têm sido propostas. Neste contexto, as biomassas lignocelulósicas têm atraído especial interesse por sua alta disponibilidade e potencial de derivação em novos produtos. No caso da cana-de-açúcar, destacam-se a vinhaça, o bagaço e a palha como subprodutos do processamento da indústria sucroenergética (PIEROSSI *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2012).

Quando aplicada ao pré-tratamento adequado, a fração hemicelulósica da palha pode ser parcialmente isolada e convertida em um licor hidrolisado (SSHL), composto principalmente por uma mistura de xilose (X1) e xilooligossacarídeos (XOS). O teor de impurezas no SSHL depende fortemente da qualidade do pré-tratamento, interferindo em processos posteriores de purificação. Os XOS compreendem tanto os XOS de baixas massas molares (LMW XOS) como a xilobiose (X2) e a xilotriose (X3) quanto os XOS de altas massas molares (HMW XOS) como a xilotetraose (X4), a xilopentaose (X5) e a xilohexaose (X6). Outros XOS de massas molares superiores ao X6 também estão presentes no SSHL, porém não apresentam aplicações relevantes a este trabalho. Os LMW XOS apresentam potencial de uso por leveduras geneticamente modificadas para fermentação em bioetanol de 2ª geração e bioproductos, tendo como vantagem a redução dos riscos de contaminação frente ao processo convencional (BRENELLI *et al.*, 2020). Além disso, os LMW XOS apresentam elevado potencial prebiótico que é o efeito de estímulo do crescimento de bactérias benéficas no intestino humano com consequentes e notáveis benefícios à saúde (KARLSSON *et al.*, 2018).

Portanto, fica evidente o desafio do fracionamento e purificação dos LMW XOS provenientes do SSHL como um gargalo a ser superado. Nesta finalidade, destacam-se as membranas de nanofiltração (NF) como solução tecnológica uma vez que elas compõem sistemas geralmente compactos, energeticamente econômicos, facilmente operáveis e ambientalmente sustentáveis (CÓRDOVA *et al.*, 2016; PINELO *et al.*, 2009). Este trabalho visa contribuir para o estímulo e o desenvolvimento industrial de produtos derivados das biomassas lignocelulósicas por meio de processos de membrana, propondo e avaliando um sistema integrado em série com

duas membranas de nanofiltração (NF) sob operação de diafiltração (DF) para o fracionamento dos LMW XOS presentes no SSL.

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi propor e avaliar um sistema em série com membranas de NF integradas com operação de DF para o fracionamento dos LMW XOS provenientes do SSL.

Os objetivos específicos foram os seguintes:

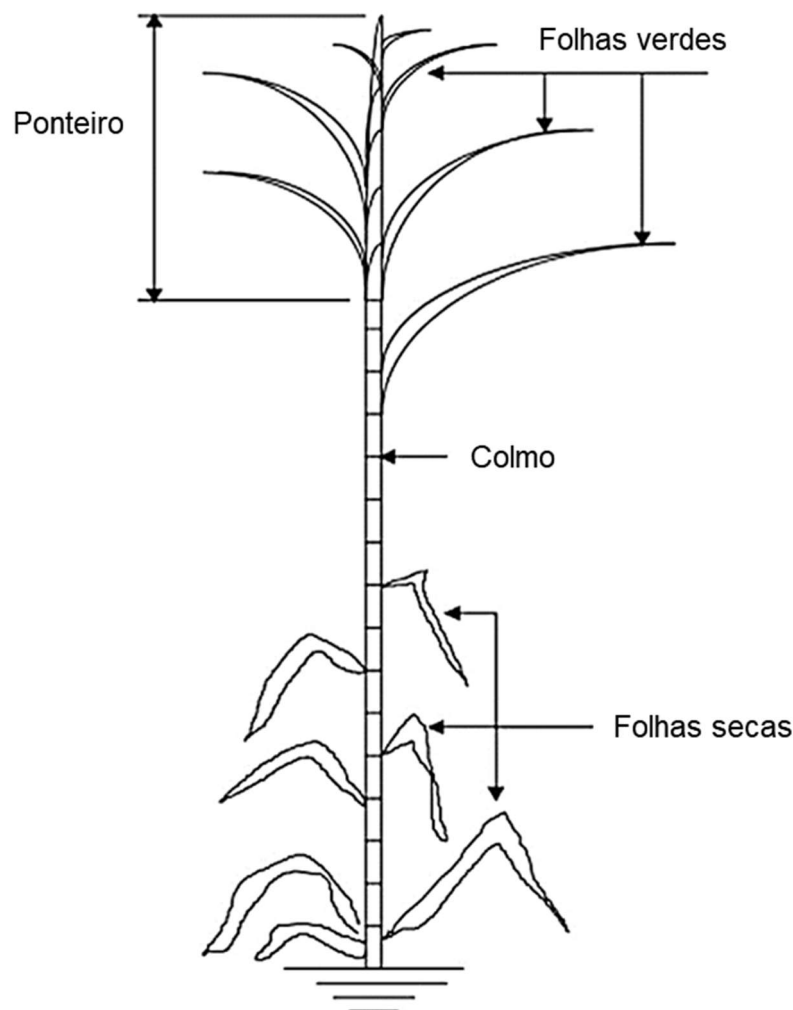
- Selecionar duas membranas de NF: a primeira membrana deve reter os HMW XOS enquanto permeia os LMW XOS e X1 e a segunda membrana deve reter os LMW XOS enquanto permeia X1;
- Otimizar e validar as condições operacionais de P , T e pH das membranas selecionadas para maximizar o fracionamento dos LMW XOS;
- Melhorar o sistema de fracionamento em série das duas membranas selecionadas sob as respectivas condições operacionais otimizadas utilizando operações de DF para aumento da concentração, pureza e rendimento com respeito aos LMW XOS.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

A planta de cana-de-açúcar, mostrada na **Figura 1-1**, é utilizada industrialmente para a produção de açúcar, etanol e eletricidade. Como subprodutos, o processamento da cana gera vinhaça em grandes volumes, o bagaço que é o colmo após extração do caldo e a palha que é composta pelos ponteiros, folhas verdes e folhas secas. Estas biomassas podem ser empregadas para cogeração de energias térmica e elétrica, mas outra opção, ainda pouco explorada de alto potencial, é a obtenção de produtos derivados de alto valor agregado como é o caso dos XOS (PIEROSSI *et al.*, 2018).

Figura 1-1: Planta de cana-de-açúcar.

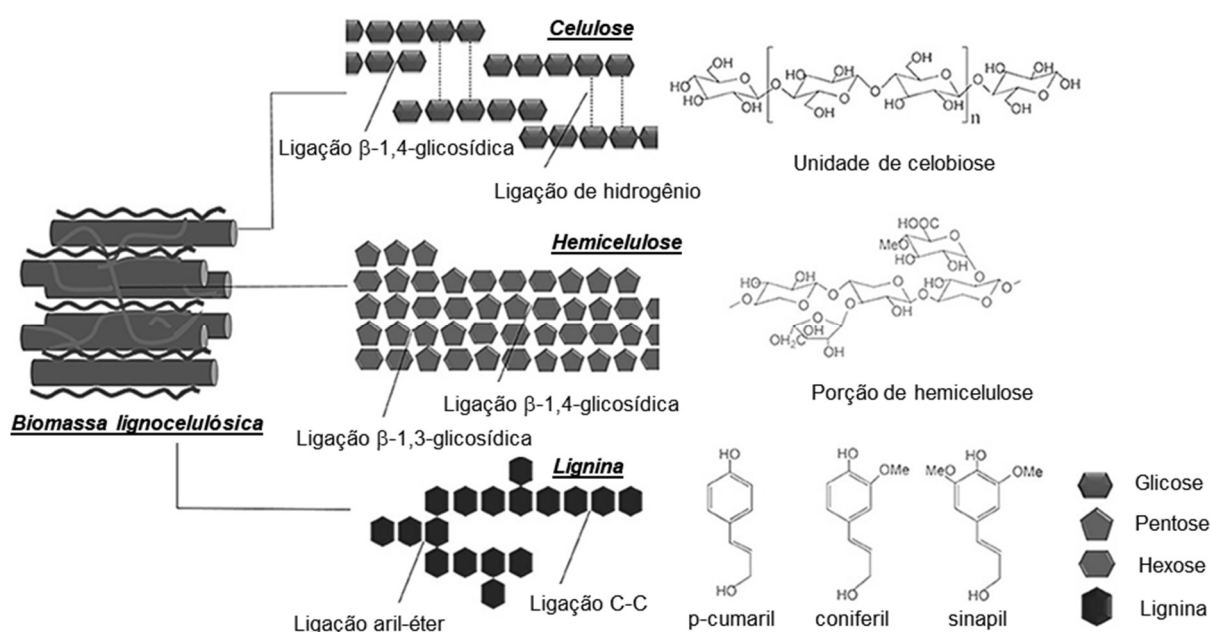


Fonte: Traduzido de PIEROSSI *et al.*, 2018.

Composição

A palha de cana-de-açúcar é um material lignocelulósico composto por blocos estruturais (macromoléculas) de celulose, hemiceluloses e lignina, conforme mostrado na **Figura 1-2**. Esses blocos estão presentes na palha nas seguintes faixas: 40-44% de celulose, 30-32% de hemiceluloses e 22 a 25% de lignina. A faixa observada na composição da palha pode ser influenciada pela variedade da cana, pelo estágio de desenvolvimento da cana e pelos nutrientes do clima e do solo durante o cultivo (SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 1-2: Composição estrutural da palha de cana-de-açúcar.



Fonte: Adaptado e traduzido de BARUAH *et al.*, 2018.

A celulose é o polímero natural mais abundante encontrado no planeta e consiste em repetições de unidades de celobiose. Sua estrutura é fortemente ligada e consiste em extensas redes de ligação de hidrogênio intra e intermolecular, que fornecem resistência à tensão na parede celular da planta (ISIKGOR *et al.*, 2015).

As hemiceluloses são compostas por vários heteropolímeros de estruturas aleatórias e amorfas, como a xilana, a galactomanana, a glucuronoxilana, a arabinoxilana, a glucomanana e a xiloglucana. Esses heteropolímeros são formados por pentoses (xilose, arabinose), hexoses (manose, glicose, galactose) e açúcares acetilados conferindo à hemicelulose a função de fornecer resistência estrutural entre a celulose e a lignina (ISIKGOR *et al.*, 2015).

A lignina é uma macromolécula amorfa constituída por unidades de fenilpropanóides (principalmente álcool p-coumaril, coniferílico e sinapílico) que fornecem resistência à compressão e dureza da parede celular, além de ajudar contra ataques de insetos e patógenos (ISIKGOR *et al.*, 2015).

Disponibilidade

Segundo a União da Indústria de Cana-de-Açúcar (UNICA), o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com uma produção de 620 milhões de toneladas na safra 2018-2019. Todo este volume foi processado por 414 indústrias de açúcar e etanol espalhadas pelo país.

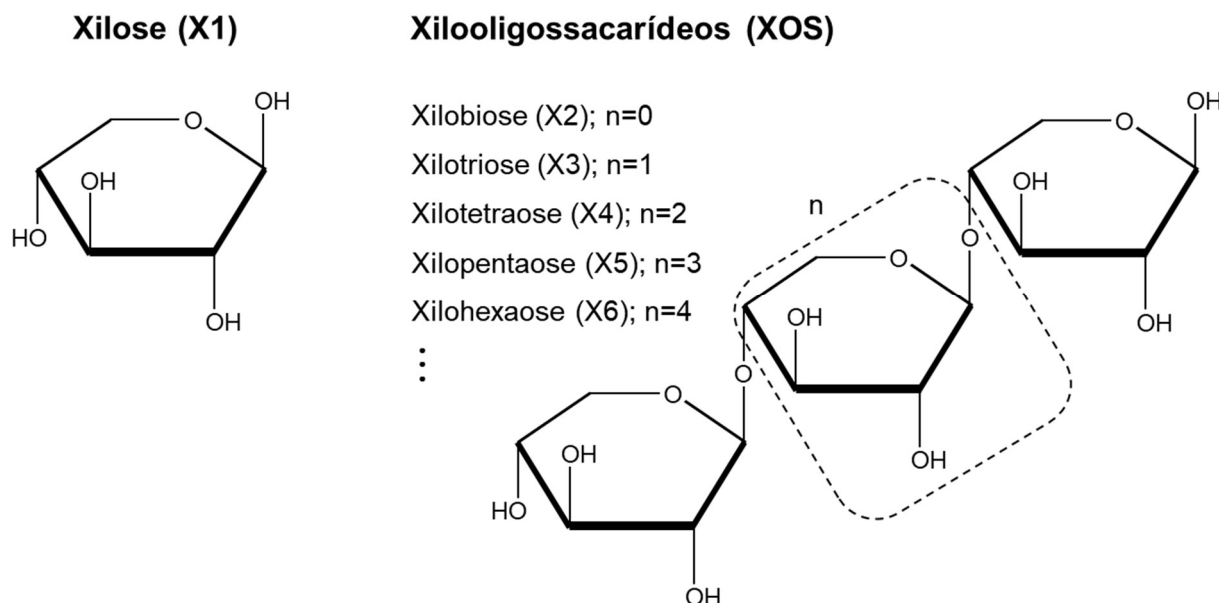
É importante considerar alguns aspectos estratégicos da agricultura brasileira antes de avaliar a disponibilidade da palha de cana-de-açúcar para aplicações desta biomassa. O primeiro aspecto é que cerca de 50% da palha é deixada no campo após a colheita para evitar a erosão, manter a umidade, controlar as ervas daninhas e preservar a microbiota do solo. O segundo aspecto é que a prática tradicional da queima da cana antes da colheita manual está praticamente extinta, graças a elaboração e aplicação de leis federais e estaduais específicas sobre o tema (FERREIRA-LEITÃO *et al.*, 2010; LEAL *et al.*, 2013).

Sobre a disponibilidade da palha, sabe-se que uma tonelada de cana processada gera cerca de 140 kg de palha e 140 kg de bagaço em base seca (SANTOS *et al.*, 2012). Isso significa que, na safra 2018-2019, foram geradas cerca de 87 milhões de toneladas de palha.

Sendo uma biomassa lignocelulósica de alta disponibilidade, a palha da cana-de-açúcar tem alto potencial para ser explorada como material renovável na produção de produtos de valor agregado. Neste trabalho, destaca-se o uso da fração hemicelulósica da palha da cana para a produção de XOS.

XILOOLIGOSSACARÍDEOS

Os XOS são polímeros constituídos por unidades de X1 que se ligam através de ligações β -1,4, conforme mostrado na **Figura 1-3**. As propriedades dos XOS dependem do seu grau de polimerização (QING *et al.*, 2013).

Figura 1-3: Estrutura química da xilose e dos xilooligossacarídeos.

Fonte: Autor, 2020.

Aplicações

Os XOS podem ser utilizados para uma ampla variedade de finalidades, desde o uso na agricultura e nutrição animal até a aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Uma possível aplicação dos XOS é na produção de bioetanol de 2ª geração e de bioprodutos, já que visa aproveitar as cadeias de pentoses presentes na fração hemicelulósica da palha de cana-de-açúcar. Este é um dos objetos de estudo da pesquisa temática “*An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks*”, projeto de parceria entre BBSRC e FAPESP (processo 2015/50612-8), ao qual a presente dissertação está integrada. Sabe-se que as leveduras usadas no processo industrial não são eficientes na metabolização e fermentação dos XOS, sendo necessário o desenvolvimento de leveduras geneticamente modificadas capazes de consumir os XOS e, desta maneira, viabilizar a produção de bioetanol de 2ª geração e de bioprodutos. A principal vantagem desta rota tecnológica seria a redução do risco de contaminação da fermentação já que não haveria disponibilidade de açúcares monoméricos para as leveduras fermentativas e bactérias contaminantes. Assim, os substratos seriam oligômeros específicos para as leveduras geneticamente modificadas. O pré-tratamento adequado da palha já foi investigado de forma a minimizar a formação de

compostos tóxicos e indesejados derivados da decomposição de açúcares e da lignina (BRENELLI *et al.*, 2020).

Quando aplicados na alimentação humana, uma propriedade importante dos XOS é seu potencial prebiótico, que se relaciona com a capacidade de resistirem à digestão e ação das enzimas da boca e do estômago, chegando intactos no intestino. Com isso, os XOS expressam seu potencial prebiótico e se tornam substrato para a proliferação de bactérias benéficas à saúde humana (como as bifidobactérias), além de inibirem o crescimento de bactérias patogênicas e putrefativas (MUSSATTO *et al.*, 2007). O potencial prebiótico dos XOS tem relação com seu grau de polimerização. Maiores potenciais prebióticos são observados em LMW XOS como a X2 e a X3, enquanto que menores potenciais prebióticos são associados aos HMW XOS como a X4, X5, X6 *etc.* (KARLSSON *et al.*, 2018). A inclusão dos XOS na alimentação humana beneficia a saúde em vários aspectos, dentre os quais podem ser citados: atividades antialérgicas; benefícios para a pele, sangue e sistema imunológico; bem como efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. Além disso, melhoram a função intestinal, a absorção de cálcio e o metabolismo lipídico, evitam cáries, protegem contra doenças cardiovasculares e reduzem o risco de desenvolvimento de câncer de cólon devido à formação de ácidos graxos de cadeia curta pelo metabolismo bacteriano (AACHARY *et al.*, 2009; GROOTAERT *et al.*, 2007).

Obtenção

A obtenção dos XOS a partir dos materiais lignocelulósicos pode ser realizada por diversas estratégias de pré-tratamento que, basicamente, visa solubilizar a fração hemicelulósica que contém a xilana (CARVALHO *et al.*, 2013; FARYAR *et al.*, 2015; VÁZQUEZ *et al.*, 2000). No caso da palha de cana-de-açúcar é importante que não haja a geração de impurezas indesejadas (açúcares monoméricos, ácidos orgânicos, compostos furânicos e fenólicos) que comprometam a fermentação dos XOS para produção do etanol de 2ª geração. Neste sentido, é proposta uma combinação de processos como a desacetilação e o pré-tratamento hidrotérmico, além de ser possível uma integração com a hidrólise enzimática (BRENELLI *et al.*, 2020).

Desacetilação e pré-tratamento hidrotérmico

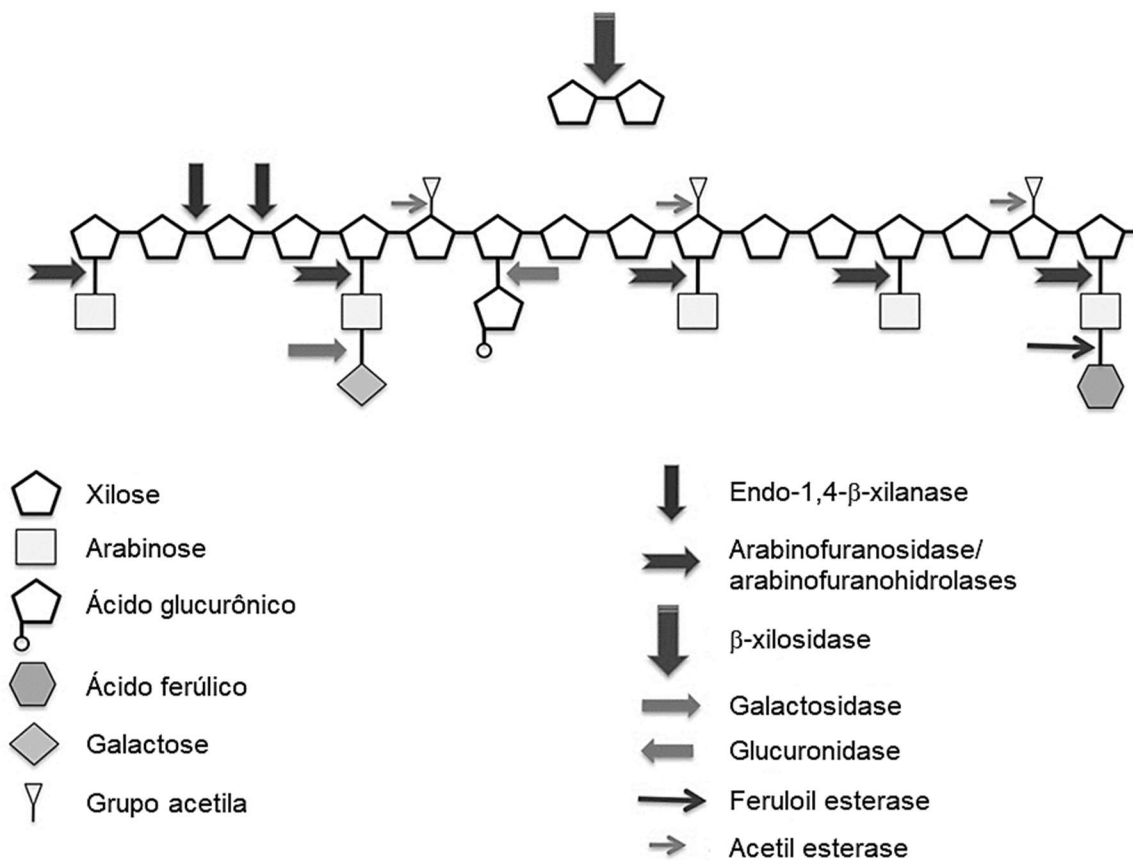
A desacetilação tem como objetivo a remoção dos grupos acetilas ligados diretamente a cadeia hemicelulósica da palha de cana-de-açúcar (Figura 1-4), utilizando baixas concentrações de hidróxido de sódio. A cadeia de xilana da palha de cana-de-açúcar é acetilada e pode causar a inibição de enzimas numa hidrólise enzimática ou comprometer o rendimento de fermentação dos XOS para produção de bioetanol de 2ª geração e de bioprodutos (BRENELLI *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2012).

O pré-tratamento hidrotérmico, também chamado de auto-hidrólise, consiste na solubilização da cadeia da xilana em alta temperatura e baixo pH proveniente da liberação de ácido acético na desacetilação. É possível desenvolver um processo de purificação a partir do pré-tratamento hidrotérmico ou ainda destinar a cadeia de xilana à hidrólise enzimática (AKPINAR *et al.*, 2007).

Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática utiliza enzimas produzidas por microrganismos como fungos e bactérias e, devido à alta seletividade para o substrato, minimiza a geração de subprodutos indesejáveis que comprometeriam uma eventual fermentação dos XOS para produção de bioetanol de 2ª geração e de bioprodutos (BHARDWAJ *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2006). No caso da palha de cana-de-açúcar, a hidrólise enzimática atua na estrutura da xilana (o principal componente da hemicelulose), que é formado por uma cadeia principal de unidades de xilose ligadas por ligações β -1,4 com vários grupos de ramificação, como acetil, arabinose, ácido glucurônico, ácido ferúlico e outros (MORAIS DE CARVALHO *et al.*, 2017). Devido à heterogeneidade dos grupos ramificados na xilana, sua hidrólise enzimática requer a ação de um complexo sistema de enzimas xilanolíticas, conforme mostrado na **Figura 1-4**.

Do ponto de vista da produção de XOS, a ação da β -xilosidase é indesejável, pois leva à hidrólise dos XOS formando X1, enquanto a endoxilanase (endo-1,4- β -xilanase) é altamente desejável para a formação de XOS distribuídos em faixas de diferentes graus de polimerização. A produção das enzimas pode ser realizada por fungos filamentosos, como por exemplo do gênero *Aspergillus* (CARVALHO *et al.*, 2013; SUNNA *et al.*, 2008).

Figura 1-4: Sítios da estrutura da xilana suscetíveis à ação enzimática.

Fonte: Adaptado e traduzido de SOUZA, 2014.

Fracionamento e purificação

Para o fracionamento e purificação dos XOS posterior aos pré-tratamentos, a tecnologia de membrana tem sido indicada como uma das unidades operacionais mais viáveis para a indústria de oligossacarídeos. A tecnologia de membrana requer baixa energia e permite fácil controle ou modificação dos principais parâmetros operacionais, como pressão, temperatura e taxa de fluxo de alimentação. Além disso, o aumento de escala direto é uma característica atrativa da filtração por membrana (CÓRDOVA *et al.*, 2016; PINELO *et al.*, 2009).

TECNOLOGIA DE MEMBRANAS

A tecnologia de membranas compreende o transporte de substâncias entre duas fases por meio de uma barreira física seletiva, promovendo assim a separação e/ou a concentração dessas substâncias nas fases. A força motriz para o transporte é

geralmente um gradiente de algum potencial como pressão, temperatura, concentração ou potencial elétrico. Devido ao transporte físico inerente, as membranas não requerem produtos químicos adicionais para apoiar o processo de separação e podem ser operadas sem aquecimento. Por isso, a tecnologia de membrana é mais econômica em termos energéticos quando comparada a outras tecnologias de separação convencionais como adsorção, destilação ou cristalização. A tendência pelos processos sustentáveis empregando estratégias de integração é uma realidade desafiadora na engenharia e as membranas podem atender totalmente esse apelo, sendo capazes de diminuir substancialmente o consumo de energia, a geração de resíduos e a relação do tamanho do equipamento por capacidade de produção (ZYDNEY, 1995).

Processos de membrana baseados em diferencial de pressão

Os processos de membrana baseados em diferencial de pressão consistem na aplicação de gradiente de pressão como força motriz para o transporte de massa através da membrana. A forma de operação e a interação das características estruturais da membrana com as substâncias das fases governam a eficiência de permeação e retenção (MULDER, 1991).

Configurações de fluxo

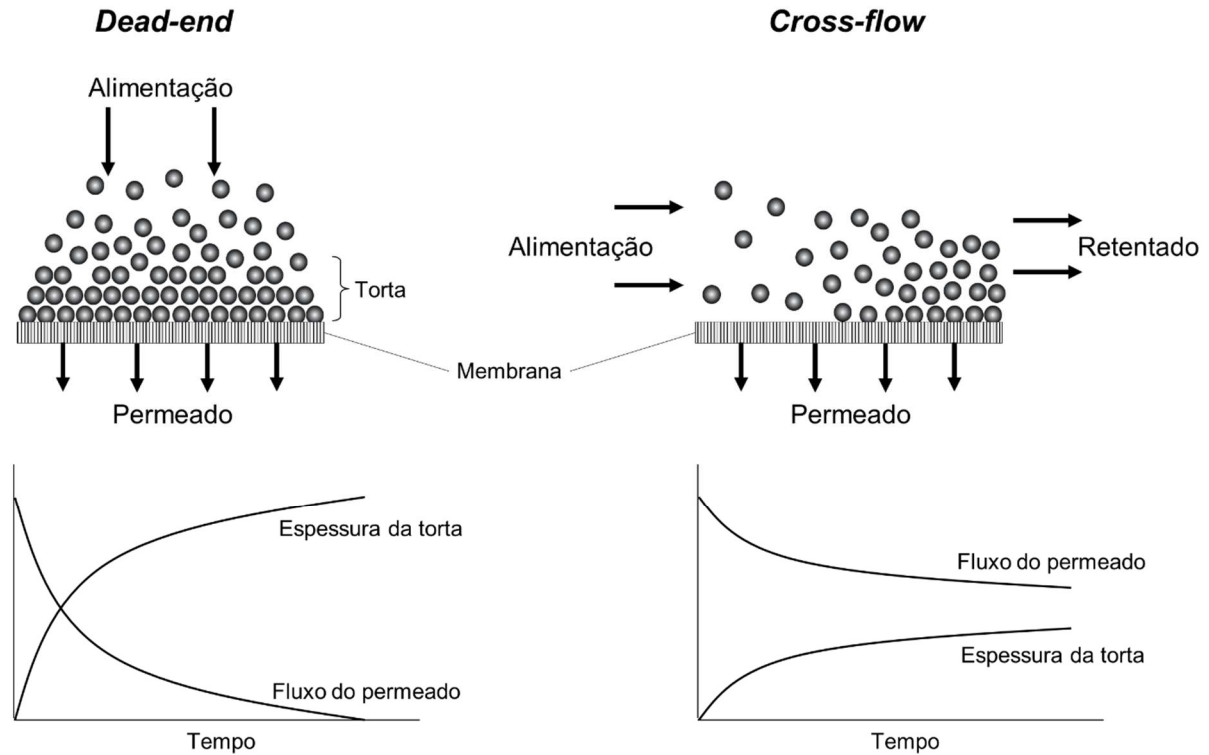
Os processos de membrana podem assumir as configurações de *dead-end* ou *cross-flow*, como mostrado na **Figura 1-5**.

Na configuração de *dead-end*, a fase flui perpendicularmente à superfície da membrana sem a recirculação do retido, o que aumenta a sedimentação na superfície da membrana. Essa filtração é relativamente mais fácil e menos custosa para implementar e operar, porém é altamente suscetível a incrustações e fenômenos de concentração de polarização e efeito *fouling*. Como consequência, a filtração *dead-end* requer a interrupção periódica do processo para limpar ou substituir a membrana (PINELO *et al.*, 2009).

Na configuração de *cross-flow*, a alimentação flui tangencialmente à superfície da membrana e então é dividida em duas correntes: o retentado que é recirculado podendo se misturar com a alimentação e o permeado que flui para o outro

lado. Essa filtração é relativamente mais difícil e mais custosa para implementar e operar, porém é menos suscetível a incrustações devido aos efeitos de varredura e altas taxas de cisalhamento do fluxo de passagem (PINELO *et al.*, 2009).

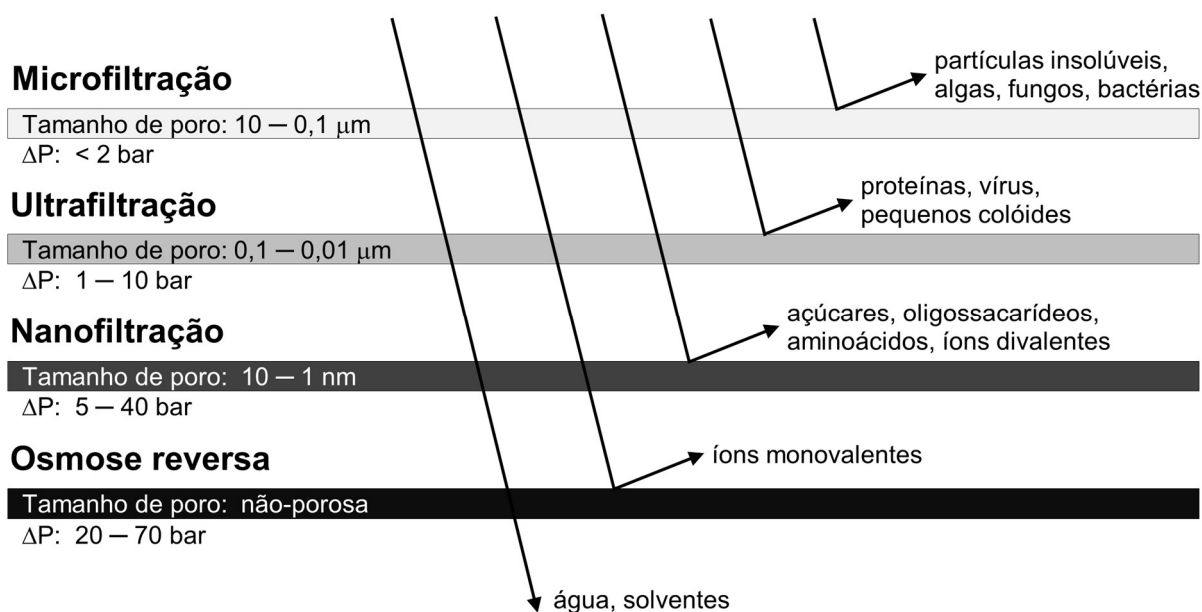
Figura 1-5: Configurações de fluxo em filtrações com membranas.



Fonte: Autor, 2020.

Classificação

Existem quatro tipos de processos de membrana baseados em diferencial de pressão: microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose reversa (RO). As pressões operacionais típicas empregadas e os tamanhos dos poros são mostrados na **Figura 1-6** para cada tipo de processo. O tamanho dos poros normalmente está relacionado à propriedade *molecular weight cut-off* (MWCO) que é geralmente informada pelos fabricantes de membranas. O MWCO é a massa molar da menor substância que é retida pela membrana com uma eficiência de pelo menos 90% (ZYDNEY, 1995).

Figura 1-6: Classificação de processos de membranas.

Fonte: Autor, 2020.

A MF opera em baixas pressões e é um meio de separação de compostos suspensos ou coloidais de grandes massas molares. As aplicações incluem separação de células de caldos de fermentação, fracionamento de proteínas do leite e clarificação de xarope de milho (MULDER, 1991).

A UF realiza uma separação seletiva e é usada para concentrar e purificar componentes de massas molares médias a altas como proteínas de plantas e laticínios, carboidratos e enzimas. Algumas aplicações incluem a concentração de proteína de soro de leite, remoção de cinzas e concentração da gelatina e clarificação de sucos de frutas (MULDER, 1991).

A NF é um processo de filtração entre a UF e a RO projetada para alcançar a separação altamente específica de compostos de baixas massas molares como sacarídeos, sais e minerais. As aplicações típicas incluem remoção de cinzas de laticínios, recuperação de proteínas hidrolisadas, concentração de açúcares e purificação de corantes e pigmentos solúveis (MULDER, 1991).

A RO opera em altas pressões e é um meio eficiente de separação de compostos de baixas massas molares. É um processo eficiente em termos de energia e espaço ocupado por produtividade. As aplicações comuns incluem pré-concentração de laticínios ou alimentos antes da evaporação, polimento do condensado do evaporador e purificação de água do processo (MULDER, 1991).

Concentração de polarização e efeito *fouling*

Os processos de membrana baseados em diferencial de pressão promovem a retenção parcial ou total de substâncias através das fases que fluem através da membrana. O acúmulo de substâncias numa camada fina adjacente à superfície da membrana gera um gradiente com maior concentração local que gera um fluxo difusivo de substâncias de volta ao volume de alimentação. O acúmulo de substâncias continua até atingir um equilíbrio entre o fluxo convectivo e difusivo das substâncias. Esse acúmulo reversível de substâncias rejeitadas próximo à superfície da membrana é um fenômeno conhecido como concentração de polarização. O fenômeno está fortemente relacionado ao aumento da pressão osmótica, aumento da resistência à permeação e susceptibilidade à incrustação sendo, portanto, responsável pelo declínio do fluxo observado em muitos processos de filtração. As propriedades de separação pela membrana podem ser afetadas já que variações de carga também podem aparecer na superfície. O efeito de concentração de polarização pode ser reduzido com a mistura adequada da solução próxima à superfície da membrana. Quando a incrustação dos poros da membrana é irreversível, o fenômeno é chamado de efeito *fouling*. O *fouling* reduz consideravelmente o desempenho das membranas uma vez que as substâncias suspensas ou dissolvidas bloqueiam a passagem das fases. O *fouling* é influenciado principalmente por três fatores: as propriedades do material da membrana, as características da solução de alimentação e as condições operacionais (CUI *et al.*, 2010).

CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO

Este capítulo reproduz o artigo científico que foi aceito para publicação no periódico *Separation and Purification Technology* sob o título “*A serial membrane-based process for fractionation of xylooligosaccharides from sugarcane straw hydrolysate*”. Foi um dos objetos de estudo da pesquisa temática “*An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks*” da *Biotechnology and Biological Sciences Research Council* (BBSRC) em parceria com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo processo 2015/50612-8.

A contextualização do artigo diz respeito aos xilooligossacarídeos (XOS), que podem ser obtidos a partir do licor hidrolisado de palha de cana-de-açúcar (SSHL) após pré-tratamento por desacetilação seguido de processo hidrotérmico. O fracionamento de XOS de baixas massas molares (LMW XOS), como xilobiose (X2) e xilotriose (X3), dos XOS de altas massas molares (HMW XOS), como xilotetraose (X4), xilopentaose (X5) e xilohexaose (X6) é um desafio a ser superado no SSLH para aplicações biotecnológicas ou aplicações de alimentos funcionais com potencial prebiótico. Assim, foi proposta e investigada a tecnologia de nanofiltração (NF) de membranas configurada como um processo em série para fracionamento de XOS do SSLH para isolar LMW XOS.

Os experimentos desenvolvidos e principais resultados obtidos envolveram quatro membranas candidatas (NP010, NP030, XN45 e TS40). Essas membranas variaram em *molecular weight cut-off* (MWCO) e materiais poliméricos de composição. A facilidade de obtenção das membranas no mercado também foi considerada e, além disso, vale ressaltar também que sistemas de membranas são diretamente escalonáveis, fazendo com que a aplicação das membranas candidatas pudesse ser transferida para outros estudos futuros. A seleção de duas membranas confirmou: a primeira membrana selecionada foi a NP030 (material de polietersulfona com MWCO de 500-600 Da) e a segunda foi a TS40 (material de polipiperazina com MWCO de 200-300 Da).

Em seguida, as membranas selecionadas foram otimizadas operacionalmente para a pressão, a temperatura e o pH: as melhores condições encontradas para a NP030 foram 40 bar, 20 °C e pH 4,6 com o objetivo de aumento da rejeição de HMW XOS, enquanto as melhores condições encontradas para a TS40 foram 20 bar, 50 °C e pH 4,6 com o objetivo de aumento da rejeição de LMW XOS e diminuição da rejeição de xilose (X1).

Finalmente, a operação de diafiltração (DF) foi investigada e verificou-se que 1 DF em cada membrana pôde melhorar os índices de desempenho para LMW XOS no processo, atingindo valores finais de 3,7 g/L de concentração, 20,9% de pureza e 46,0% de rendimento.

Este estudo trouxe grande contribuição para o fracionamento de XOS utilizando a tecnologia de membranas NF, principalmente devido ao protocolo de investigação da influência do DF.

Dentre os principais desafios enfrentados na condução deste estudo, com certeza as dificuldades impostas pela pandemia de COVID-19 se destacaram: houve atrasos para recebimento das membranas importadas, barreiras para realização dos experimentos de forma presencial nos laboratórios e limitações no escopo originalmente planejado. É importante registrar que a viabilidade para continuidade do estudo foi possível devido uma coordenação efetiva dentro de regras estabelecidas pela Faculdade de Engenharia Química (FEQ) e Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Os últimos tempos têm exigido resiliência, flexibilidade e empatia com momentos oportunos para preciosas reflexões. Mas, infelizmente, tristes e evitáveis perdas têm ocorrido em números assombrosos. Por isso, total solidariedade às famílias e amigos das mais de 533.488 vítimas da COVID-19 registradas no Brasil até o dia 12 de Julho de 2021. Que venham dias mais claros para todos, sempre guiados sob a luz da Ciência!

A serial membrane-based process for fractionation of xylooligosaccharides from sugarcane straw hydrolysate

¹Murilo Gonçalves de Oliveira, ²Marcus Bruno Soares Forte, ³Telma Teixeira Franco.

¹*School of Chemical Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Brazil – murilo.mgo@gmail.com*

²*School of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP), Brazil – forte@unicamp.br*

³*Interdisciplinary Center for Energy Planning (NIPE), University of Campinas (UNICAMP), Brazil – tfranco@unicamp.br*

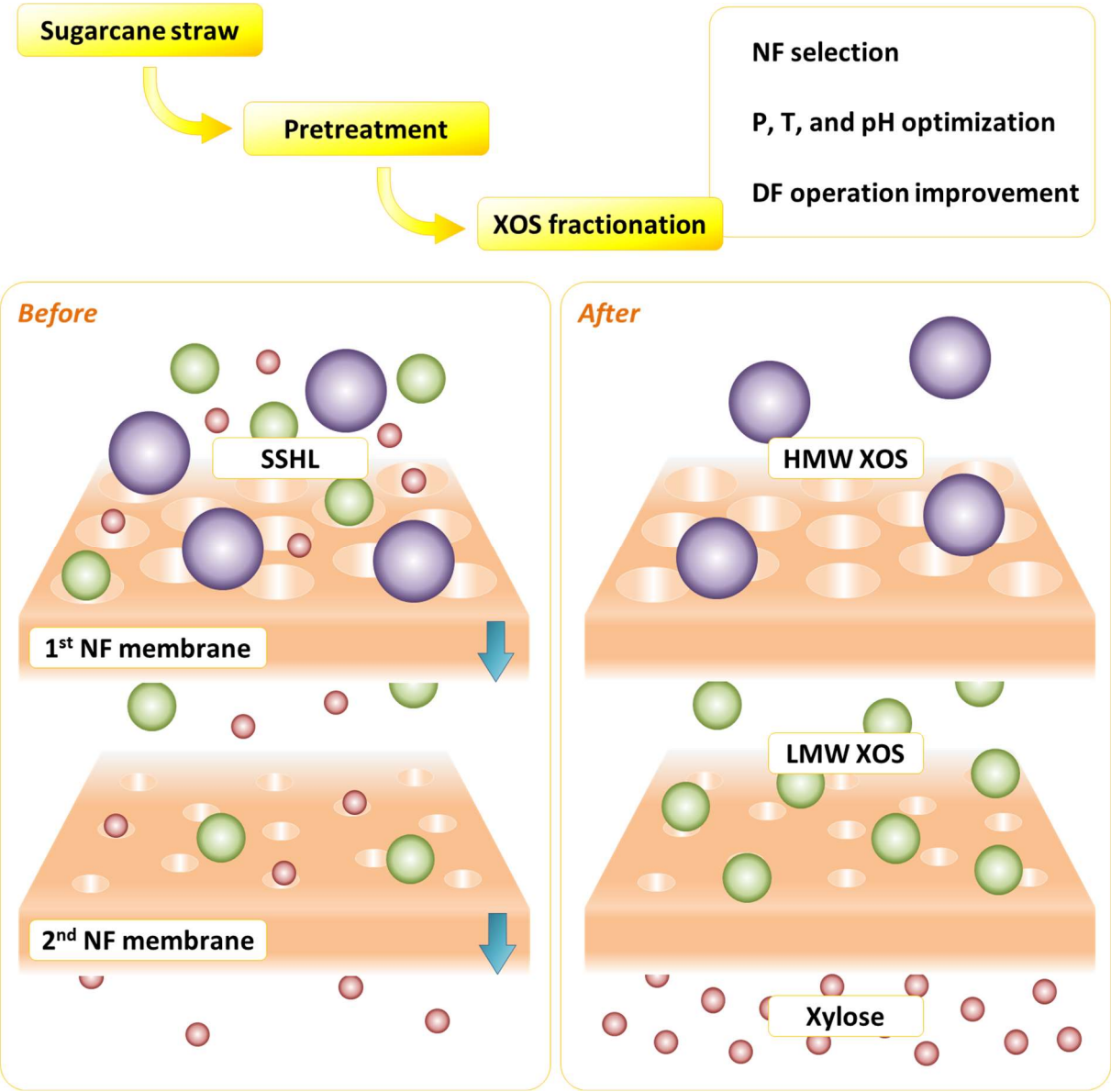
ABSTRACT

Xylooligosaccharides (XOS) can be obtained from sugarcane straw hydrolyzed liquor (SSHL) after pre-treatment by deacetylation followed by hydrothermal process. The fractionation of low molecular weight XOS (LMW XOS) such as xylobiose (X2) and xylotriose (X3) from high molecular weight XOS (HMW XOS) such as xylotetraose (X4), xylopentaose (X5), and xylohexaose (X6) is a challenge to be overcome in SSHL for either biotechnological applications or functional foods applications with prebiotic potential. In this study, we proposed and investigated the nanofiltration (NF) membranes technology configured as a serial process for XOS fractionation from SSHL to isolate LMW XOS. In our findings, the first membrane selected was NP030 (polyethersulfone material with MWCO of 500-600 Da) and the second one was TS40 (polypiperazine material with MWCO of 200-300 Da). Then, the selected membranes were operationally optimized for pressure, temperature, and pH: target in NP030 was for increasing the HMW XOS rejection with its best conditions under 40 bar, 20 °C, and pH 4.6, while targets in TS40 were for increasing the LMW XOS rejection and decreasing the xylose (X1) rejection with its best conditions under 20 bar, 50 °C, and pH 4.6. Finally, the operation of diafiltration (DF) was investigated and it was found that 1-time DF in each membrane could improve the performance indices for LMW XOS in the serial membrane-based process, achieving final values of 3.7 g/L of concentration, 20.9% purity, and 46.0% yield. This study brought great contribution to XOS fractionation using NF membranes technology, mainly due to the protocol of investigating DF influence.

Keywords: Xylooligosaccharides; Fractionation; Sugarcane straw; Nanofiltration; Diafiltration; Biomass.

Highlights: Evaluation of diafiltration operation mode in the performance of a serial membrane-based process for xylooligosaccharides fractionation.

GRAPHICAL ABSTRACT



INTRODUCTION

Xylooligosaccharides (XOS) are saccharide oligomers generally containing 2–10 linked xylose monomers (X1) that can be extracted from lignocellulosic materials such as sugarcane straw. Low molecular weight xylooligosaccharides (LMW XOS), comprising xylobiose (X2) and xylotriose (X3), have been studied for biotechnological applications or due to their likely high prebiotic potential: functional food with the capacity to reach the intestine without being degraded by mouth and stomach enzymes, inducing the growth of beneficial bacteria that promote a wide variety of health benefits. Otherwise, high molecular weight xylooligosaccharides (HMW XOS), comprising xylotetraose (X4), xylopentaose (X5), and xylohexaose (X6), show possibilities for applications in the food industry as stabilizer, thickener, emulsifier, and even functional food. Superior molecular weight XOS (xyloheptaose, xylooctaose, and so on) can share similar HMW XOS applications, but they were neither addressed nor even quantified in this study (KARLSSON *et al.*, 2018; ZUBIETA *et al.*, 2020).

XOS isolation from sugarcane straw was proposed in mild deacetylation followed by hydrothermal pretreatment process (BRENELLI *et al.*, 2020), generating, as output, sugarcane straw hydrolyzed liquor (SSHL). However, XOS fractionation from SSLH is hindered by the usual purification challenges: the common stages of downstream process result in highly complex process design, high consumption of chemicals and considerable environmental impacts (VORAGEN, 1998; AKPINAR *et al.*, 2007). Thus, the diversification of alternative downstream process is a key factor for LMW XOS fractionation.

Among the purification strategies, the membrane-based technology has been pointed out as a feasible alternative due to its energy-saving, high-efficiency, and environmental-friendly properties (PINELO *et al.*, 2009). Naturally, there are several studies that already explored the possibilities of membrane technology applications, such as: recovery of polyphenols and their derivatives of different molecular weight by tight ultrafiltration and nanofiltration (NF) membranes (CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2016; CASSANO *et al.*, 2018); wastewaters valorization by microfiltration (MF) and UF integration (CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2015; CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2016); recovery of several molecules from fermentation broths (DÍAZ-MONTES *et al.*, 2019); purification of anthocyanins from red cabbage and fractionation of natural extracts (CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2018; VALENCIA-ARREDONDO *et al.*, 2020); assisting

plant-based agro-food by-products processing (CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2020); extraction and purification of natural sweeteners (CASTRO-MUÑOZ *et al.*, 2020; DÍAZ-MONTES *et al.*, 2020).

Specifically for XOS, studies for membrane-based applications are limited in the literature, however some authors already explored the serial membrane-based fractionation of XOS from different sources such as cotton stalks and almond shells (AKPINAR *et al.*, 2007; SINGH *et al.*, 2019). Also, it is possible to find some interesting publications that describe the processing of liquors resulting from hydrolytic treatment followed by enzymatic reaction. For example, membranes were applied to XOS obtained from enzymatic hydrolysis or autohydrolysis of xylan-containing materials (VEGAS *et al.*, 2006). Also, XOS obtained by enzymatic hydrolysis of xylan from steamed corn cobs were concentrated and fractionated by sequential membrane steps in a multistage purification process (YUAN *et al.*, 2004).

Other oligosaccharides have been studied in membrane-based process, such as: extraction of galactooligosaccharides from a mixture containing galactose with yield of 70.0% and purity of 54.5% (FENG *et al.*, 2009; CÓRDOVA *et al.*, 2016); fructooligosaccharides were purified from a mixture of monosaccharides and concentrated up to 80% (KUHN *et al.*, 2011); separation of pectate oligosaccharides (IWASAKI *et al.*, 2000); filtration of starch hydrolysates (SLOMINSKA *et al.*, 2004); extraction of soybean oligosaccharides with yield of 83.2% and purity of 77.9% (LI *et al.*, 2018); membrane-reaction with 80% of conversion in desired chitooligosaccharides (JEON *et al.*, 2000).

These examples, therefore, show the important recognition that oligosaccharides like the XOS have the potential to be applied in NF membranes for fractionation and purification of desired specific size molecules. The common point between literature studies is that they agree that nanofiltration performance can be affected by characteristics of either membranes or oligosaccharides. Membranes characteristics reflect on surfaces phenomena and XOS characteristics reflect on separation capability, since they interacted to the membranes surface: structure, branched chains, solubility, molecular weight are major factors of influence (PINELO *et al.*, 2009).

Important highlight in this present work was the attention to the diafiltration (DF) operation which is the addition of a solvent (usually water) to the feed tank for concentration of a product in the retentate side or recovery in the permeate side. This

approach was a strategy to improve the performance of either concentration or recovery for LMW XOS. Hopefully, DF is expected to be widely applied in future membrane-based studies since it is quite simple operation with remarkable results. Some recent studies already evaluated the benefits of DF operation, for example, in the extraction of dextran (DÍAZ-MONTES et al., 2020).

Thus, this work aimed to evaluate a serial membrane-based process for XOS fractionation from SSHL, obtaining LMW XOS. NF membranes were firstly selected considering their molecular weight cut-off (MWCO) and their potential for XOS fractionation. Then, the operational conditions (pressure, temperature, and pH) of selected membranes were optimized for maximizing XOS fractionation. Finally, the diafiltration (DF) operation was investigated in XOS fractionation system to improve performance indices for LMW XOS (concentration, purity, and yield).

MATERIALS AND METHODS

SUGARCANE STRAW HYDROLYZED LIQUOR

SSHL was prepared according detailed protocol (BRENELLI *et al.*, 2020) in a pilot plant at the Brazilian Biorenewables National Laboratory (LNBR) using dried leaves and green tops of sugarcane plant, especially as part of the research activities of the BBSRC/FAPESP project through process 2015/50612-8. Biomass moisture was adjusted to 10% by air drying, then it was hammer-milled to particle size of about 1 cm² area with 1 mm thickness. For deacetylation, a jacket-heated agitated reactor with 350 L capacity was used. The reactor was loaded with 200 L of water and 20 kg of biomass (dry basis), then NaOH solution was added until reaching a solid per liquid ratio of 1:10. The reactor content was kept at 60 °C for 30 min. Afterwards, the reactor content was unloaded and separated by cloth filtration (Nutsche filter) into two fractions: the lignin-rich soluble liquor (liquid fraction) and the deacetylated straw (solid fraction) which was rinsed until washing water reached pH 7. For hydrothermal pretreatment, the reactor was loaded with the deacetylated straw and water was added until reaching a solid per liquid ratio of 1:10. The reactor content was heated and kept at 190 °C for 20 min. Afterwards, the reactor content was unloaded and separated by cloth filtration (Nutsche filter) into two fractions: cellulignin (solid fraction) and the SSHL (liquid fraction) containing impurities and XOS of several degree of polymerization. The SSHL was centrifuged during 20 minutes under 20,000 G-force to separate suspended solids.

ANALYTICAL METHODS

Xylose and xylooligosaccharides quantification

A high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) for X1 and XOS quantification was used through a Dionex ICS 3000 instrument from Thermo Fisher Scientific® (United States) with a CarboPac PA100 column (4 x 250 mm) and a CarboPac PA100 guard column (4 x 50 mm). Buffer A (NaOH 500 mmol.L⁻¹), B (NaOAc 500 mmol.L⁻¹; NaOH 80

mmol.L⁻¹) and C (H₂O) were used as eluents with 1.0 mL.min⁻¹ flow rate. The gradient program was: 15% of A, 2% of B and 83% of C from 0 to 10 min; 15-50% of A, 2-20% of B and 83-30% of C from 10 to 20 min. X1 and XOS concentrations were calculated according to a calibration curve constructed with external standards of X1, X2, X3, X4, X5 and X6 purchased from either Sigma-Aldrich® (United States) or Megazyme® (Ireland).

Total solids content

Total solids was obtained by:

$$TS = \left(\frac{m_{final}}{m_{initial}} \right) 100\% \quad (1)$$

Where, TS is the total solids content in sample (%);

m_{final} is the weight of sample after 3 hours under 105 °C (g);

$m_{initial}$ is the initial weight of sample (g).

EXPERIMENTAL PROCEDURE

The XOS fractionation strategy is shown in **Figure 2-1**. SSHL is applied as feed solution to a 1st NF membrane retaining HMW XOS while permeating LMW XOS and X1. Then, the permeate from 1st NF membrane is applied as feed solution to a 2nd NF membrane, retaining LMW XOS while permeating X1.

For the experiments, NF membranes were purchased from Microdyn-Nadir® (Germany) and their material and MWCO information are shown in **Table 2-1**. The NF membranes were submitted in an experimental device according to **Figure 2-2**. This device was composed by a high-pressure jacket-heated vessel under agitation of 400 rpm with effective membrane area of 15.2 cm². Initial volume of feed solution was 130 mL with volume reduction ratio (VRR) of 4 times (final collected volumes: 97.5 mL of permeate and 32.5 mL of retentate). Composition of HMW XOS (C_H), LMW XOS (C_L) and X1 (C_{X1}) were determined for feed solution and permeate. Operational condition

values of P , T , and pH depended on each evaluation step (selection, optimization, or improvement).

Three main evaluation steps were followed in this work: the first step was the selection of 1st and 2nd NF membranes with potential for XOS fractionation according to the proposed strategy; the second step was the optimization of the operational conditions such as pressure (P), temperature (T), and pH in order to maximize XOS fractionation under the previously selected NF membranes; the third step was the improvement of serial XOS fractionation system with the investigation on DF operation to increase the performance indices such as LMW XOS concentration, LMW XOS purity, LMW XOS purification factor, and LMW XOS yield.

Figure 2-1: Schematic strategy for serial XOS fractionation.

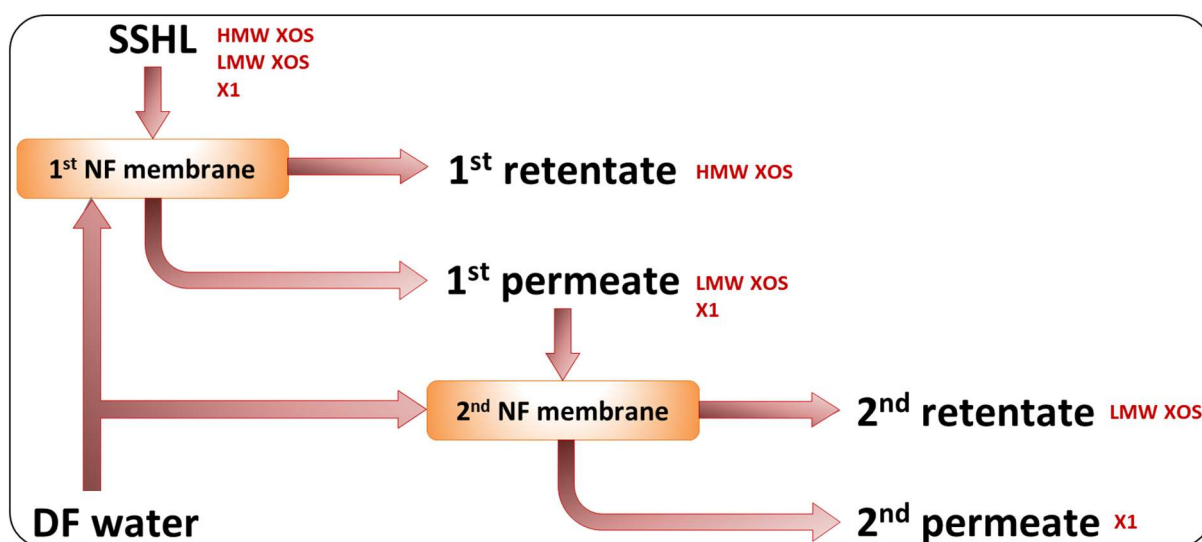
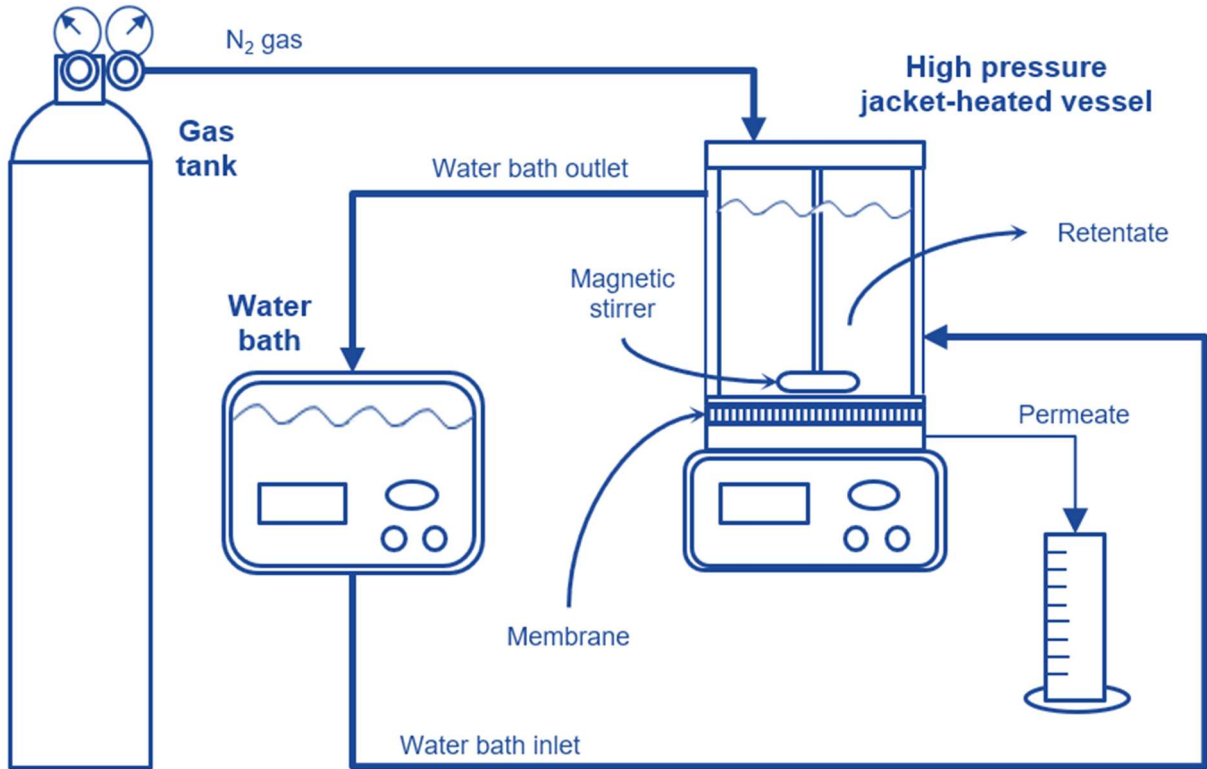


Table 2-1: NF membranes.

Membrane	Material	MWCO (Da)
NP010	Polyethersulfone	1000 – 1200
NP030	Polyethersulfone	500 – 600
XN45	Polypiperazine amide	300 – 500
TS40	Polypiperazine amide	200 – 300

Figure 2-2: Experimental device for tests with the NF membranes.

Selection step

The NF membranes from **Table 2-1** were submitted to the experimental device from **Figure 2-2**. The SSHL was applied as feed solution under fixed operational conditions of P (30 bar), T (35 °C) and intrinsic pH (4.6).

As evaluation criteria in each NF membrane, it was considered the rejection coefficients responses of HMW XOS (R_H), LMW XOS (R_L), and X1 (R_{X1}). The targets in 1st NF membrane were higher R_H with lower R_L and R_{X1} values, while in 2nd NF membrane were higher R_H and R_L with lower R_{X1} values. Additionally, the permeate flux (J_p) was verified in each NF membrane.

Rejection coefficient was calculated by (RAO, 2009):

$$R_i = \left(1 - \frac{C_{i,p}}{C_{i,fb}} \right) 100\% \quad (2)$$

Where, R_i is the rejection coefficient of i (%);

$C_{i,p}$ is the concentration of i in permeate (g.L^{-1});

$C_{i,fb}$ is the concentration of i in bulk of feed side (g.L^{-1}).

Permeate flux was calculated by:

$$J_p = \frac{\Delta V_p}{A_m \Delta t} \quad (3)$$

Where, J_p is the permeate flux ($\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$);

A_m is the effective membrane area (m^2);

ΔV_p is the volume permeated (L);

Δt is the interval of time (h).

Optimization step

The previously selected NF membranes were submitted to the device from **Figure 2-2**. The SSL was applied as feed solution for 1st NF membrane, while permeate of 1st NF membrane was applied as feed solution for 2nd NF membrane. According to a central composite rotatable design (CCRD) based on a design of experiments (DOE), shown in **Table 2-2**, different operational conditions of P , T , and pH were applied under 17 runs (8 factorial points, 6 axial points, and 3 center points).

Table 2-2: CCRD based on DOE for 1st and 2nd membranes.

Independent variable	Symbol	Coded levels				
		$-\alpha$	-1	0	$+1$	$+\alpha$
Pressure P (bar)	x_1	20	24	30	36	40*
Temperature T (°C)	x_2	20	26	35	44	50
pH^{**}	x_3	4.0	4.6	5.5	6.4	7.0

*Maximum pressure allowed by experimental device.

$\alpha = 1.68$

**Adjustment performed with either H_2SO_4 or NaOH (1 mol.L^{-1}).

As evaluation criteria in each NF membrane run, it was considered the R_{X1} (response Y_1), R_L (response Y_2), R_H (response Y_3) and J_p (response Y_4) to develop a full quadratic model by a regression analysis with support of online software Protimiza Experimental Design (<http://experimental-design.protimiza.com.br>). The model fit was

tested by analysis of variance (ANOVA) with 5% as level of significance. The targets in 1st NF membrane were higher R_H and J_p with lower R_L and R_{X1} values, while in 2nd NF membrane were higher R_H , R_L and J_p with lower R_{X1} values. Then, 3-D graphic surface and 2-D graphic contour were plotted to verify the optimal point (RODRIGUES *et al.*, 2014).

The full quadratic model was considered as:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} x_i x_j \quad (4)$$

Where, Y is the calculated response R_H , R_L , R_{X1} or J_p ;

x_1 , x_2 , x_3 , $x_1 x_2$, $x_2 x_3$, $x_1 x_3$, x_1^2 , x_2^2 and x_3^2 are the factors of the coded independent variables P , T and pH ;

β_0 is the intercept or independent term;

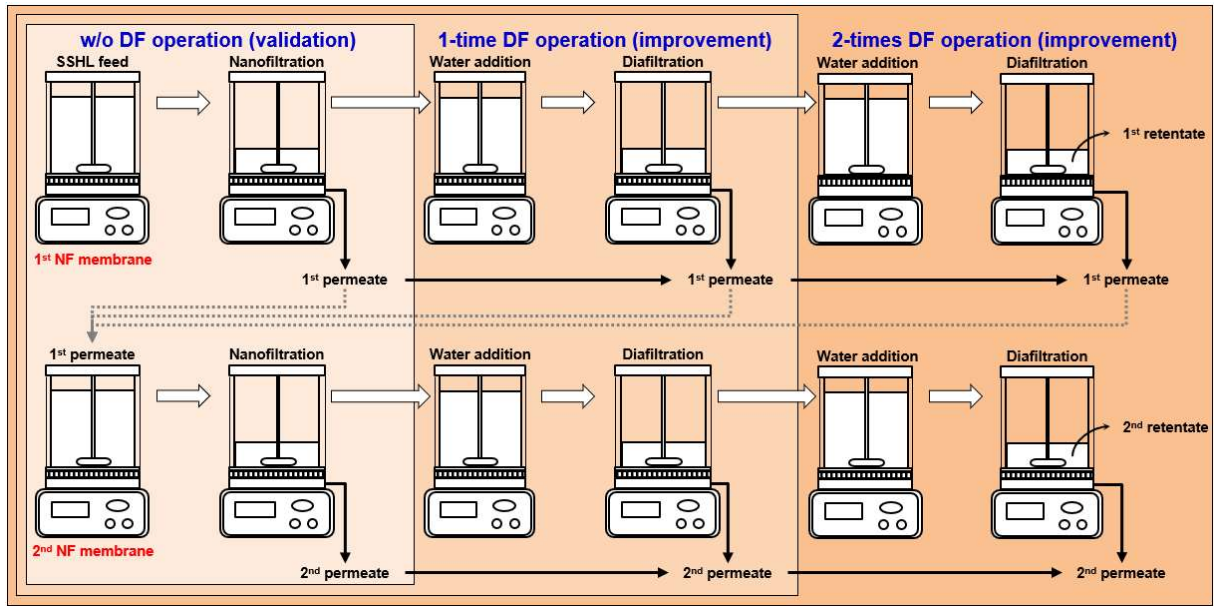
β_1 , β_2 and β_3 are the linear terms;

β_{12} , β_{23} and β_{13} are the interaction terms;

β_{11} , β_{22} and β_{33} are the quadratic terms.

Improvement step

The previously selected NF membranes, under optimized operational conditions of P , T and pH , were submitted to the device from **Figure 2-2**. The SSHL was applied as feed solution for 1st NF membrane, while permeate of 1st NF membrane was applied as feed solution for 2nd NF membrane. An investigation on DF operation, shown in **Figure 2-3**, was conducted in XOS fractionation system by three scenarios: without DF operation (validation for optimized operational conditions); 1-time and 2-times DF operation (improvement for XOS fractionation system) with DF ratio of 1 retentate volume per 1 added water volume in both cases.

Figure 2-3: Improvement of XOS fractionation system.

As evaluation criteria, it was considered the performance indices such as LMW XOS concentration (C_L), LMW XOS purity (P_L), LMW XOS purification factor (PF_L), and LMW XOS yield (Y_L).

Yield was calculated by:

$$Y_L = \left(\frac{m_L}{m_{L,SSH L}} \right) 100\% \quad (5)$$

Where, Y_L is the yield for LMW XOS (%);

m_L is the total weight of LMW XOS in sample (g);

$m_{L,SSH L}$ is the total weight of LMW XOS in SSHL (g)

Purity was calculated by:

$$P_L = \left(\frac{m_L}{m_{solids}} \right) 100\% \quad (6)$$

Where, P_L is the purity for LMW XOS (%);

m_L is the total weight of LMW XOS (g);

m_{solids} is the total weight of solids (g).

Purification factor was calculated by:

$$PF_L = \left(\frac{P_L}{P_{L,SSH L}} \right) \quad (7)$$

Where, PF_L is the purification factor for LMW XOS;

P_L is the purity for LMW XOS (%);

$P_{L,SSH L}$ is the purity for LMW XOS in SSHL (%).

RESULTS AND DISCUSSION

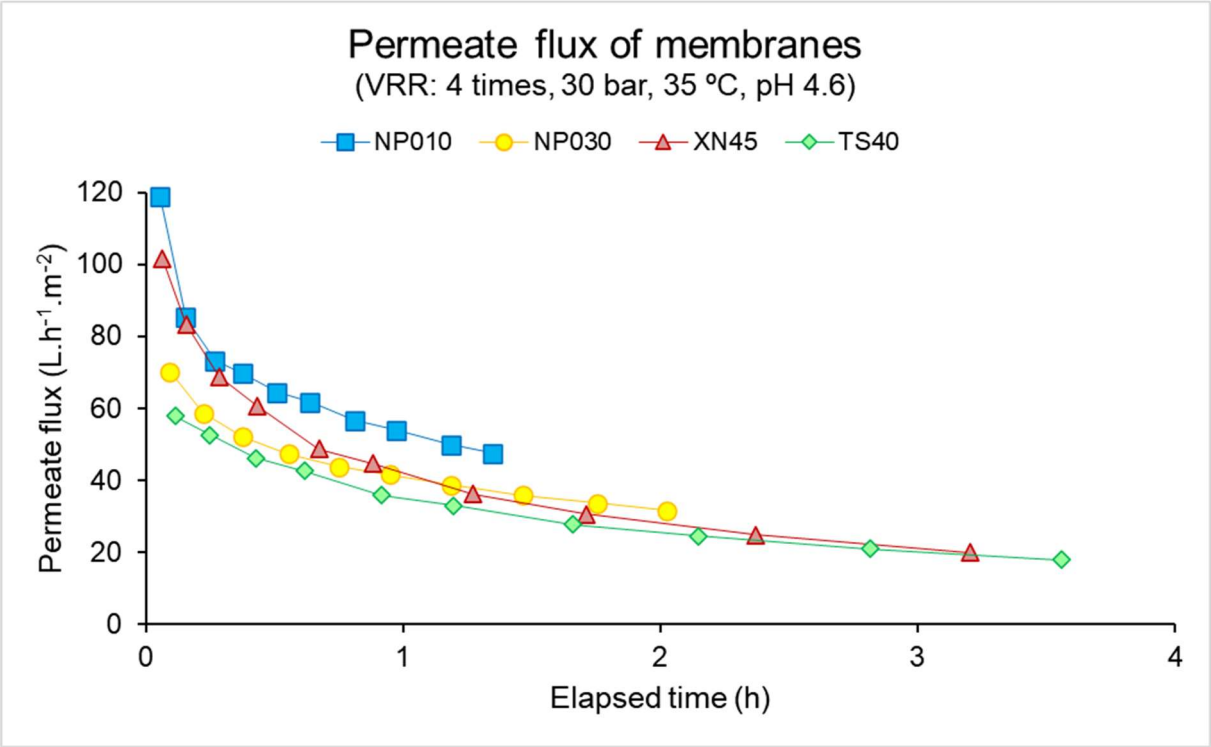
MEMBRANES SELECTION

Initially, the best NF membranes were selected to potentially fractionate and purify XOS by testing specific parameters such as rejection coefficients and permeate flux, shown in **Table 2-3** and **Figure 2-4**.

Table 2-3: Rejection coefficients and permeate flux for NF membrane types.

Item	NF membrane type			
	NP010	NP030	XN45	TS40
R_{X1} (%)	7.1	12.9	22.1	47.0
R_L (%)	13.3	30.4	62.3	88.8
R_H (%)	49.7	89.3	99.0	99.7
J_p (L.h ⁻¹ .m ⁻²)	47.5	31.7	20.0	18.0

Figure 2-4: Permeate flux for each NF membrane type.



The 1st NF membrane was selected as NP030 type considering the higher R_H with lower R_L and R_{X1} results, while the 2nd NF membrane was selected as TS40 considering the higher R_H and R_L with lower R_{X1} results. Permeate flux results showed a proportional trend with pore size of each NF membrane type.

OPERATIONAL CONDITIONS OPTIMIZATION

NP030 (1st NF membrane)

The DOE-based CCRD responses for rejection coefficients and permeate flux of 1st NF membrane are shown in **Table 2-4**.

Table 2-4: Average permeate flux and rejection coefficients for CCRD of NP030.

Run	Independent variables			Responses			
	P in bar (x_1)	T in °C (x_2)	pH (x_3)	Y_1 R_{X1} (%)	Y_2 R_L (%)	Y_3 R_H (%)	Y_4 J_p (L.h ⁻¹ .m ⁻²)
1	24 (-1)	26 (-1)	4.6 (-1)	8.3	25.6	97.0	14.3
2	36 (+1)	26 (-1)	4.6 (-1)	14.0	23.5	97.6	28.3
3	24 (-1)	44 (+1)	4.6 (-1)	12.3	26.7	92.7	29.9
4	36 (+1)	44 (+1)	4.6 (-1)	10.0	25.4	94.2	57.0
5	24 (-1)	26 (-1)	6.4 (+1)	10.6	21.5	94.8	14.3
6	36 (+1)	26 (-1)	6.4 (+1)	8.3	29.8	95.9	28.1
7	24 (-1)	44 (+1)	6.4 (+1)	7.7	26.7	90.7	31.1
8	36 (+1)	44 (+1)	6.4 (+1)	11.2	24.2	91.4	56.9
9	20 (- α)	35 (0)	5.5 (0)	11.7	24.9	92.8	15.8
10	40 (+ α)	35 (0)	5.5 (0)	12.9	27.6	95.1	49.4
11	30 (0)	20 (- α)	5.5 (0)	12.9	26.0	97.7	15.5
12	30 (0)	50 (+ α)	5.5 (0)	3.9	25.1	90.6	52.2
13	30 (0)	35 (0)	4.0 (- α)	6.5	27.6	96.5	32.1
14	30 (0)	35 (0)	7.0 (+ α)	10.0	24.4	90.8	32.6
15	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	7.7	28.3	94.7	31.0
16	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	7.7	25.1	95.1	31.5
17	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	11.2	24.9	94.9	31.5

Regression for R_{X1} is shown in **Table 2-5**. All coefficients showed p-values higher than 5%; therefore, ANOVA was not evaluated because there was no mathematical model to be fitted to the experimental data.

Table 2-5: Regression for R_{X1} of NP030.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	8.8	1.807	4.885	< 0.002
x_1	0.5	0.849	0.571	0.586
x_1^2	1.3	0.934	1.443	0.192
x_2	-1.1	0.849	-1.306	0.233
x_2^2	0.0	0.934	-0.033	0.974
x_3	-0.1	0.849	-0.079	0.939
x_3^2	-0.1	0.934	-0.090	0.931
x_1x_2	-0.3	1.109	-0.248	0.811
x_1x_3	-0.3	1.109	-0.248	0.811
x_2x_3	0,0	1.109	0.000	1.000

Regression for R_L is shown in **Table 2-6**. All coefficients showed p-values higher than 5%; therefore, ANOVA was not evaluated because there was no mathematical model to be fitted to the experimental data.

Table 2-6: Regression for R_L of NP030.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	26.1	1.207	21.644	< 0.001
x_1	0.5	0.567	0.896	0.400
x_1^2	-0.1	0.624	-0.092	0.929
x_2	0.1	0.567	0.140	0.892
x_2^2	-0.3	0.624	-0.489	0.640
x_3	-0.3	0.567	-0.566	0.589
x_3^2	-0.1	0.624	-0.234	0.822
x_1x_2	-1.3	0.741	-1.687	0.135
x_1x_3	1.2	0.741	1.552	0.165
x_2x_3	-0.4	0.741	-0.574	0.584

Regression for R_H is shown in **Table 2-7**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values; therefore, ANOVA was conducted for the significant coefficients at a level of 5% in **Table 2-8**.

Table 2-7: Regression for R_H of NP030.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	94.9	0.327	290.481	< 0.001
x_1	0.6	0.153	3.709	0.008
x_1^2	-0.2	0.169	-1.424	0.198
x_2	-2.1	0.153	-13.482	< 0.001
x_2^2	-0.2	0.169	-1.005	0.349
x_3	-1.3	0.153	-8.730	< 0.001
x_3^2	-0.3	0.169	-2.052	0.079
x_1x_2	0.1	0.200	0.312	0.764
x_1x_3	0.0	0.200	-0.187	0.857
x_2x_3	-0.1	0.200	-0.561	0.592

Table 2-8: ANOVA for R_H of NP030.

Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean of squares	F-value
Regression	87.302	3	29.101	94.648
Residues	3.997	13	0.307	-
Lack of fit	3.917	11	0.356	8.902
Pure error	0.080	2	0.040	-
Total	91.299	16	-	-

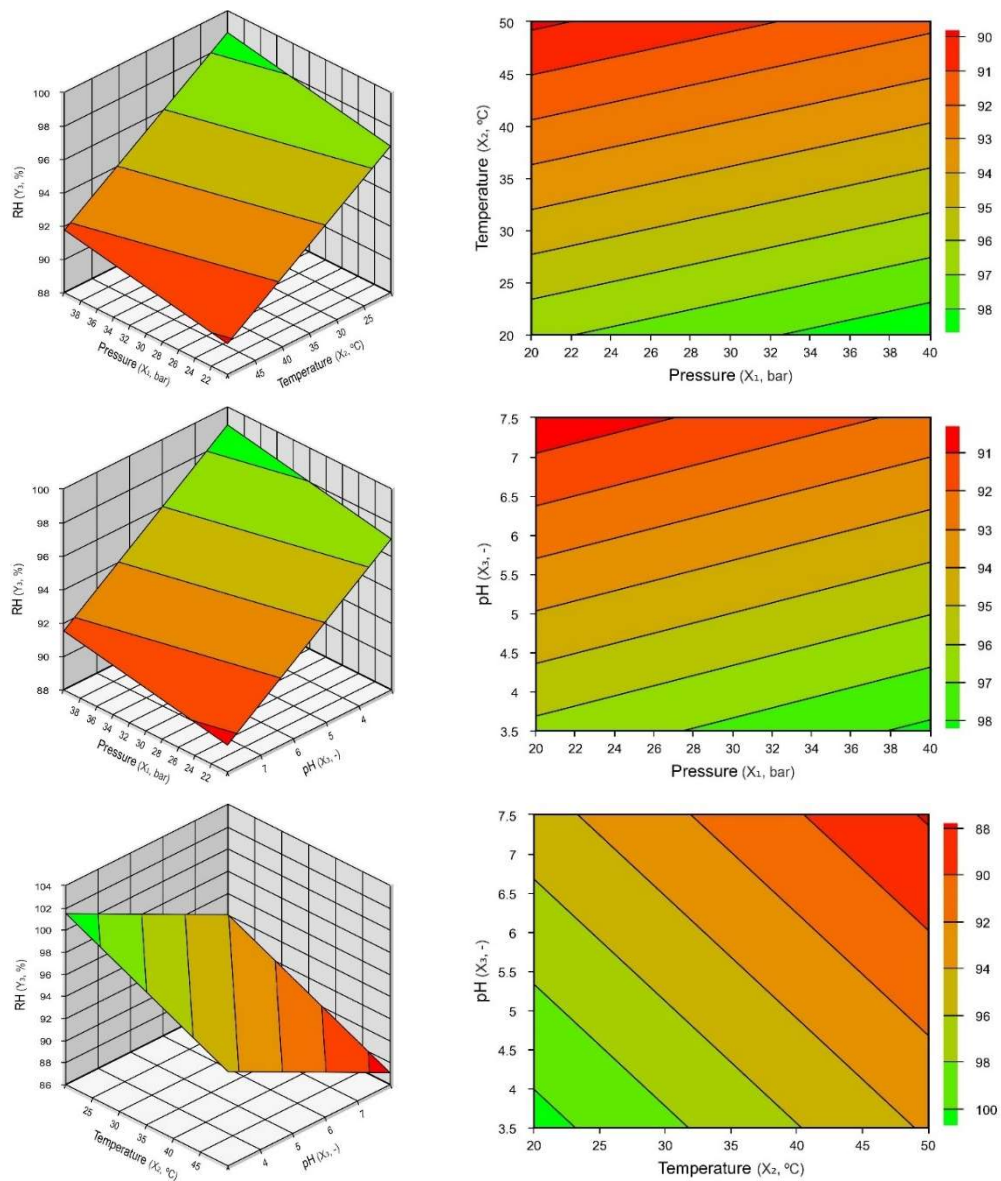
R^2 0.9562

The validity of the mathematical model was verified by the maximum explainable variance of 95.62%, by the higher regression F-value compared to the tabulated F-value (0.05; 3; 13) = 3.41, and by the lower lack of fit F-value compared to the tabulated F (0.05; 11; 2) = 19.41. Thus, the reparametrized coded model for R_H is presented in the following equation.

$$R_H = 94.3 + 0.6x_1 - 2.1x_2 - 1.3x_3 \quad (8)$$

The response surfaces and contour plots are presented in **Figure 2-5**. The R_H of NP030 was influenced by P , T and pH . The pressure and pH probably affected either the concentration polarization or the fouling effects creating or avoiding an additional resistance layer of impurities for the HMW XOS permeation. The increased temperature probably increased the average pore size of NP030, facilitating the HMW XOS permeation. Thus, the optimized R_H value was achieved for conditions of $P = 40 \text{ bar}$, $T = 20^\circ\text{C}$ and $pH = 4.0$.

Figure 2-5: Response surfaces and contour plots for R_H of NP030.



Regression for J_p is shown in **Table 2-9**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values; therefore, ANOVA was conducted for the significant coefficients at a level of 5% in **Table 2-10**.

Table 2-9: Regression for J_p of NP030.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	31.4	0.279	112.231	< 0.001
x_1	10.0	0.131	76.545	< 0.001
x_1^2	0.3	0.144	2.266	0.058
x_2	11.1	0.131	84.586	< 0.001
x_2^2	0.8	0.144	5.325	0.001
x_3	0.1	0.131	0.971	0.364
x_3^2	0.2	0.144	1.654	0.142
x_1x_2	3.1	0.171	18.295	< 0.001
x_1x_3	-0.2	0.171	-1.093	0.310
x_2x_3	0.2	0.171	0.948	0.375

Table 2-10: ANOVA for J_p of NP030.

Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean of squares	F-value
Regression	3145.942	4	786.486	2471.317
Residues	3.819	12	0.318	-
Lack of fit	3.652	10	0.365	4.383
Pure error	0.167	2	0.083	-
Total	3149.761	16	-	-

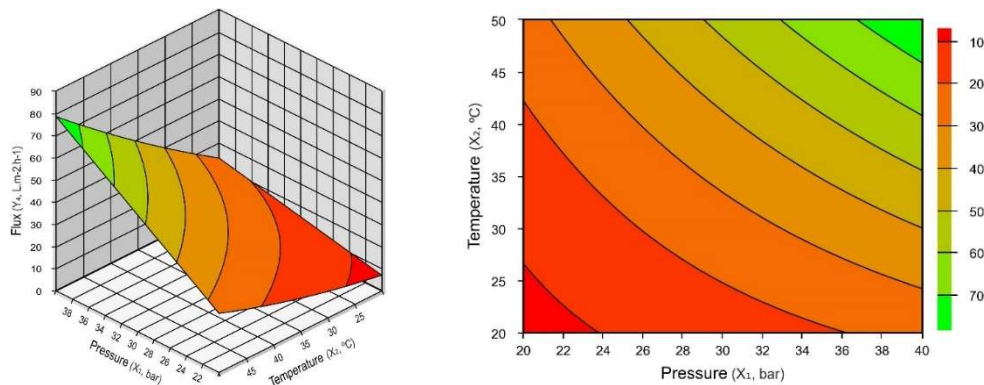
R^2 0.9988

The validity of the mathematical model was verified by the maximum explainable variance of 99.88%, by the higher regression F-value compared to the tabulated F-value (0.05; 4; 12) = 3.26, and by the lower lack of fit F-value compared to the tabulated F (0.05; 10; 2) = 19.40. Then, the reparametrized coded model for J_p is presented in the following equation.

$$J_p = 31.9 + 10.0x_1 + 11.1x_2 + 3.1x_1x_2 + 0.6x_2^2 \quad (9)$$

The response surfaces and contour plots are presented in **Figure 2-6**. The J_p of NP030 was influenced by P and T . As expected, the increasing of pressure (driving force of filtration) caused the increasing of permeate flux. The increased temperature probably increased the average pore size of NP030 or reduced the SSHL viscosity, facilitating the permeate flux. Thus, the optimized J_p value was achieved for conditions of $P = 40 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ at any pH .

Figure 2-6: Response surfaces and contour plots for J_p of NP030.



For determination of final optimized conditions for NP030, the response of R_H was favored over other responses. Additionally, pH was chosen as the intrinsic one from SSHL (feed solution) due to the intention of reducing H_2SO_4 consumption in the process. Thus, the final optimized conditions for NP030 were $P = 40 \text{ bar}$, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$ and $pH = 4.6$.

TS40 (2nd NF membrane)

The DOE-based CCRD responses for rejection coefficients and permeate flux of 2nd NF membrane are shown in **Table 2-11**.

Regression for R_{X1} is shown in **Table 2-12**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values; therefore, ANOVA was conducted for the significant coefficients at a level of 5% in **Table 2-13**.

Table 2-11: Average permeate flux and rejection coefficients for CCRD of TS40.

Run	Independent variables			Responses			
	P in bar (x_1)	T in °C (x_2)	pH (x_3)	Y_1 R_{X1} (%)	Y_2 R_L (%)	Y_3 R_H (%)	Y_4 J_p (L.h ⁻¹ .m ⁻²)
1	24 (-1)	26 (-1)	4.6 (-1)	30.4	88.2	99.3	11.1
2	36 (+1)	26 (-1)	4.6 (-1)	46.0	93.1	99.4	25.2
3	24 (-1)	44 (+1)	4.6 (-1)	28.3	87.0	99.7	26.8
4	36 (+1)	44 (+1)	4.6 (-1)	44.8	91.0	99.5	52.1
5	24 (-1)	26 (-1)	6.4 (+1)	36.3	89.6	99.5	11.2
6	36 (+1)	26 (-1)	6.4 (+1)	46.3	93.8	99.5	24.8
7	24 (-1)	44 (+1)	6.4 (+1)	32.8	86.9	99.7	27.6
8	36 (+1)	44 (+1)	6.4 (+1)	37.4	89.6	99.5	53.8
9	20 ($-\alpha$)	35 (0)	5.5 (0)	26.0	86.9	99.6	12.8
10	40 ($+\alpha$)	35 (0)	5.5 (0)	47.5	93.3	99.4	45.1
11	30 (0)	20 ($-\alpha$)	5.5 (0)	42.3	91.3	99.6	11.3
12	30 (0)	50 ($+\alpha$)	5.5 (0)	30.4	86.4	99.7	48.4
13	30 (0)	35 (0)	4.0 ($-\alpha$)	33.2	88.7	99.7	29.2
14	30 (0)	35 (0)	7.0 ($+\alpha$)	34.4	89.3	99.7	29.1
15	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	35.2	90.0	99.7	28.7
16	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	34.0	89.7	99.6	28.4
17	30 (0)	35 (0)	5.5 (0)	34.4	88.5	99.7	28.5

Table 2-12: Regression for R_{X1} of TS40.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	34.4	1.170	29.405	< 0.001
x_1	6.1	0.549	11.044	< 0.001
x_1^2	1.2	0.605	2.063	0.078
x_2	-2.6	0.549	-4.760	0.002
x_2^2	1.1	0.605	1.829	0.110
x_3	0.4	0.549	0.709	0.501
x_3^2	0.2	0.605	0.338	0.746
x_1x_2	-0.6	0.718	-0.784	0.459
x_1x_3	-2.2	0.718	-3.048	0.019
x_2x_3	-1.1	0.718	-1.585	0.157

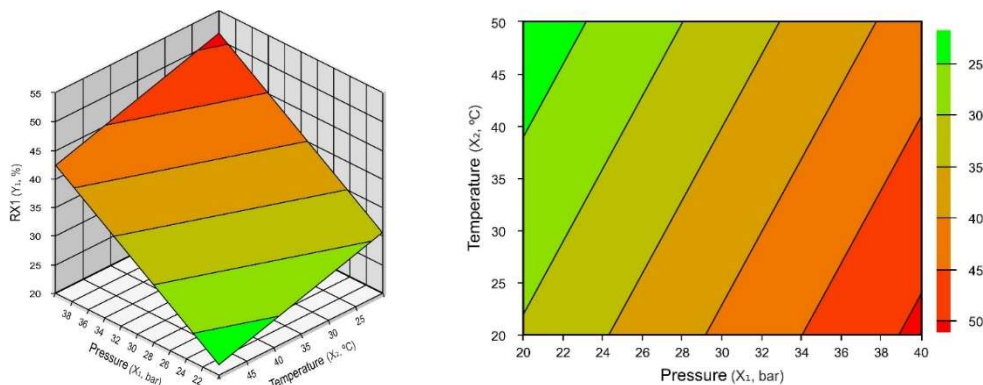
Table 2-13: ANOVA for R_{X1} of TS40.

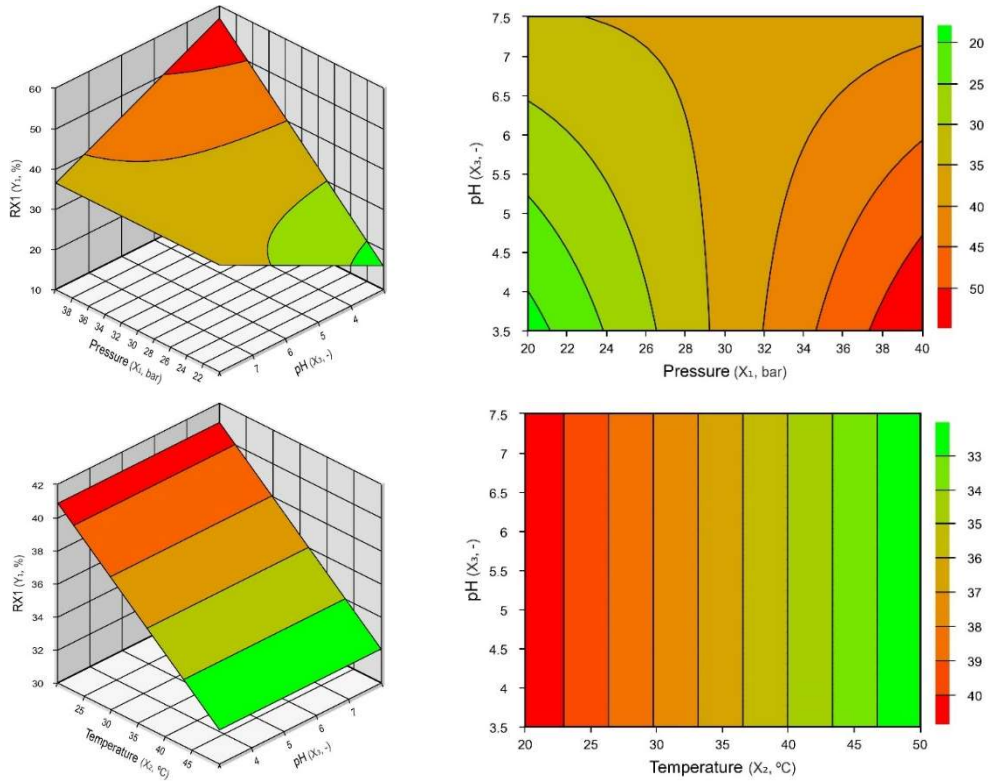
Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean of squares	F-value
Regression	634.391	3	211.464	39.559
Residues	69.492	13	5.346	-
Lack of fit	68.745	11	6.250	16.740
Pure error	0.747	2	0.373	-
Total	703.882	16	-	-
R^2	0.9013			

The validity of the mathematical model was verified by the maximum explainable variance of 90.13%, by the higher regression F-value compared to the tabulated F-value (0.05; 3; 13) = 3.41, and by the lower lack of fit F-value compared to the tabulated F (0.05; 11; 2) = 19.41. Thus, the reparametrized coded model for R_{X1} is presented in the following equation.

$$R_{X1} = 36.5 + 6.1x_1 - 2.6x_2 - 2.2x_1x_3 \quad (10)$$

The response surfaces and contour plots are presented in **Figure 2-7**. The R_{X1} of TS40 was influenced by P , T and pH . The pressure and pH probably affected either the concentration polarization or the fouling effects creating or avoiding an additional resistance layer of impurities for the X1 permeation. The increased temperature probably increased the average pore size of TS40, facilitating the X1 permeation. Thus, the optimized R_{X1} value was achieved for conditions of $P = 20 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ and $pH = 4.0$.

Figure 2-7: Response surfaces and contour plots for R_{X1} of TS40.



Regression for R_L is shown in **Table 2-14**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values; therefore, ANOVA was conducted for the significant coefficients at a level of 5% in **Table 2-15**.

Table 2-14: Regression for R_L of TS40.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	89.4	0.349	255.909	< 0.001
x_1	1.9	0.164	11.861	< 0.001
x_1^2	0.4	0.180	2.095	0.074
x_2	-1.4	0.164	-8.234	< 0.001
x_2^2	-0.1	0.180	-0.354	0.734
x_3	0.1	0.164	0.718	0.496
x_3^2	0.0	0.180	-0.060	0.954
x_1x_2	-0.3	0.214	-1.400	0.204
x_1x_3	-0.3	0.214	-1.167	0.281
x_2x_3	-0.4	0.214	-2.100	0.074

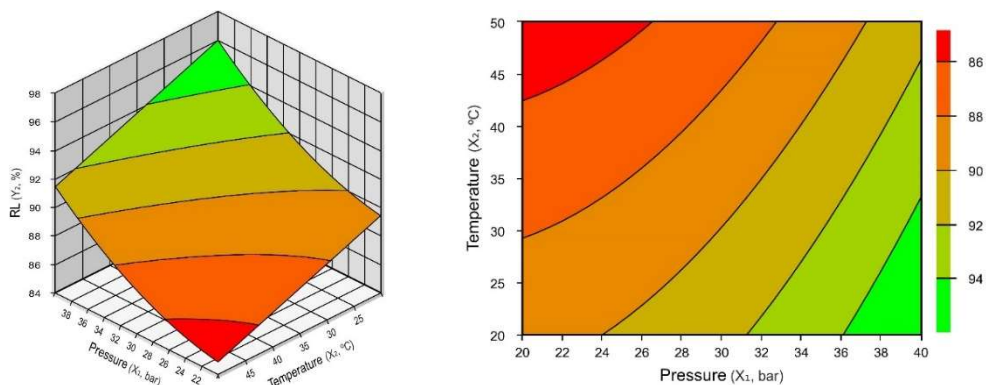
Table 2-15: ANOVA for R_L of TS40.

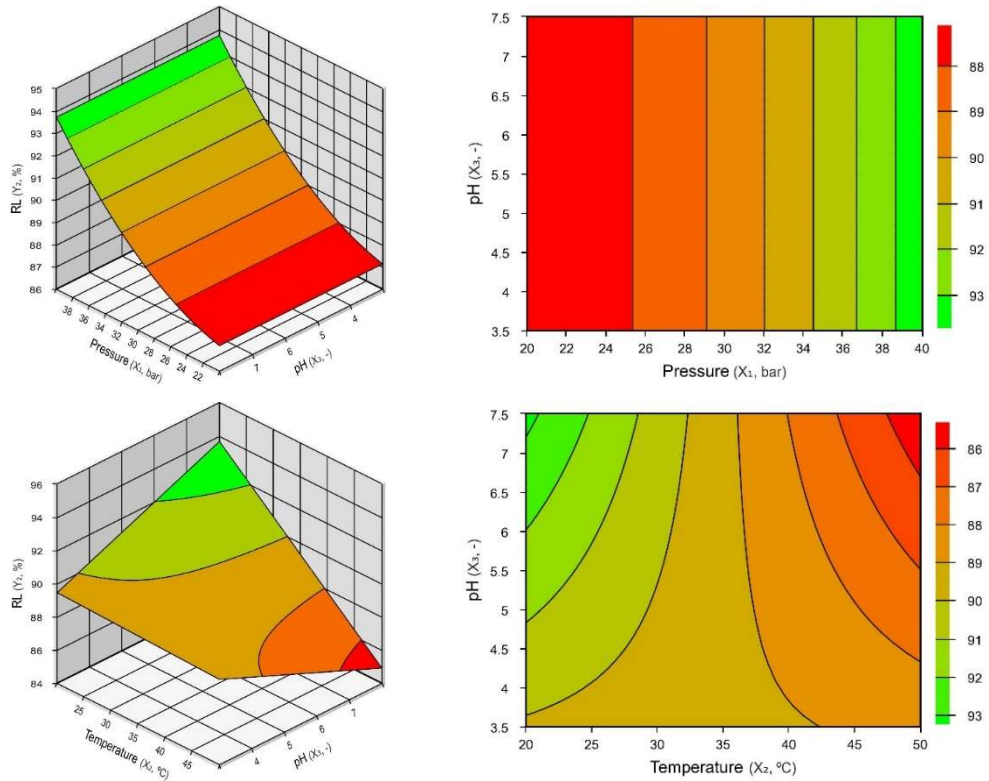
Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean of squares	F-value
Regression	80.222	4	20.056	59.763
Residues	4.027	12	0.336	-
Lack of fit	2.767	10	0.277	0.439
Pure error	1.260	2	0.630	-
Total	84.249	16	-	-
R^2	0.9522			

The validity of the mathematical model was verified by the maximum explainable variance of 95.22%, by the higher regression F-value compared to the tabulated F-value (0.05; 4; 12) = 3.26, and by the lower lack of fit F-value compared to the tabulated F (0.05; 10; 2) = 19.40. Thus, the reparametrized coded model for R_L is presented in the following equation.

$$R_L = 89.3 + 1.9x_1 - 1.4x_2 - 0.4x_2x_3 + 0.4x_1^2 \quad (11)$$

The response surfaces and contour plots are presented in **Figure 2-8**. The R_L of TS40 was influenced by P , T and pH . The pressure and pH probably affected either the concentration polarization or the fouling effects creating or avoiding an additional resistance layer of impurities for the LMW XOS permeation. The increased temperature probably increased the average pore size of TS40, facilitating the LMW XOS permeation. Thus, the optimized R_L value was achieved for conditions of $P = 40 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ and $pH = 7.0$.

Figure 2-8: Response surfaces and contour plots for R_L of TS40.



Regression for R_H is shown in **Table 2-16**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values. However, there was extremely low variability in R_H responses between runs from **Table 2-11**, so ANOVA was not conducted.

Table 2-16: Regression for R_H of TS40.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	99.7	0.052	1903.014	< 0.001
x_1	0.0	0.025	-1.894	0.100
x_1^2	-0.1	0.027	-3.006	0.020
x_2	0.1	0.025	2.585	0.036
x_2^2	0.0	0.027	-1.047	0.330
x_3	0.0	0.025	0.893	0.401
x_3^2	0.0	0.027	-0.394	0.705
x_1x_2	-0.1	0.032	-1.945	0.093
x_1x_3	0.0	0.032	-0.389	0.709
x_2x_3	0.0	0.032	-1.167	0.281

Regression for J_p is shown in **Table 2-17**. Some coefficients showed significance at a level of 5% by checking p-values; therefore, ANOVA was conducted for the significant coefficients at a level of 5% in **Table 2-18**.

Table 2-17: Regression for J_p of TS40.

Coded variable	Coefficient	Standard error	t-value	p-value
<i>mean</i>	28.6	0.235	121.643	< 0.001
x_1	9.8	0.110	88.699	< 0.001
x_1^2	0.1	0.121	0.685	0.515
x_2	11.0	0.110	99.907	< 0.001
x_2^2	0.4	0.121	3.308	0.013
x_3	0.1	0.110	1.350	0.219
x_3^2	0.2	0.121	1.268	0.245
x_1x_2	3.0	0.144	20.657	< 0.001
x_1x_3	0.1	0.144	0.347	0.739
x_2x_3	0.3	0.144	2.430	0.045

Table 2-18: ANOVA for J_p of TS40.

Source of variation	Sum of squares	Degree of freedom	Mean of squares	F-value
Regression	3034.991	5	606.998	3776.427
Residues	1.768	11	0.161	-
Lack of fit	1.721	9	0.191	8.197
Pure error	0.047	2	0.023	-
Total	3036.759	16	-	-

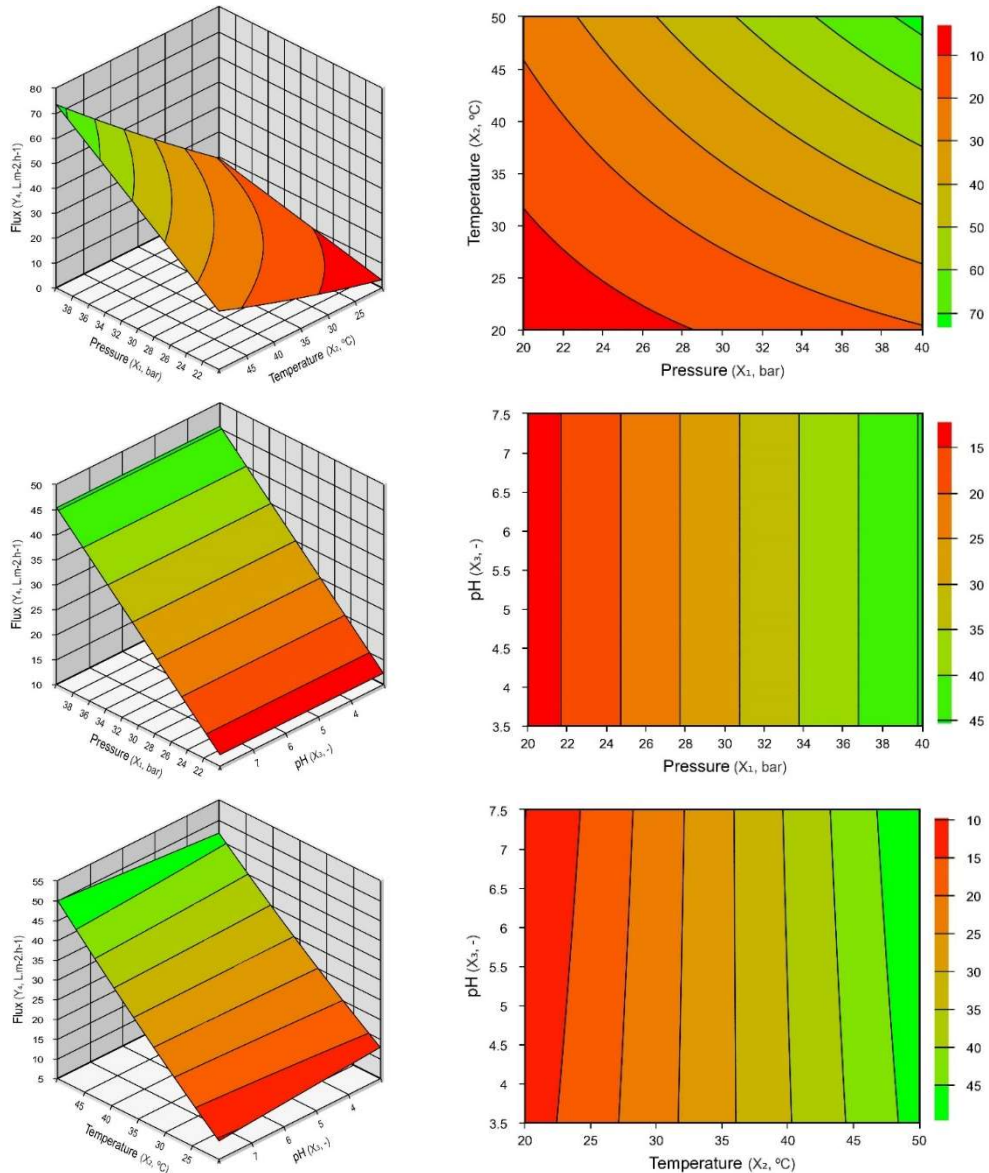
R^2 0.9994

The validity of the mathematical model was verified by the maximum explainable variance of 99.94%, by the higher regression F-value compared to the tabulated F-value (0.05; 3; 13) = 3.11, and by the lower lack of fit F-value compared to the tabulated F (0.05; 10; 2) = 19.40. Thus, the reparametrized coded model for J_p is presented in the following equation.

$$J_p = 28.8 + 9.8x_1 + 11.0x_2 + 3.0x_1x_2 + 0.3x_2x_3 + 0.3x_2^2 \quad (12)$$

The response surfaces and contour plots are presented in **Figure 2-9**. The J_p of TS40 was mostly influenced by P and T (the pH practically did not show expressive influence). As expected, the increasing of pressure (driving force of filtration) caused the increase of permeate flux. The increased temperature probably increased the average pore size of TS40 or reduced the NP030 permeate viscosity, facilitating the permeate flux. Thus, the optimized J_p value was achieved for conditions of $P = 40 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ at any pH .

Figure 2-9: Response surfaces and contour plots for J_p of TS40.



For determination of final optimized conditions for TS40, the response of R_{X1} was favored over other responses due to the inherent contamination risk that X1 represents for a fermentation of LMW XOS to obtain 2nd generation ethanol. Additionally, pH was chosen as the intrinsic one from NP030 permeate (feed solution), due to the intention of reducing H_2SO_4 consumption in the process. Thus, the final optimized conditions for TS40 were $P = 20 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ and $pH = 4.6$.

SYSTEM IMPROVEMENT

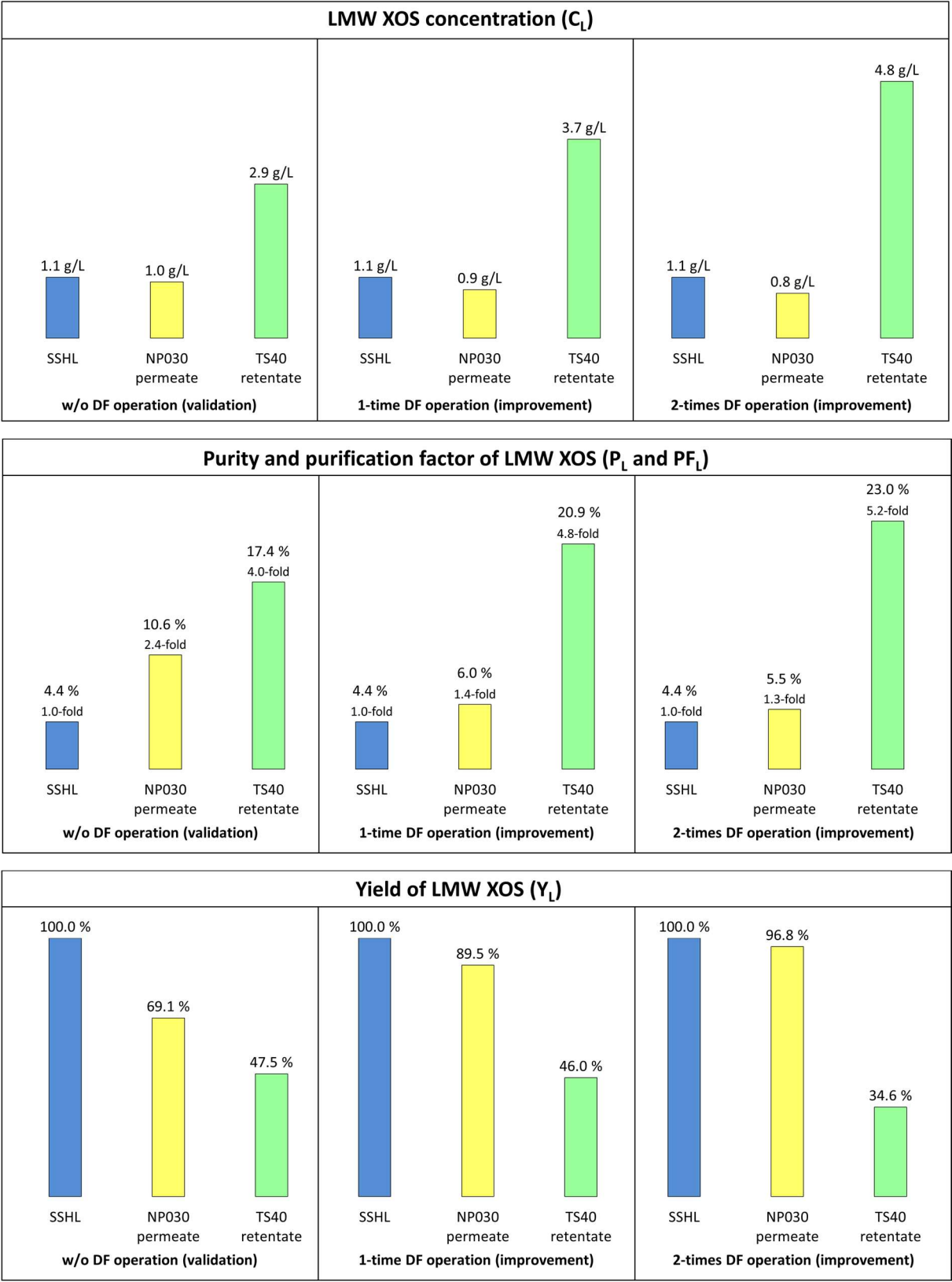
The predicted responses from optimization models were compared to the validation responses (w/o DF operation), as shown in **Table 2-19**, indicating a good agreement between the values.

Table 2-19: Response from optimization and validation.

Response	NP030 (1 st membrane)			TS40 (2 nd membrane)		
	<i>pred.</i>	<i>valid.</i>	<i>deviation (%)</i>	<i>pred.</i>	<i>valid.</i>	<i>deviation (%)</i>
$Y_1 \quad R_{X1} (\%)$	-	5.8	-	18.2	15.8	15.2
$Y_2 \quad R_L (\%)$	-	25.4	-	85.6	84.8	0.9
$Y_3 \quad R_H (\%)$	100.0	96.3	3.8	-	98.1	-
$Y_4 \quad J_p (\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1})$	23.1	24.3	4.9	22.9	23.1	0.9

The improvement of XOS fractionation system, under DF operation, was estimated by the LMW XOS performance indices, shown in **Figure 2-10**. The C_L , P_L , and PF_L were increased in final TS40 retentate with the applied number of DF-times, demonstrating that DF operation recovered the LMW XOS in NP030 permeate and concentrated them in TS40 retentate. However, the Y_L was decreased with the applied number of DF-times, demonstrating that DF operation caused some loss by LMW XOS leaking to the TS40 permeate. From this scenario, 1-time DF operation was chosen as the best condition for the fractionation system, since it improved the C_L , P_L , and PF_L , while it did not decrease Y_L too much.

Figure 2-10: LMW XOS performance indices.



CONCLUSIONS

Over the course of this work, membrane-based process has been demonstrated to be a suitable strategy for XOS fractionation, mainly to recover and concentrate LMW XOS from SSHL. The proposed methodology of serial NF membranes under DF operation was an effective system, showing that membrane processes have big potential and should be considered as one of the downstream strategies for XOS purification.

In our findings, the first membrane selected was NP030 (polyethersulfone material with MWCO of 500-600 Da) with its best conditions under 40 bar, 20 °C, and pH 4.6. The second membrane selected was TS40 (polypiperazine material with MWCO of 200-300 Da) with its best conditions under 20 bar, 50 °C, and pH 4.6. The serial membrane-based system, using NP030 followed by TS40, showed that 1-time DF in each membrane could improve the performance indices for LMW XOS, achieving final values of 3.7 g/L of concentration, 20.9% purity, and 46.0% yield.

This study brought great contribution to the field of XOS fractionation using NF membranes technology, mainly due to the protocol of investigating the influence of DF operation, which is a gap in literature. For further studies in separation and purification of XOS using membranes, DF operation should be considered in combination with other strategies such as adsorption or enzymatic hydrolysis. These routes, integrated with membrane-based process, can improve even more the recovery of yield, purity and concentration of LMW XOS from SSHL or other sources of biomass hydrolyzed.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the Pilot Plant for Process Development from the Brazilian Biorenewables National Laboratory (LNBR/CNPEM/MCTIC) for providing SSHL prepared by Livia Beatriz Brenelli de Paiva, the Bioprocess and Metabolic Engineering Laborarotory (LEMeB) from the School of Food Engineering (FEA) and Biochemical Engineering, Biorefinery and Products of Renewable Origin Laboratory (LEBBPOR) from the School of Chemical Engineering (FEQ) at the University of Campinas (UNICAMP) for all infrastructure made available for the execution of tests or analysis.

For the financial support, we acknowledge the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), and the Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC) in partnership with São Paulo State Research Support Foundation (FAPESP) through process 2015/50612-8.

The authors thank Espaço da Escrita – Pró-Reitoria de Pesquisa – UNICAMP - for the language services provided.

CAPÍTULO 3: CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÕES

As principais conclusões deste trabalho sobre a integração de membranas para o fracionamento e purificação de LMW XOS provenientes da palha de cana-de-açúcar são listados a seguir:

- As duas membranas de NF selecionadas a $P = 30 \text{ bar}$, $T = 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $pH = 4,6$ para o sistema de fracionamento em série foram:
 - NP030 como 1ª membrana;
 - $R_H = 89,3\%$, $R_L = 30,4\%$, $R_{X1} = 12,9\%$ e $J_p = 31,7 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$;
 - TS40 como 2ª membrana;
 - $R_H = 99,7\%$, $R_L = 88,8\%$, $R_{X1} = 47,0\%$ e $J_p = 18,0 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$;
- As condições operacionais otimizadas com as respostas validadas para maximizar o fracionamento dos LMW XOS em cada membrana foram:
 - NP030 a $P = 40 \text{ bar}$, $T = 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $pH = 4,6$;
 - $R_H = 96,3\%$, $R_L = 25,4\%$, $R_{X1} = 5,8\%$ e $J_p = 24,3 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$;
 - TS40 a $P = 20 \text{ bar}$, $T = 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $pH = 4,6$;
 - $R_H = 98,1\%$, $R_L = 84,8\%$, $R_{X1} = 15,8\%$ e $J_p = 23,1 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$;
- A operação de uma operação de DF em cada membrana melhorou os índices de *performance* do sistema de fracionamento em série, com as seguintes respostas globais: $C_L = 3.7 \text{ g/L}$, $P_L = 20.9\%$, and $Y_L = 46.0\%$.

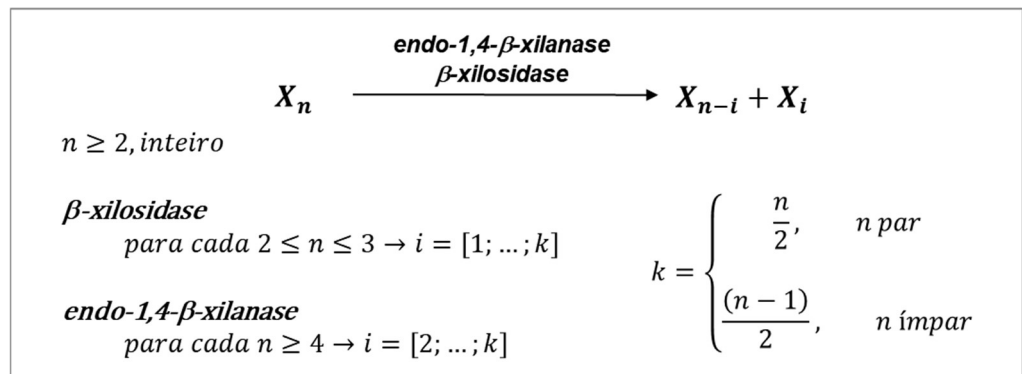
O sistema proposto de fracionamento e purificação dos XOS provenientes da palha de cana-de-açúcar tem potencial de utilização em escala industrial se uma análise econômica detalhada esclarecer melhor o processo. A integração de membranas deve ser considerada como uma das estratégias para a purificação de XOS, sendo sugerida investigações adicionais, como a hidrólise enzimática empregando xilanases. Por fim, a proposta e o estabelecimento de uma estratégia de fracionamento e purificação dos XOS obtidos a partir da palha de cana-de-açúcar pôde contribuir ao desenvolvimento de um processo com incentivo da utilização de biomassas para a geração de produtos de maior valor agregado.

SUGESTÕES PARA PROJETOS FUTUROS

Durante a concepção e o desenvolvimento deste trabalho, algumas ideias surgiram para expandir o escopo do trabalho. Devido ao curto prazo para execução, estas ideias são compartilhadas e sugeridas a seguir para possíveis futuros projetos.

- Integração de outras operações unitárias ao sistema de fracionamento em série, como a adsorção (carvão ativado, resinas poliméricas *etc.*) ou a hidrólise enzimática, para aumento de rendimento, pureza e concentração dos LMW XOS. No caso da hidrólise enzimática, representada na **Figura 3-1**, tanto o SSHL quanto os permeados ou retentados podem ser submetidos à ação das enzimas (uma possibilidade é a imobilização das enzimas nas membranas);

Figura 3-1: Modelo da hidrólise enzimática dos XOS.



Fonte: Autor, 2020.

- Avaliação econômica do sistema de fracionamento em série obtendo indicadores de investimento inicial, valor presente líquido (VPL), taxa interna de retorno (TIR), retorno sobre o investimento (ROI) e tempo de retorno do investimento (*payback*);
- Realização de uma modelagem matemática do sistema de fracionamento em série considerando as características intrínsecas das membranas para predição dos coeficientes de rejeição e do fluxo de permeado.

REFERÊNCIAS

- AACHARY, A. A. PRAPULLA, S. G. Value addition to corncob: Production and characterization of xylooligosaccharides from alkali pretreated lignin-saccharide complex using *Aspergillus oryzae* MTCC 5154, **Bioresource Technology**. 100 (2009) 991–995. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.050>
- AKPINAR, O. AK, O. KAVAS, A. BAKIR, U. YILMAZ, L. Enzymatic production of xylooligosaccharides from cotton stalks, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 55 (2007) 5544-5551. <https://doi.org/10.1021/jf063580d>
- BARUAH, J. NATH, B. K. SHARMA, R. KUMAR, S. DEKA, R. C. BARUAH, D. C. KALITA, E. Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products, **Frontiers in Energy Research**. 6 (2018) 1-19. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00141>
- BHARDWAJ, N. KUMAR, B. VERMA, P. A detailed overview of xylanases: an emerging biomolecule for current and future prospective, **Bioresources and Bioprocessing**. 6 (2019). <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0276-2>
- BRENELLI, L. B. FIGUEIREDO, F. L. DAMÁSIO, A. FRANCO, T. T. RABELO, S. C. An integrated approach to obtain xylo-oligosaccharides from sugarcane straw: From lab to pilot scale, **Bioresource Technology**. 313 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123637>
- CARVALHO, A. F. A. NETO, P. D. O. SILVA, D. F. D. PASTORE, G. M. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis, **Food Research International**. 51 (2013) 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.021>
- CASSANO, A. CONIDI, C. RUBY-FIGUEROA, R. CASTRO-MUÑOZ, R. Nanofiltration and tight ultrafiltration membranes for the recovery of polyphenols from agro-food by-products, **International Journal of Molecular Sciences**. 19 (2018). <https://doi.org/10.3390/ijms19020351>

CASTRO-MUÑOZ, R. YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. Valorization of Nixtamalization wastewaters (Nejayote) by integrated membrane process, **Food and Bioproducts Processing**. 95 (2015) 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.03.006>

CASTRO-MUÑOZ, R. YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. FÍLA, V. Phenolic compounds recovered from agro-food by-products using membrane technologies: An overview, **Food Chemistry**. 213 (2016) 753-762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.030>

CASTRO-MUÑOZ, R. BARRAGÁN-HUERTA, B. E. YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. The use of Nixtamalization waste waters clarified by ultrafiltration for production of a fraction rich in phenolic compounds, **Waste and Biomass Valorization**. 7 (2016) 1167-1176. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9512-6>

CASTRO-MUÑOZ, R. CONIDI, C. CASSANO, A. Membrane-based technologies for meeting the recovery of biologically active compounds from foods and their by-products, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 59 (2018) 2927-2948. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1478796>

CASTRO-MUÑOZ, R. DÍAZ-MONTES, E. CASSANO, A. GONTAREK, E. Membrane separation processes for the extraction and purification of steviol glycosides: an overview, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. (2020). <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1772717>

CASTRO-MUÑOZ, R. BOCZKAJ, G. GONTAREK, E. CASSANO, A. FÍLA, V. Membrane technologies assisting plant-based and agro-food by-products processing: A comprehensive review, **Trends in Food Science & Technology**. 95 (2020) 219-232. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.003>

CHEN, X. SHEKIRO, J. FRANDEN, M. A. WANG, W. ZHANG, M. KUHN, E. JOHNSON, D. K. TUCKER, M. P. The impact of deacetylation prior to dilute acid pretreatment on the bioethanol process, **Biotechnology for Biofuels**. 5 (2012). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-8>.

CÓRDOVA, A. ASTUDILLO, C. GIORNO, L. GUERRERO, C. CONIDI, C. ILLANES, A. CASSANO, A. Nanofiltration potential for the purification of highly concentrated enzymatically produced oligosaccharides, **Food and Bioproducts Processing**. 98 (2016) 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.11.005>

CUI, Z. F. JIANG, Y. FIELD, R. W. Fundamentals of Pressure-Driven Membrane Separation Processes, **Membrane Technology**. Chapter 1 (2010) 1-18. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85617-632-3.00001-X>

DÍAZ-MONTES, E. CASTRO-MUÑOZ, R. Metabolites recovery from fermentation broths via pressure-driven membrane processes, **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**. 14 (2019). <https://doi.org/10.1002/apj.2332>

DÍAZ-MONTES, E. YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. CASTRO-MUÑOZ, R. Microfiltration-mediated extraction of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* SF3, **Food and Bioproducts Processing**. 119 (2020) 317-328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.11.017>

DÍAZ-MONTES, E. GUTIÉRREZ-MACÍAS, P. OROZCO-ÁLVAREZ, C. CASTRO-MUÑOZ, R. Fractionation of *Stevia rebaudiana* aqueous extracts via two-step ultrafiltration process: Towards rebaudioside A extraction, **Food and Bioproducts Processing**. 123 (2020) 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.010>

FARYAR, R. LINARES-PASTÉN, J. A. IMMERZEEL, P. MAMO, G. ANDERSSON, M. STALBRAND, H. MATTIASSON, B. KARLSSON, E. N. Production of prebiotic xylooligosaccharides from alkaline extracted wheat straw using the K80R-variant of a thermostable alkali-tolerant xylanase, **Food and Bioproducts Processing**. 93 (2015) 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.11.004>

FENG, Y. M. CHANG, X. L. WANG, W. H. MA, R. Y. Separation of galacto-oligosaccharides mixture by nanofiltration, **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. 40 (2009) 326-332. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2008.12.003>

FERREIRA-LEITÃO, V. GOTTSCHALK, L. M. F. FERRARA, M. A. NEPOMUCENO,

A. L. MOLINARI, H. B. C. BON, E. P. S. Biomass residues in Brazil: Availability and potential uses, **Waste and Biomass Valorization**. 1 (2010) 65–76. <https://doi.org/10.1007/s12649-010-9008-8>

GROOTAERT, C. VERSTRAETE, W. VAN DE WIELE, T. Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine, **Trends in Food Science and Technology**. 18 (2007) 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.08.004>

ISIKGOR, F. H. BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers, **Polymer Chemistry**. 6 (2015) 4497–4559. <https://doi.org/10.1039/c5py00263j>

IWASAKI, K. MATSUBARA, Y. Purification of pectate oligosaccharides showing root-growth-promoting activity in lettuce using ultrafiltration and nanofiltration membranes, **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 89 (2000) 495–497. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)89104-5](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)89104-5)

JEON, Y.J. KIM, S.K. Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity, **Carbohydrate Polymers**. 41 (2000) 133–141. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00084-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00084-3)

KARLSSON, E. N. SCHMITZ, E. LINARES-PASTÉN, J. A. ADLERCREUTZ, P. Endoxylanases as tools for production of substituted xylooligosaccharides with prebiotic properties, **Applied Microbiology and Biotechnology**. 102 (2018) 9081–9088. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9343-4>

KUHN, R. C. PALACIO, L. PRÁDANOS, P. HERNÁNDEZ, A. MAUGERI FILHO, F. Selection of membranes for purification of fructooligosaccharides, **Desalination and Water Treatment**. 27 (2011) 18–24. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.2038>

LEAL, M. R. L. V. GALDOS, M. V. SCARPARE, F. V. SEABRA, J. E. A. WALTER, A. OLIVEIRA, C. O. F. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review, **Biomass and Bioenergy**. 53 (2013) 11–19.

<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.03.007>

LI, Z. WANG, K. ZHANG, Y. Eco-friendly separation and purification of soybean oligosaccharides *via* nanofiltration technology, **Separation Science and Technology**. 53 (2018) 777-785. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1405983>

MORAIS DE CARVALHO, D. ABAD, A. M. EVTUGUIN, D. V. COLODETTE, J. L. LINDSTROM, M. E. VILAPLANA, F. SEVATYANOVA, O. Isolation and characterization of acetylated glucuronoarabinoxylan from sugarcane bagasse and straw, **Carbohydrate Polymers**. 156 (2017) 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.022>

MULDER, M. Basic principles of membrane technology. (1991). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0835-7>

MUSSATTO, S. I. MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review, **Carbohydrate Polymers**. 68 (2007) 587–597. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.12.011>

PIERROSSI, M. A. BERTOLANI, F. C. Sugarcane Trash as Feedstock for Biorefineries: Agricultural and Logistics Issues. Chapter 2 (2018) 17-39. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804534-3.00002-1>

PINELO, M. JONSSON, G. MEYER, A. S. Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: Molecular and operational features affecting performance, **Separation and Purification Technology**. 70 (2009) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.08.010>

QING, Q. LI, H. KUMAR, R. WYMAN, C. E. Xylooligosaccharides Production, Quantification, and Characterization in Context of Lignocellulosic Biomass Pretreatment, in: Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological Chemical Conversion to Fuels and Chemicals. Chapter 19. (2013). <https://doi.org/10.1002/9780470975831.ch19>

RAO, L. J. M. Handbook of Membrane Separations, Chemical, Pharmaceutical, Food, and Biotechnological Applications. (2009). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01974.x>

RODRIGUES, M.I. IEMMA, A.F. Experimental Design and Process Optimization. (2014). <https://doi.org/10.1201/b17848>

SANTOS, F. A. DE QUEIROZ, J. H. COLODETTE, J. L. FERNANDES, J. L. GUIMARÃES, V. M. REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol, **Química Nova**. 35 (2012) 1004–1010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000500025>

SINGH, R. D. NADAR, C. G. MUIR, J. ARORA, A. Green and clean process to obtain low degree of polymerisation xylooligosaccharides from almond shell, **Journal of Cleaner Production**. 241 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118237>

SLOMINSKA, L. GRZESKOWIAK-PRZYWECKA, A. Study on the membrane filtration of starch hydrolysates, **Desalination**. 162 (2004) 255–261. [https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(04\)00049-9](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(04)00049-9)

SOUZA, W. R. Microbial Degradation of Lignocellulosic Biomass. Chapter 9. (2014). <https://doi.org/10.5772/54325>

SUNNA, A. ANTRANIKIAN, G. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria, **Critical Reviews in Biotechnology**. 17 (2008) 39–67. <https://doi.org/10.3109/07388559709146606>

UNICA (União da Indústria de Cana-de-Açúcar). Acesso em 13/09/2020. <https://unica.com.br/>

VALENCIA-ARREDONDO, J. A. HERNÁNDEZ-BOLIO, G. I. CERÓN-MONTES, G. I. CASTRO-MUÑOZ, R. YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. Enhanced process integration for the extraction, concentration and purification of di-acylated cyanidin from red cabbage, **Separation and Purification Technology**. 238 (2020).

<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116492>

VÁZQUEZ, M. J. ALONSO, J. L. DOMINGUEZ, H. PARAJÓ, J. C. Xylo-oligosaccharides: manufacture and applications, **Trends in Food Science & Technology**. 11 (2000) 387–393. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00031-0)

VEGAS, R. LUQUE, S. ALVAREZ, J.R. Membrane-assisted processing of xylooligosaccharide-containing liquors, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54 (2006) 5430–5436. <https://doi.org/10.1021/jf060525w>

VORAGEN, A. G. J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates, **Trends in Food Sciences & Technology**. 9 (1998) 328–335. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00059-4)

ZHU, Y. TAE, H. K. LEE, Y. Y. CHEN, R. ELANDER, R. T. Enzymatic production of xylooligosaccharides from corn stover and corn cobs treated with aqueous ammonia, **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 130 (2006) 586–598. <https://doi.org/10.1385/ABAB:130:1:586>

ZUBIETA, M. P. GERHARDT, J. A. RUBIO, M. V. TERRASAN, C. R. F. PERSINOTI, G. F. ANTONIEL, E. P. CONTESINI, F. J. PRADE, R. A. DAMÁSIO, A. Improvement of homologous GH10 xylanase production by deletion of genes with predicted function in the *Aspergillus nidulans* secretion pathway, **Microbial Biotechnology**. 13 (2020) 1245–1253. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13556>

ZYDNEY, A. L. Membrane handbook edited by W. S. Winston Ho, and Kamallesh K. Sirkar, Van Nostrand Reinhold, **AIChE Journal**. 41 (1995). <https://doi.org/10.1002/aic.690411024>

YUAN, Q.P. ZHANG, H. QIAN, Z.M. YANG, X.J. Pilot-plant production of xylo-oligosaccharides from corncob by steaming, enzymatic hydrolysis and nanofiltration, **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 79 (2004) 1073–1079. <https://doi.org/10.1002/jctb.1071>

CAPÍTULO 4: COMPLEMENTOS

APÊNDICES

Tabela 4-1: Análise para o permeado de cada membrana da seleção.

Membrana	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
NP010	1,66	1,10	0,58
NP030	0,67	1,03	0,57
XN45	0,08	0,81	0,55
TS40	0,02	0,38	0,48

Tabela 4-2: Análise para o permeado de cada corrida da otimização da NP030.

Corrida	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
1	0,23	1,05	0,58
2	0,19	1,06	0,57
3	0,50	1,04	0,57
4	0,41	1,05	0,57
5	0,37	1,06	0,57
6	0,30	1,03	0,58
7	0,60	1,04	0,58
8	0,56	1,05	0,57
9	0,49	1,05	0,57
10	0,35	1,04	0,57
11	0,18	1,05	0,57
12	0,61	1,05	0,58
13	0,26	1,04	0,58
14	0,60	1,05	0,57
15	0,38	1,04	0,58
16	0,35	1,05	0,58
17	0,37	1,05	0,57

Tabela 4-3: Análise para o permeado de cada corrida da otimização da TS40.

Corrida	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
1	0,02	0,36	0,51
2	0,02	0,23	0,47
3	0,01	0,38	0,52
4	0,01	0,29	0,47
5	0,01	0,33	0,50
6	0,01	0,21	0,47
7	0,01	0,39	0,51
8	0,01	0,33	0,50
9	0,01	0,39	0,52
10	0,02	0,23	0,46
11	0,01	0,28	0,48
12	0,01	0,40	0,51
13	0,01	0,35	0,51
14	0,01	0,33	0,50
15	0,01	0,32	0,50
16	0,01	0,32	0,50
17	0,01	0,35	0,50

Tabela 4-4: Análises da validação.

Permeado	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
NF da NP030	0,28	1,05	0,58
NF da TS40	0,02	0,44	0,56

Tabela 4-5: Análises do processo de uma diafiltração por membrana.

Permeado	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
NF da NP030	0,28	1,05	0,58
1ª DF da NP030	0,25	0,62	0,30
NF da TS40	0,01	0,34	0,47
1ª DF da TS40	0,01	0,49	0,26

Tabela 4-6: Análises do processo de duas diafiltrações por membrana.

Permeado	HMW XOS (g/L)	LMW XOS (g/L)	X1 (g/L)
NF da NP030	0,28	1,05	0,58
1ª DF da NP030	0,25	0,62	0,30
2ª DF da NP030	0,38	0,44	0,16
NF da TS40	0,01	0,33	0,41
1ª DF da TS40	0,02	0,45	0,25
2ª DF da TS40	0,02	0,65	0,15

ANEXOS

Figura 4-1: Especificação da membrana NP010.

Product Specification

NADIR® NP010 P

“Nanofiltration” Membrane

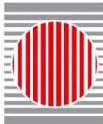
NADIR® NP010 is a polyethersulfone (PES) membrane that exhibits nanofiltration characteristics when exposed to high pressure. Its stabilized molecular weight cut-off is in the range of 1,000-1,200 Daltons after operation at 40 bar (580 psi). NP010 membrane is durable enough to be used in concentrated acid environments and caustic recovery systems with a pH range of 0 - 14. NP010 membrane sheet is available in dry flat sheet rolls and is FDA compliant.

Membrane Characteristics

Membrane Chemistry	Backing Material	Na ₂ SO ₄ Rejection Bounds (%) ^a
Polyethersulfone (PES)	Polypropylene	35 - 75

Permeability LMH/bar (GFD/psi) ^b	Thickness (µm)	pH Range
≥ 5 (≥ 0.2)	210 – 250	0.0 – 14.0

a Test conditions: 5,000 ppm Na₂SO₄, 40 bar (580 psi), 20°C (68°F). Membrane specifications may change without notice as design revisions occur.
b Test conditions: Clean water, 40 bar (580 psi), 20°C (68°F).



**MICRODYN
NADIR**

ADVANCED SEPARATION TECHNOLOGIES

Important Information

Standard Sizes: NADIR flat sheet membrane is available in an A4 sample size of 210 mm x 297 mm (8.27 in x 11.69 in) and in a nominal roll size of 150 m x 1016 mm (492 ft x 40.0 in). Custom lengths may be available on request.

Initial Flush: MICRODYN-NADIR recommends flushing membrane for 30 minutes and discarding permeate during the flush prior to operation.

Storage: Membrane shipped dry should be stored away from direct sunlight in a cool, dry place. Please see *Membrane Storage Guide – Flat Sheet Membrane* (TSG-O-011).



A MANN + HUMMEL Company

Europe
Germany: +49 611 962 6001
Italy: +39 0721 1796201
info@microdyn-nadir.de

Americas
USA: +1 805 964 8003
Brazil: +55 11 3378 7500
info@microdyn-nadir.com

Asia
China: + 86 592 677 5500
Singapore: +65 6457 7533
infochina@microdyn-nadir.cn

Figura 4-2: Especificação da membrana NP030.**Product Specification****MICRODYN
NADIR**

ADVANCED SEPARATION TECHNOLOGIES

NADIR® NP030 P
“Nanofiltration” Membrane

NADIR® NP030 is a polyethersulfone (PES) membrane that exhibits nanofiltration characteristics when exposed to high pressure. Its stabilized molecular weight cut-off is in the range of 500-600 Daltons after operation at 40 bar (580 psi). NP030 membrane is durable enough to be used in concentrated acid environments and caustic recovery systems with a pH range of 0 - 14. NP030 membrane sheet is available in dry flat sheet rolls and is FDA compliant.

Membrane Characteristics

Membrane Chemistry	Backing Material	Na ₂ SO ₄ Rejection Bounds (%) ^a
Polyethersulfone (PES)	Polypropylene	80 – 95

Permeability LMH/bar (GFD/psi) ^b	Thickness (µm)	pH Range
≥ 1 (≥ 0.04)	210 – 250	0.0 – 14.0

^a Test conditions: 5,000 ppm Na₂SO₄, 40 bar (580 psi), 20°C (68°F). Membrane specifications may change without notice as design revisions occur.

^b Test conditions: Clean water, 40 bar (580 psi), 20°C (68°F).

Important Information

Standard Sizes: NADIR flat sheet membrane is available in an A4 sample size of 210 mm x 297 mm (8.27 in x 11.69 in) and in a nominal roll size of 150 m x 1016 mm (492 ft x 40.0 in). Custom lengths may be available on request.

Initial Flush: MICRODYN-NADIR recommends flushing membrane for 30 minutes and discarding permeate during the flush prior to operation.

Storage: Membrane shipped dry should be stored away from direct sunlight in a cool, dry place. Please see *Membrane Storage Guide – Flat Sheet Membrane* (TSG-O-011).

**MICRODYN
NADIR**

ADVANCED SEPARATION TECHNOLOGIES

A MANN + HUMMEL Company

Europe
Germany: +49 611 962 6001
Italy: +39 0721 1796201
info@microdyn-nadir.de

Americas
USA: +1 805 964 8003
Brazil: +55 11 3378 7500
info@microdyn-nadir.com

Asia
China: +86 592 677 5500
Singapore: +65 6457 7533
infochina@microdyn-nadir.cn

Solving Unmet Needs with **Customized** Products

Revised Oct. 2, 2018

Figura 4-3: Especificação da membrana XN45.**PRODUCT SPECIFICATION – TRISEP® XN45**

TRISEP® XN45

High Flow NF Membrane



TRISEP® XN45 flat sheet is a piperazine-based nanofiltration membrane with the versatility to be used in process streams as well as low pressure water purification. XN45 membrane has high rejection of divalent ions while allowing the great majority of monovalent ions to pass through the membrane. With a molecular weight cut-off in the range of 300-500 Daltons, XN45 is ideal for the demineralization of organic solutes. XN45 membrane sheet is available in both dry and wet flat sheet rolls and is FDA compliant.

MEMBRANE CHARACTERISTICS

Membrane Chemistry	Backing Material	Stabilized MgSO ₄ Rejection (%) ^a	MgSO ₄ Rejection Bounds (%)
Thin-Film Polypiperazine	Non-Woven Polyester	96.0	94.0 – 98.0

Flux Range LMH (GFD) ^b	Thickness (µm)	pH Range	Chlorine Tolerance ^c
47.6 – 73.1 (28.0 – 43.0)	130 – 170	1.0 – 12.0	< 0.1 ppm

a. Typical NaCl rejection: 20%

b. Test conditions: 2,000 ppm MgSO₄, 7.6 bar (110 psi), 25°C (77°F), 15% recovery, pH 8.0, 30 minutes operation. Membrane specifications may change without notice as design revisions occur.

c. Oxidizing agents, such as free chlorine, in contact with piperazine membranes may result in shortened operating life or membrane failure.

IMPORTANT INFORMATION

Standard Sizes: TRISEP flat sheet membrane is available in a sample size of 305 mm x 1,016 mm (12 in x 40 in) and in a nominal roll size of 305 m x 1,016 mm (1,000 ft x 40 in). Custom lengths may be available on request.

Initial Flush: MICRODYN-NADIR recommends flushing membrane for 30 minutes and discarding permeate during the flush prior to operation.

Storage: Membrane is shipped dry unless wet membrane is specifically requested. Membrane shipped dry should be stored in a cool, dry place. If shipped wet, TRISEP membrane must remain sealed and refrigerated prior to use. Please see Membrane Storage Guide – Flat Sheet Membrane (TSG-O-011).

Contact

Europe
Germany: +49 611 962 6001
Italy: +39 0721 1796201
info@microdyn-nadir.com

America
USA: +1 805 964 8003
Brazil: +55 11 3378 7500
info@microdyn-nadir.com

Asia
China: +86 592 677 5500
Singapore: +65 6457 7533
infochina@microdyn-nadir.cn

DATE: 07/01/2019

MICRODYN NADIR
A MANN+HUMMEL Company

Figura 4-4: Especificação da membrana TS40.**Product Specification**

TRISEP® TS40

High Rejection NF Membrane



TRISEP® TS40 membrane delivers value by purifying and separating solutes. TS40 has high rejection of divalent and polyvalent ions while allowing the majority of monovalent ions to pass through the membrane. With a molecular weight cut-off in the range of 200-300 Daltons, TS40 is a piperazine-based membrane that is often used to demineralize and concentrate organic solutes. TS40 membrane sheet is available in both dry and wet flat sheet rolls and is FDA compliant.

Membrane Characteristics

Membrane Chemistry	Backing Material	Stabilized MgSO ₄ Rejection (%) ^a	Minimum MgSO ₄ Rejection (%)
Thin-Film Piperazine	Non-Woven Polyester	99.0	98.5

Flux Range LMH (GFD) ^b	Thickness (µm)	pH Range	Chlorine Tolerance ^c
40.8 – 61.2 (24.0 – 36.0)	130 – 170	1.0 – 12.0	< 0.1 ppm

a Typical NaCl rejection: 40%

b Test conditions: 2,000 ppm MgSO₄, 7.6 bar (110 psi), 25°C (77°F), 15% recovery, pH 8.0, 30 minutes operation. Membrane specifications may change without notice as design revisions occur.

c Oxidizing agents, such as free chlorine, in contact with polyamide membranes may result in shortened operating life or membrane failure.

Important Information

Standard Sizes: TRISEP flat sheet membrane is available in a sample size of 305 mm x 1,016 mm (12 in x 40 in) and in a nominal roll size of 305 m x 1,016 mm (1,000 ft x 40 in). Custom lengths may be available on request.

Initial Flush: MICRODYN-NADIR recommends flushing membrane for 30 minutes and discarding permeate during the flush prior to operation.

Storage: Membrane is shipped dry unless wet membrane is specifically requested. Membrane shipped dry should be stored in a cool, dry place. If shipped wet, TRISEP membrane must remain sealed and refrigerated prior to use. Please see *Membrane Storage Guide – Flat Sheet Membrane* (TSG-O-011).



A MANN + HUMMEL Company

Europe
Germany: +49 611 962 6001
Italy: +39 0721 1796201
info@microdyn-nadir.de

Americas
USA: +1 805 964 8003
Brazil: +55 11 3378 7500
info@microdyn-nadir.com

Asia
China: +86 592 677 5500
Singapore: +65 6457 7533
infochina@microdyn-nadir.cn

Solving Unmet Needs with **Customized** Products

Revised Oct. 2, 2018