



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

FLÁVIA SILVA MONTEIRO

**OBTENÇÃO DE SUCO DE AMORA-PRETA (*Rubus* spp.)
CONCENTRADO EM ANTOCIANINAS UTILIZANDO
PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
APRESENTADA À FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS UNICAMP
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE
EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PROF. DR. LUIZ ATONIO VIOTTO
Orientador

PROF^a. DR^a LOURDES MARIA CORREA CABRAL
Co-orientadora

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação
defendida por Flávia Silva Monteiro, aprovada pela comissão
juladora em 01 / 08 / 2011 .

Assinatura do Orientador

CAMPINAS - SP
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

M764o Monteiro, Flávia Silva.
Obtenção de suco de amora-preta (Rubus spp.)
concentrado em antocianinas utilizando processos de
separação por membranas / Flávia Silva Monteiro. –
Campinas, SP: [s.n], 2011.

Orientador: Luiz Antonio Viotto.
Coorientador: Lourdes Maria Correa Cabral.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Tecnologia de Membranas. 2. Amora-preta. 3.
Antocianina. 4. Atividade antioxidante. 5.
Nanofiltração. I. Viotto, Luiz Antonio. II. Cabral,
Lourdes Maria Correa. III. Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV.
Titulo.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Obtaining blackberry (Rubus spp.) juice concentrated in
anthocyanins using membrane separation processes

Palavras-chave em inglês (Keywords):

Membrane technology

Red berries

Anthocyanin

Antioxidant capacity

Nanofiltration

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Luiz Antonio Viotto [Orientador]

Márcia de Souza Araki

Renata Valeriano Tonon

Data da defesa: 01/08/2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Antonio Viotto
DEA – FEA – UNICAMP (Orientador)

Prof^ª. Dr^ª. Márcia de Souza Araki
SENAI – DR- SP (Membro Titular)

Prof^ª. Dr^ª. Renata Valeriano Tonon
EMBRAPA - CTAA (Membro Titular)

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho
DEA – FEA – UNICAMP (Suplente)

Prof^ª. Dr^ª. Leila Peres
DTP – FEQ – UNICAMP (Suplente)

*“É melhor tentar e falhar, do que preocupar-se e ver a vida passar,
É melhor tentar ainda que em vão, do que sentar-se fazendo nada até o final,
Eu prefiro na chuva caminhar, do que em dias tristes em casa me esconder,
Eu prefiro ser feliz embora louco, do que em conformidade viver”*

Martin Luther King

Dedico este trabalho aos meus pais, Djalmo e Maria das Graças, por serem exemplos de vida. À minha irmã, Fabiana e ao Marcos pelo amor, carinho e companheirismo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, renovado a cada dificuldade que se apresenta e nos sonhos que se concretizam, por amparar-me nos momentos difíceis, dar-me força interior para superar os obstáculos, mostrar o caminho nas horas incertas.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pelo auxílio e disponibilidade no desenvolvimento dos experimentos, em especial à Lourdes Cabral, meu respeito, admiração, carinho e gratidão. Obrigada por ser quem és, muito mais do que uma co-orientadora, você me acompanhou durante todas as etapas da minha vida profissional, desde o início da graduação (quando já estava desmotivada, lembra disso?!?!), acompanhando meu crescimento, orientando, ensinando, enfim foi minha segunda mãe!!!

Ao meu orientador Luiz Antonio Viotto, obrigada por me receber tão bem, pela paciência, por acreditar em mim, transferindo tanta confiança e liberdade para que eu tomasse as minhas decisões na realização deste trabalho, orientando, sugerindo e instruindo-me!!

Às pesquisadoras Virginia da Matta e Renata Tonon e às minhas queridas professoras da UFRRJ, Cristiane Hess e Stella Costa, que estiveram sempre nos bastidores, incentivando e sempre se disponibilizando para ajudar no que eu precisasse.

À minha família, em especial aos meus queridos pais Djalmo e Maria das Graças, meus exemplos, minha base! Muito obrigada pelas orações, pelos conselhos (acho que “Calma, filha!” eu ouvi muitas vezes, né Pai?!?!), consolo, estímulo, compreensão, força (pois quando estou fraca, aí é que sou forte, não mesmo mãe?!?!?) e o grande amor dado a mim em todos os momentos. À minha irmã e cunhado, por serem SEMPRE presente, compartilhar e incentivar em todos os momentos e até mesmo para discordar e dizer: “Não é assim!!”. Aos meus avós, que sempre torceram e me apoiaram incondicionalmente, muitas vezes entendendo as minhas ausências.

Ao meu namorado Marcos, que em todo tempo esteve comigo, ouvindo, aconselhando, acalmando, ajudando, apoiando, ensinando, enfim, obrigada pelo seu amor incondicional, companheirismo, paciência para suportar as minhas “explosões” e sempre estar ali compreendendo que era passageiro.

À minha “prima-irmã” Gaby, que mesmo distante e sem que eu falasse uma só palavra, ela me compreendia!! Obrigada prima, você é essencial para mim!

Em especial, a minha amiga Poli, sem você certamente, a minha “mini adaptação” teria sido

muito mais difícil!! Obrigada por todos os momentos em que você esteve comigo, animando, aconselhando e cuidando de mim!!! Você é muito especial!!!

À Mônica Pagani e Flávia Gomes, que sempre torceram por mim, compartilharam dos momentos bons e ruins, e mesmo distantes, se faziam muito presente, nossa sintonia é perfeita! Obrigada por tudo!! Vocês são meus tesouros!!!

Ao casal Daniel e Aline, que estiveram sempre torcendo por mim, me motivando via skype, tornando meus dias longe de casa mais alegres! Amigos, quero sempre tê-los por perto!!

Aos novos presentes conquistados: Carlinha, conhecer e compartilhar conversas, histórias com você foi importante e essencial!! Ju, foi tudo tão conturbado quando a conheci, que não sabia que nos tornaríamos tão amigas, obrigada por cuidar de mim, por ser a minha irmãzinha mais velha, sempre me animando para que eu nunca desanimasse. Rafa e Candida, vocês tornaram meus dias mais alegres nos trajetos de idas e vindas da Embrapa!

Às minhas amigas da graduação: Alessandra, Aline, Maria, Luciana, Marcela, Mayra e Priscila, Roberta...obrigada por tudo sempre!!!

Às meninas da UBUCa, em especial Maria Fernanda e Roberta... vocês fizeram parte da minha história e se tornaram muito importante para mim!!

Às amigas de mestrado: Ju, Carla e Priscila... obrigada por todos os momentos que passamos juntas, pela amizade e apoio dedicados a mim, o meu carinho por vocês é muito grande e a nossa amizade vai continuar por mais longe que estejamos!

Aos amigos e companheiros de trabalho: Alcilúcia, Ana Paula, André, Isabela, Izabella, Isabelle, Lívia, Lucas, Luciana e Tatiana, aos funcionários da Embrapa, Flávia Gomes, Filé, Luiz Fernando e William e aos funcionários da FEA, em especial à técnica Camilla, muito obrigada pelo apoio nos experimentos, pela amizade e companhia, contribuições com idéias e ajuda, pela boa convivência que me permitiu desenvolver o trabalho com maior dedicação, sem vocês eu não teria conseguido!!!

Aos membros da banca examinadora, pelo aceite e contribuições indispensáveis a este trabalho. Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos e à Universidade Estadual de Campinas.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim, a todos aqueles que realmente torceram e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
RESUMO.....	xix
ABSTRACT	xx
1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral	23
2.2 Objetivos específicos	23
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1 A Amora-preta	25
3.2 Composição	26
3.3 Antocianinas	27
3.4 Ação Antioxidante	29
3.5 Processos de Separação por Membranas (PSM).....	30
3.5.1 Membranas	32
3.5.2 Tipos de Processos.....	33
3.5.2.1 Microfiltração (MF) e Ultrafiltração (UF).....	34
3.5.2.2 Nanofiltração (NF).....	35
3.5.3 Fenômenos envolvidos no processo	36
3.5.3.1 Polarização de concentração	37
3.5.3.2 Incrustação	39
3.5.4 Parâmetros do processo	40
3.5.4.1 Fluxo de permeado (J)	40
3.5.4.2 Fator de Concentração Volumétrico (FCV).....	40
3.5.4.3 Índice de Retenção (IR)	41
3.5.4.4 Pressão aplicada à membrana (P_M).....	41
3.5.5 Tecnologia de Membranas no Processamento de Sucos de Fruta	42
3.6 Modelagem Matemática	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	47

4.1	Material.....	47
4.1.1	Matéria-prima	47
4.1.2	Membranas	47
4.2	Métodos	47
4.2.1	Obtenção do suco de amora-preta.....	47
4.2.2	Pré-Tratamento Enzimático	48
4.2.3	Processos de Separação por Membranas	48
4.2.3.1	Limpeza do Sistema de Membranas.....	51
4.2.3.1	Fluxograma de Processo - 1	52
4.2.3.1.1	Microfiltração (MF)	52
4.2.3.1.2	Ultrafiltração (UF).....	53
4.2.3.1.3	Nanofiltração (NF)	53
4.2.3.2	Fluxograma de Processo – 2	53
4.2.4	Determinações Analíticas	54
4.2.4.1	pH.....	54
4.2.4.2	Acidez total titulável	55
4.2.4.3	Teor Sólidos solúveis em °Brix.....	55
4.2.4.4	Teor de sólidos totais e umidade.....	55
4.2.4.5	Capacidade Antioxidante	55
4.2.4.6	Teor de Antocianinas	56
4.2.4.6.1	Quantificação de Antocianinas pelo método do pH diferencial.....	56
4.2.4.6.2	Quantificação de Antocianinas por CLAE.....	57
4.2.5	Modelagem Matemática	59
5	RESULTADOS	60
5.1	Fluxograma de Processo - 1	60
5.1.1	Microfiltração	60
5.1.2	Ultrafiltração.....	65
5.1.3	Nanofiltração	67
5.1.4	Determinações Analíticas	69

5.1.4.1	Propriedades Físicas.....	69
5.1.4.2	Antocianinas	71
5.1.4.3	Capacidade Antioxidante (CA).....	73
5.2	Fluxograma de Processo – 2	74
5.2.1	Sequência A	74
5.2.2	Sequência B	76
5.2.3	Sequência C	77
5.2.4	Determinações Analíticas	77
5.2.4.1	Antocianinas	77
5.2.4.2	Capacidade Antioxidante (CA).....	81
5.2.5	Análise Global das Combinações	82
5.3	Modelagem Matemática	85
6	CONCLUSÕES	87
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	88
	REFERÊNCIAS	89
	APÊNDICES	100

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1- Amora-preta cv. Tupy.....	26
Figura 3.2- Estrutura química da cianidina-3-O-glicosídeo e da cianidina-3-O-rutenosídeo .	28
Figura 3.3- Esquema da filtração convencional e da filtração tangencial.	32
Figura 3.4- Principais Características dos Processos que Utilizam Diferença de Pressão como Força Motriz	34
Figura 3.5- Curva típica de fluxo permeado.....	37
Figura 3.6- Polarização de concentração na superfície da membrana	38
Figura 4.1- Representação esquemática do sistema de membranas	50
Figura 4.2- Foto do Sistema de membranas	50
Figura 4.3- Permeabilidade hidráulica em diferentes condições de temperatura	51
Figura 4.4- Fluxograma de Processo 1	52
Figura 4.5- Fluxograma de Processo 2	54
Figura 5.1- Fluxo permeado do processo de MF de suco de amora-preta.	61
Figura 5.2- Volume de permeado ao longo do processo de MF de suco de amora-preta	62
Figura 5.3- FCV ao longo do processo de MF de suco de amora-preta.....	63
Figura 5.4- Comportamento do Fluxo permeado da MF com o aumento do FCV	64
Figura 5.5- Fluxo permeado da MF de suco de amora-preta com e sem T.E.	64
Figura 5.6- Fluxo permeado da UF do permeado de suco de amora-preta microfiltrado	66
Figura 5.7- Comportamento do Fluxo permeado da UF com o aumento do FCV	67
Figura 5.8- Fluxo permeado do processo de NF de suco de amora-preta ultrafiltrado	68
Figura 5.9- Comportamento do Fluxo permeado da NF com o aumento do FCV	69
Figura 5.10- Comparação dos fluxos permeados da UF nas duas etapas do trabalho, fluxograma 1 (UF 1, 2 e 3), apresentado na Figura 5.6, e fluxograma 2 (sequência A e B)....	75
Figura 5.11- Fluxo permeado da NF nas três diferentes sequências A, B e C.	76
Figura 5.12- Comparação dos fluxos permeados da MF nas duas etapas do trabalho, fluxograma 1 (MF 1, 2 e 3), apresentado na Figura 5.1, e fluxograma 2 (sequências B e C)..	77
Figura 5.13- Perfil cromatográfico das antocianinas majoritárias do suco de amora-preta	79
Figura A.1- Curva de fluxo permeado acumulado da MF ₁ com o tempo	101
Figura A.2- Curva de fluxo permeado acumulado da MF ₂ com o tempo	102

Figura A.3- Curva de fluxo permeado acumulado da MF ₃ com o tempo	103
Figura A.4- Curva de fluxo permeado acumulado da MF s/ T.E. com o tempo	104
Figura B.1- Curva de fluxo permeado acumulado da UF ₁ com o tempo	106
Figura B.2- Curva de fluxo permeado acumulado da UF ₂ com o tempo	107
Figura B.3- Curva de fluxo permeado acumulado da UF ₃ com o tempo	109
Figura C.1- Curva de fluxo permeado acumulado da NF ₁ com o tempo	111
Figura C.2- Curva de fluxo permeado acumulado da NF ₂ com o tempo	112
Figura C.3- Curva de fluxo permeado acumulado da NF ₃ com o tempo	114
Figura D.1- Curva de fluxo permeado acumulado da UF _A com o tempo	116
Figura D.2- Curva de fluxo permeado acumulado da NF _A com o tempo	117
Figura D.3- Curva de fluxo permeado acumulado da MF _B com o tempo	118
Figura D.4- Curva de fluxo permeado acumulado da UF _B com o tempo	119
Figura D.5- Curva de fluxo permeado acumulado da NF _B com o tempo	120
Figura D.6- Curva de fluxo permeado acumulado da MF _C com o tempo	121
Figura D.7- Curva de fluxo permeado acumulado da NF _C com o tempo	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1- Composição da amora-preta in natura.....	26
Tabela 5.1- Caracterização das amostras de alimentação, permeado e retido do suco de amora-preta (<i>Rubus</i> spp.).....	70
Tabela 5.2 Teor de Antocianinas nas diferentes frações dos diferentes processos.	72
Tabela 5.3- Capacidade Antioxidante nas diferentes frações dos diferentes processos.	74
Tabela 5.4- Teor de Antocianinas analisados por pH diferencial e CLAE	78
Tabela 5.5- Concentração e índice de retenção das antocianinas majoritárias nas diferentes combinações de PSM realizadas.....	80
Tabela 5.6- Capacidade Antioxidante das combinações de processos A, B e C.	81
Tabela 5.7- Resumo dos dados obtidos em todos os processos do fluxograma 2 para análise global das combinações.	83
Tabela 5.8- Valores reais e estimados para análise geral das três combinações (A, B e C)....	84
Tabela 5.9- Coeficientes de Correlação (R^2) obtidos pelos modelos testados em todos os processos realizados.	85
Tabela 5.10- Parâmetros relacionados ao declínio do fluxo permeado obtidos pelos modelos aplicados.....	86
Tabela A.1- Dados experimentais para MF ₁	100
Tabela A.2- Dados experimentais para MF ₂	101
Tabela A.3- Dados experimentais para MF ₃	102
Tabela A.4- Dados experimentais para MF sem T.E.....	103
Tabela B.1- Dados experimentais para UF ₁	105
Tabela B.2- Dados experimentais para UF ₂	106
Tabela B.3- Dados experimentais para UF ₃	108
Tabela C.1- Dados experimentais para NF ₁	110
Tabela C.2- Dados experimentais para NF ₂	111
Tabela C.3- Dados experimentais para NF ₃	113
Tabela D.1- Dados experimentais para UF _A	115
Tabela D.2- Dados experimentais para NF _A	116
Tabela D.3- Dados experimentais para MF _B	117

Tabela D.4- Dados experimentais para UF_B	118
Tabela D.5- Dados experimentais para NF_B	119
Tabela D.6- Dados experimentais para MF_C	120
Tabela D.7- Dados experimentais para NF_C	121
Tabela E.1- Coeficientes de Correlação (R^2) obtidos pelos modelos testados em todos os processos realizados	123
Tabela E.2- Parâmetros relacionados ao declínio do fluxo permeado obtidos pelos métodos aplicados.	123

NOMENCLATURA

A = Alimentação

A_p = área de permeação

b = constante dos modelos matemáticos de Cheryan que caracteriza a incrustação

C_A = Concentração de antocianinas na alimentação (mg/100g)

C_p = Concentração de antocianinas no permeado (mg/100g)

C_R = Concentração de antocianinas no retido (mg/100g)

CA = Capacidade Antioxidante ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$)

CLAE = Cromatografia de Alta Eficiência

FCV = Fator de concentração

J = Fluxo de permeado (L/hm^2)

J_0 = Fluxo inicial de permeado

J_F = Fluxo final de permeado

k = constante do modelo matemático de Cheryan que caracteriza a incrustação

k_p = constante relacionada a taxa de declínio do fluxo devido à camada polarizada

k_f = constante relacionada a taxa de declínio do fluxo devido à incrustação

MF = Microfiltração

NF = Nanofiltração

P = Permeado

P_e = Pressão de entrada da membrana (bar)

P_M = Pressão aplicada à membrana (bar)

P_s = Pressão de saída da membrana (bar)

PSM = Processo de Separação por Membranas

IR = Índice de retenção

R = Retido

R^2 = Coeficiente de correlação

T.E. = Tratamento enzimático

t = Tempo (min, h)

UF = Ultrafiltração

V_A = Volume inicial da alimentação (L, mL)

V_P = Volume do permeado (L, mL)

V_R = Volume do retido (L, mL)

λ = Taxa de declínio do fluxo (h^{-1})

RESUMO

As amoras-pretas (*Rubus* spp.), além de serem boas fontes de vitaminas e minerais, são ricas em antioxidantes naturais, como os ácidos fenólicos e flavonóides, entre eles as antocianinas, que também conferem ao suco coloração altamente atrativa, embora o tornem instável a tratamentos térmicos severos, que podem resultar em produtos escurecidos e de sabor alterado. A busca dos consumidores por alimentos que preservem suas características sensoriais e nutricionais após o processamento industrial tem levado as indústrias a investir em novas tecnologias menos agressivas à matéria-prima inicial, para adequar-se a essa nova tendência de mercado. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo a obtenção de suco de amora-preta concentrado em antocianinas, utilizando processos de separação por membranas, especificamente a microfiltração (MF), ultrafiltração (UF) e nanofiltração (NF). O suco foi obtido a partir do despulpamento de frutos de amora-preta (*Rubus* spp.) em despulpadeira com peneira de 0,8 mm e submetido aos processos de centrifugação e hidrólise enzimática, a fim de padronizar o teor de sólidos insolúveis e reduzir sua viscosidade e conseqüentemente aumentar o fluxo permeado do processo. Os processos de MF, UF e NF foram avaliados individualmente e acoplados entre si, tendo como variáveis de resposta o fluxo permeado, o teor de antocianinas e a capacidade antioxidante. Todos os processamentos foram realizados em um sistema com módulo quadro e placas com membranas a base de polímero fluorado e com tamanho de poro de 0,15 µm (MF), membranas de polissulfona com *cut off* de 20 kDa (UF) e membrana composta com rejeição ao MgSO₄ maior que 98% (NF), com recirculação da corrente de retido e recolhimento contínuo do permeado, a 35°C e pressão aplicada à membrana de 5 bar (MF), 10 bar (UF) e 20 bar (NF). O fluxo permeado foi menor na ultrafiltração, a retenção de antocianinas foi eficiente na nanofiltração e ocorreu um aumento da capacidade antioxidante na fração retida comparado à alimentação, de aproximadamente 2 vezes na MF e NF e em 2,4 na UF. Observou-se também que o teor de antocianinas foi mantido na micro e ultrafiltração comprovando a eficácia da tecnologia de membranas na manutenção desta importante característica do suco de amora-preta, motivando a continuidade da pesquisa na aplicação deste processo para a obtenção de novos produtos com maior valor agregado.

Palavras chave: frutas vermelhas; antocianinas; atividade antioxidante, tecnologia de membranas, nanofiltração.

ABSTRACT

Blackberries (*Rubus* spp.), besides being good sources of vitamins and minerals, are rich in natural antioxidants such as phenolic acids, flavonoids and anthocyanins that causes attractive juice staining, but at the same time, makes it severely unstable to thermal treatment, which can result in dark products and altered taste. The search for food consumers to preserve natural nutritional and sensory characteristics after processing has led food industries to invest in new technologies less harmful to the initial raw material and to adapt to this new market trend. In this context, this study aimed to obtain blackberry juice concentrated in anthocyanins, using membrane separation processes, specifically microfiltration (MF), ultrafiltration (UF) and nanofiltration (NF). The juice was obtained by pulping the fruit of blackberry (*Rubus* spp.) fruits using a removal device with a 0.8 mm sieve. This juice was then subjected to the centrifugation process and enzymatic hydrolysis in order to standardize the amount of insoluble solids, and reduce its viscosity and consequently increase the permeate flux of the process. The processes of MF, UF and NF were evaluated individually and coupled together with response variables such as the permeate flux, the anthocyanin content and antioxidant capacity. All the process were carried out in a plate and frame module with membrane-based fluoropolymer and pore size of 0.15 micrometre (MF), polysulfone membranes with cut off 20 kDa (UF) and composite membrane with MgSO₄ rejection of greater than 98% (NF), with recirculation of the retentate stream and continuous collection of the permeate at 35 °C as well as pressures applied to the membrane of 5 bar (MF), 10 bar (UF) and 20 bar (NF). The permeate flux was lower in ultrafiltration, and the anthocyanin retention in nanofiltration was effective; there was an increase in antioxidant capacity in the retained fraction compared to food, of approximately two times the MF and NF and 2.4 at UF. Additionally, it was observed that the anthocyanin's content was preserved in the micro- and ultrafiltration, proving the efficiency of the membrane technology to maintain this important feature of the blackberry juice, motivating continued research in applying this process to obtain new products with higher added value.

Keywords: red berries; anthocyanins; antioxidant capacity; membrane technology; nanofiltration.

1 INTRODUÇÃO

A expressão “pequenas frutas” é utilizada na literatura internacional para referenciar diversas culturas tais como a da amora-preta, morango, framboesa, groselha, mirtilo entre outras. A procura por estas frutas pelo consumidor é resultante da atratividade atribuída à cor e sabor, bem como aos benefícios para a saúde, devido principalmente à elevada presença de compostos fenólicos, que apresentam alta atividade antioxidante, mais especificamente as antocianinas, pigmentos responsáveis pela variação de cores do vermelho ao roxo presentes em frutas, flores e folhas (MOTA, 2006). Estas características conferem um cenário promissor para o cultivo das pequenas frutas, sobretudo no Brasil, onde seu cultivo é muito recente, comparado com países como Estados Unidos, Chile e Itália (HOFFMANN *et al.*, 2005).

No Brasil, a cultura da amora-preta foi introduzida na cidade de Pelotas, no estado do Rio Grande do Sul, por pesquisadores do Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado da Embrapa, em 1972, quando chegaram as primeiras plantas procedentes da Universidade de Arkansas. A aceitação desta fruteira pelos produtores levou a Embrapa Clima Temperado a desenvolver um Programa de Melhoramento Genético, o qual deu origem a diversas cultivares mais adaptadas às condições de solo e de clima da região (SANTOS *et al.*, 1996).

A amoreira-preta tem se caracterizado pelo baixo custo de produção, facilidade de manejo e pouca utilização de defensivos agrícolas. É uma planta rústica que apresenta frutas de alta qualidade nutricional e valor econômico significativo, cujo cultivo vem crescendo nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo. Em Minas Gerais, suas características agronômicas vêm sendo trabalhadas como uma das opções para a pequena propriedade agrícola (ANTUNES, 2002).

Entretanto, devido à estrutura frágil e alta taxa respiratória dos frutos, sua vida pós-colheita é relativamente curta (MORRIS *et al.*, 1981), sendo os frutos comercializados preferencialmente na forma industrializada. Já na década de 1980, Nelson & Tressler (1980) afirmaram que o grande mercado para produtos de amora-preta seria focado na produção do suco clarificado e concentrado; base da elaboração de uma vasta gama de

produtos, como caldas para sorvetes, geléias, xaropes, bebidas alcoólicas e refrescos. Também pode ser utilizado para confecção de misturas com suco de outras frutas.

O aumento do consumo de produtos industrializados, aliado à busca por alimentos que preservem suas características sensoriais e nutricionais após o processamento industrial, tem levado as indústrias a investir em tecnologias para adequar-se a essa nova tendência de mercado, através de processamentos menos agressivos à matéria-prima inicial, como por exemplo, a substituição do tratamento térmico por tecnologias que além de manter a qualidade do produto garantam também as condições de segurança aos alimentos processados. É neste contexto que os processos de separação com membranas surgem como uma opção aos processos tradicionais de conservação e concentração de sucos de frutas. Esses processos são normalmente conduzidos sob condições amenas de temperatura, evitando desta forma a oxidação e degradação de compostos termolábeis e permitindo a obtenção de produtos com a qualidade sensorial e nutricional preservada (MULDER, 1991).

A importância do mercado potencial para o consumo de amora-preta, fonte rica de compostos relacionados à promoção da saúde e prevenção de doenças e a busca por tecnologias para elaboração de outros produtos com maior valor agregado, motivou o presente trabalho, que tem por objetivo a obtenção de suco de amora-preta (*Rubus spp.*) concentrado em antocianinas utilizando processos de separação por membranas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter frações de suco de amora-preta (*Rubus* spp.) ricas em antocianinas utilizando combinações de processos de separação por membranas (PSM).

2.2 Objetivos específicos

- Combinar os processos de UF/NF, MF/UF/NF, MF/NF e determinar a melhor combinação de processo para concentração de antocianinas;
- Verificar o comportamento do fluxo permeado dos diferentes processos;
- Realizar a caracterização físico-química de todas as frações (alimentação, permeado e retido) dos processos de micro, ultra e nanofiltração;
- Determinar a retenção das antocianinas nos diferentes processos;
- Determinar o modelo matemático que melhor se ajusta aos dados experimentais de fluxo de permeado.



3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A Amora-preta

A amora-preta (*Rubus* spp.) pertence à família Rosaceae, gênero *Rubus*, formando um grupo diverso e bastante difundido, para o qual se estima existir entre 400 a 500 espécies, conhecidas como *berries*, cujo termo vem sendo usado comumente para descrever qualquer fruta pequena, de sabor adocicado e formato arredondado (JEPSON & CRAIG, 2005). O cultivo da amora-preta começou na segunda metade do século XIX nos Estados Unidos, onde é conhecida como *blackberry*. No Brasil, as primeiras culturas foram introduzidas em 1972, no Centro de Pesquisa da Embrapa Clima Temperado localizada em Pelotas-RS. Esta cultura apresentou boa adaptação e tem alcançado alta produtividade devido as condições climáticas desta região, a qual permite o cultivo de frutas das espécies de clima temperado (ANTUNES, 2002, ANTUNES & RASEIRA, 2004, NACHTIGALL *et al.*, 2004). Além das cultivares inicialmente introduzidas, Brazos, Comanche e Cherokee, a Embrapa Clima Temperado desenvolveu um programa de melhoramento genético originando as cultivares Ébano, Negrita, Tupy, Guarani, Cainguangue e Xavante (SANTOS *et al.*, 1996).

Segundo relatos de Chim (2008), atualmente a cultivar Tupy (Figura 3.1) é mais plantada no Brasil, a qual resultou do cruzamento das cultivares Uruguai e Comanche, realizado pela Embrapa Clima Temperado em 1982. A colheita destas frutas ocorre entre meados de novembro a início de janeiro.



Fonte: JAQUES, A.C., 2008.

Figura 3.1- Amora-preta cv. Tupy

A amora-preta possui estrutura frágil e alta atividade respiratória dos frutos, com isso sua vida pós-colheita é relativamente curta, sendo os frutos comercializados preferencialmente na forma industrializada. Os frutos podem ser congelados, enlatados, processados na forma de polpa para utilização em produtos lácteos (como matéria-prima ou aditivo de cor e sabor), sucos e geléias (ANTUNES, 2002; ANTUNES *et al.*, 2003).

De acordo com Nelson & Tressler (1980), o grande mercado para produtos de amora-preta é gerado a partir do suco clarificado e concentrado; base da elaboração de uma vasta gama de produtos, como caldas para sorvetes, geléias, xaropes, bebidas alcoólicas e refrescos. Também pode ser utilizado para confecção de misturas com suco de outras frutas.

3.2 Composição

A amoreira-preta “*in natura*” é altamente nutritiva (REYES-CARMONA *et al.*, 2005), conforme apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Composição da amora-preta *in natura*

CONSTITUINTE	QUANTIDADE (%)
Água	85,0
Proteína	1,5
Gordura	0,03-0,08
Carboidratos	6-13
Fibras	3,5-4,7
Cinzas	0,19-0,47

Fonte: REYES-CARMONA *et al.*, 2005.

Fazem parte da composição de açúcares encontrados em amora-preta, a glicose, a frutose, a sacarose, a maltose e a galactose. Os ácidos orgânicos encontrados são o málico, cítrico, fosfórico, isocítrico e quínico. A acidez total de amora-preta pode variar de 1 a 4% e o pH de 2 a 4. Já a variação dos sólidos solúveis tem uma grande amplitude, de 7,5 a 16,1%, sendo o balanço entre acidez e sólidos solúveis o responsável pelo sabor característico (REYES-CARMONA *et al.*, 2005). Ainda na amora-preta, são encontradas outras substâncias como os fitoquímicos, ou compostos secundários. Estas substâncias são produzidas naturalmente pelas plantas para se protegerem do ataque de pragas e doenças, e também ajudam a planta a resistir a condições adversas do ambiente. Muitos destes fitoquímicos atuam na prevenção e no combate de doenças crônicas como o câncer e as doenças cardiovasculares. Exemplos de fitoquímicos encontrados em amora-preta são as antocianinas, que dão a coloração vermelha e roxa das frutas, os carotenóides que são responsáveis pela coloração alaranjada, e ainda, existem vários outros fitoquímicos que não apresentam cor como os ácidos fenólicos, por exemplo, mas são de grande importância para a saúde. A concentração dos compostos fitoquímicos presentes na amora-preta é influenciada por fatores como o tipo de cultivar, das condições ambientais e climáticas na pré-colheita, das doenças da planta, dos procedimentos de colheita, do ponto de maturação na colheita, da localização geográfica, da exposição à luz solar, das condições de estocagem pós-colheita e do tipo de processamento a que é submetido o fruto. Os estudos realizados ao redor do mundo demonstram que o consumo de frutas e hortaliças está relacionado à prevenção das doenças crônicas, provavelmente, devido ao aumento no consumo de compostos antioxidantes (SELLAPAN *et al.*, 2002; ZADERNOWSKI *et al.*, 2005).

De um modo geral, todos estes compostos presentes em amora-preta, considerados bioativos, podem atuar na saúde humana como quimioprotetores em virtude do seu potencial antioxidante.

3.3 Antocianinas

As antocianinas, compostos classificados como flavonóides, são pigmentos solúveis em água que conferem as várias nuances entre laranja, vermelho e azul, exibidas pelas frutas, hortaliças, folhas, flores e raízes. Ultimamente, relatos científicos têm demonstrado

que as antocianinas apresentam efeitos fisiológicos capazes de reduzir o risco de doenças (LIMA & GUERRA, 2003). Dentre as antocianinas presentes na amora-preta destacam-se a cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo (Figura 3.2), como as mais representativas. (DAO *et al.*, 1998).

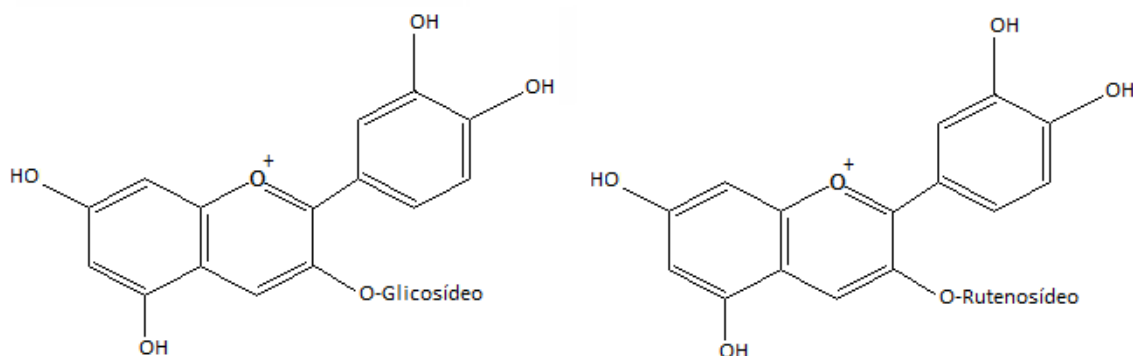


Figura 3.2- Estrutura química da cianidina-3-O-glicosídeo e da cianidina-3-O-rutenosídeo

O principal interesse das antocianinas na tecnologia de alimentos se refere à conferência de coloração adequada e desejada. No entanto, como trata-se de um íon, o cátion flavilium se mostra muito reativo. As reações decorrentes em geral resultam na descoloração do pigmento e quase sempre são indesejáveis no processamento de frutas e hortaliças. As antocianinas normalmente são mais estáveis sob condições ácidas, porém podem se degradar por qualquer mecanismo que leve à formação de compostos escuros e/ou insolúveis (JACKMAN & SMITH, 1992). Esta degradação pode ocorrer durante o processamento e/ou armazenamento do alimento, sendo que os principais fatores que influenciam na estabilidade destes pigmentos são: pH, temperatura, presença de oxigênio e enzimas, além da interação com outros componentes do alimento como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos (BOBBIO & BOBBIO, 1992; JACKMAN & SMITH, 1992).

Hassimotto *et al.* (2004) identificaram os compostos fenólicos de cinco cultivares de amora-preta e em todos os casos, a cianidina foi o pigmento predominante contribuindo com aproximadamente 66-80% do total de antocianinas.

Wang & Lin (2000) demonstraram em seus estudos que a atividade anti-radical livre

presente em amoras-pretas está altamente associada ao elevado teor de antocianinas. Este pigmento que confere a forte coloração roxa na fruta foi encontrado em níveis de 70 a 200 mg/100 g de amora de diversas espécies de *Rubus* spp., entretanto os teores não diferiram significativamente entre as cultivares (WROLSTAD *et al.*, 2005).

Além de compostos fenólicos, como as antocianinas, outros compostos bioativos como os carotenóides estão presentes em *Rubus* spp, porém em quantidades menos expressivas (MARINOVA & RIBAROVA, 2007).

3.4 Ação Antioxidante

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação. A atividade antioxidante de compostos fenólicos é principalmente devida às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres (átomos ou moléculas com um ou mais elétrons não pareados). Em geral, existem duas categorias básicas de antioxidantes: os naturais e os sintéticos (ANTUNES & CANHOS, 1984; FENNEMA, 1993; BRENNAN & PAGLIARINI, 2001; WANG & ZHENG, 2001).

A partir do início da década de 1980, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico tem aumentado consideravelmente, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese (SIMÃO, 1986; WANG & ZHENG, 2001; MELO & GUERRA, 2002).

Tem sido relatado que as substâncias antioxidantes desempenham um papel fundamental na prevenção de determinadas enfermidades, como doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, inflamações e outras relacionadas à ação de radicais livres em nível celular (SCALBERT & WILLIAMSON, 2000). Tais moléculas são capazes de doar íons hidrogênio, formando uns radicais pouco reativos, anulando o potencial inicial dos radicais livres, altamente reativos.

A associação entre o consumo de produtos naturais de plantas (fitoquímicos) e a

saúde vem sendo avaliada em diversos estudos epidemiológicos, realizados *in vitro* e *in vivo*. Embora não se conheça o exato mecanismo de ação destes compostos no interior do organismo humano e da célula, a hipótese mais aceita para explicar sua ação é que estes fitoquímicos atuam como potentes agentes antioxidantes (KONGO *et al.*, 1999).

Um estudo recente relacionando a capacidade antioxidante com o teor de antocianinas presentes em amora-preta, avaliou sua habilidade em sequestrar radicais peróxidos e superóxidos. Os testes foram realizados antes e após o processamento térmico da amora cultivar Apache, demonstrando que o branqueamento e a pasteurização do suco não afetaram a capacidade antioxidante, pois o aumento de antocianinas poliméricas compensou o decréscimo de antocianinas monoméricas após o processamento (HAGER *et al.*, 2008).

A capacidade antioxidante é interessante também do ponto de vista tecnológico. Compostos fenólicos podem intervir como antioxidantes naturais nos alimentos. A obtenção ou preparo de alimentos com um alto conteúdo desses compostos supõe uma redução da adição de aditivos químicos antioxidantes, resultando em alimentos mais saudáveis, que podem ser incluídos na classe dos alimentos funcionais (MARTÍNEZ-VALVERDE *et al.*, 2000).

3.5 Processos de Separação por Membranas (PSM)

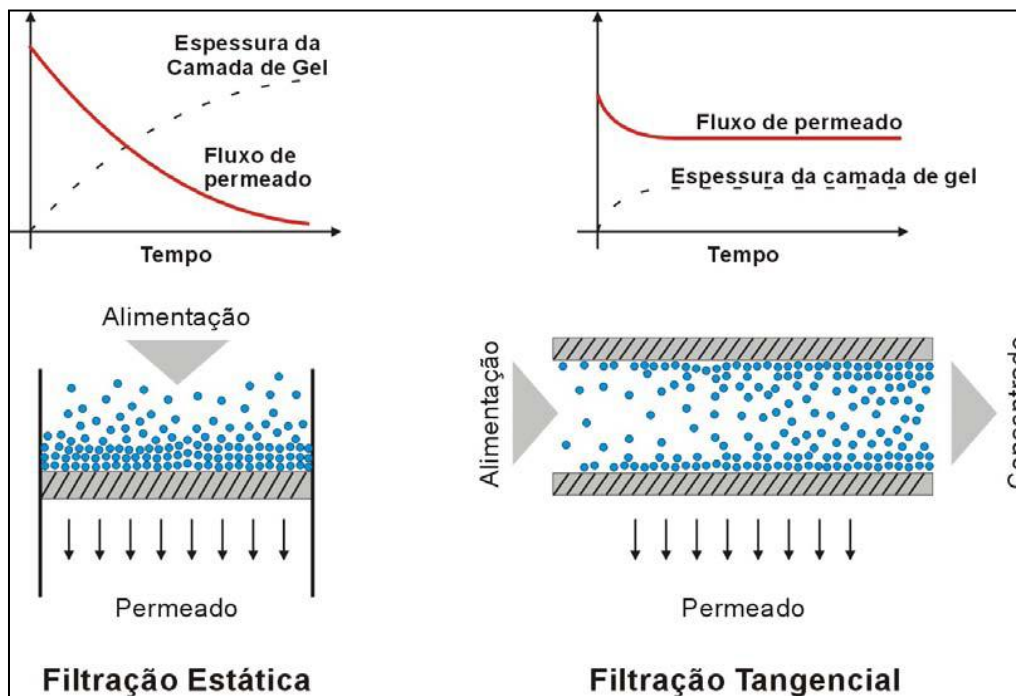
Os processos de separação que utilizam membranas tornaram-se alternativa aos outros processos de separação existentes e têm sido muito difundido nos últimos anos. Podem ser classificados de acordo com a natureza da força motriz que promove passagem dos componentes pela membrana. Segundo Mulder (1991), a membrana pode ser definida como uma barreira seletiva que permite a passagem de alguns componentes de uma mistura e restringe o transporte de outros.

Como citado, para que ocorra o transporte de uma espécie através de uma membrana é necessária a existência de uma força motriz agindo sobre a mesma, que pode ser o gradiente de potencial químico e/ou o gradiente de potencial elétrico. Como os processos com membranas são, em sua grande maioria, atérmicos, o gradiente de potencial químico

pode ser expresso, apenas em termos do gradiente de pressão e de concentração (HABERT *et al.*, 2006).

Os processos de separação que utilizam o gradiente de pressão como força motriz são empregados para concentrar, fracionar e purificar soluções diluídas ou dispersões coloidais. O tipo de processo a ser empregado, como a microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa, dependerá do tipo de solutos, presença ou não de partículas em suspensão e do tipo de membrana (MULDER, 1991).

Dois tipos de configurações hidrodinâmicas podem ser utilizados no processo de separação por membranas (PSM); o método de filtração convencional ou frontal, denominado “*dead-end*”, e a filtração tangencial “*cross flow*”, que podem ser observados na Figura 3.3. Na filtração convencional, o permeado passa através da membrana e o soluto, ou os materiais em suspensão, são retidos, acumulando-se na superfície da membrana. Trata-se de um modo de operação fundamentalmente transiente, uma vez que a concentração do soluto próximo à membrana aumenta com o tempo. Os sistemas de filtração tangencial são mais eficientes, a solução ou suspensão escoam paralelamente à superfície da membrana enquanto o permeado é transportado transversalmente à mesma. Esse fluxo não evita a formação da camada de polarização, mas ameniza o fenômeno, que será descrito posteriormente (HABERT *et al.*, 2006).



Fonte: HO & SIRKAR (1992) citado por AMARAL (2004).

Figura 3.3- Esquema da filtração convencional e da filtração tangencial.

3.5.1 Membranas

As membranas, em função da aplicação a que se destinam, podem ser classificadas em duas grandes categorias: densas ou porosas. Tanto as membranas densas como as porosas podem ser isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas), ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura. A espessura para membranas simétricas (porosas ou densas) apresenta-se em uma faixa aproximada de 10 a 200 μm , sendo que a resistência à transferência de massa é determinada pela espessura total da membrana. Uma diminuição na espessura da membrana resulta em incremento de taxa de permeação. As membranas assimétricas consistem em membranas com uma camada externa densa com espessuras na faixa de 0,1 a 0,5 μm , sendo essa camada externa suportada por uma subcamada com espessura na faixa aproximada de 50 a 150 μm (MULDER, 1991).

Como mencionado anteriormente, a função da membrana é determinada pelas propriedades de transporte dos diferentes componentes presentes na mistura que será processada e das características morfológicas da membrana. O fluxo dos componentes é

proporcional à força motriz aplicada, sendo o coeficiente de proporcionalidade denominado de permeabilidade. A permeabilidade de um componente em uma membrana é função de sua afinidade físico-química e mobilidade no material da membrana, no caso de membranas densas, e de parâmetros estruturais e características da mistura, nos processos com membranas porosas (MULDER, 1991).

Para que uma membrana possa ser utilizada na indústria de alimentos deve apresentar as seguintes propriedades: ser química e biologicamente inerte, resistente a amplas faixas de pH e temperatura, apresentar fácil sanificação e limpeza mecânica, capacidade de esterilização e permeabilidade seletiva, estabilidade dimensional e ter alta resistência mecânica (RAUTENBACH & ALBRECHT, 1989).

3.5.2 Tipos de Processos

Segundo Porter (1990), as diferentes taxas de transferência de massa dos compostos que resultam na sua seleção são determinadas pela mobilidade e concentração do soluto na interface e pela força motriz aplicada. A mobilidade depende do tamanho da molécula do composto e da estrutura física da membrana. Esses mesmos parâmetros, além da compatibilidade química entre o soluto e o material da membrana, determinam a concentração do soluto na interface. Dentre os processos de membrana que utilizam a pressão como força motriz estão a microfiltração, a ultrafiltração, a nanofiltração e a osmose inversa, cujas principais diferenças são relativas ao tamanho médio dos poros da membrana e, conseqüentemente à aplicação de diferentes parâmetros de operação, permitindo ou não a passagem de determinados componentes, conforme ilustrado na Figura 3.4. À medida que o tamanho médio de poro da membrana diminui, torna-se necessária a aplicação de maiores pressões, para permitir a passagem de solução através da membrana, embora não haja uma convenção de limites para distinguí-los.

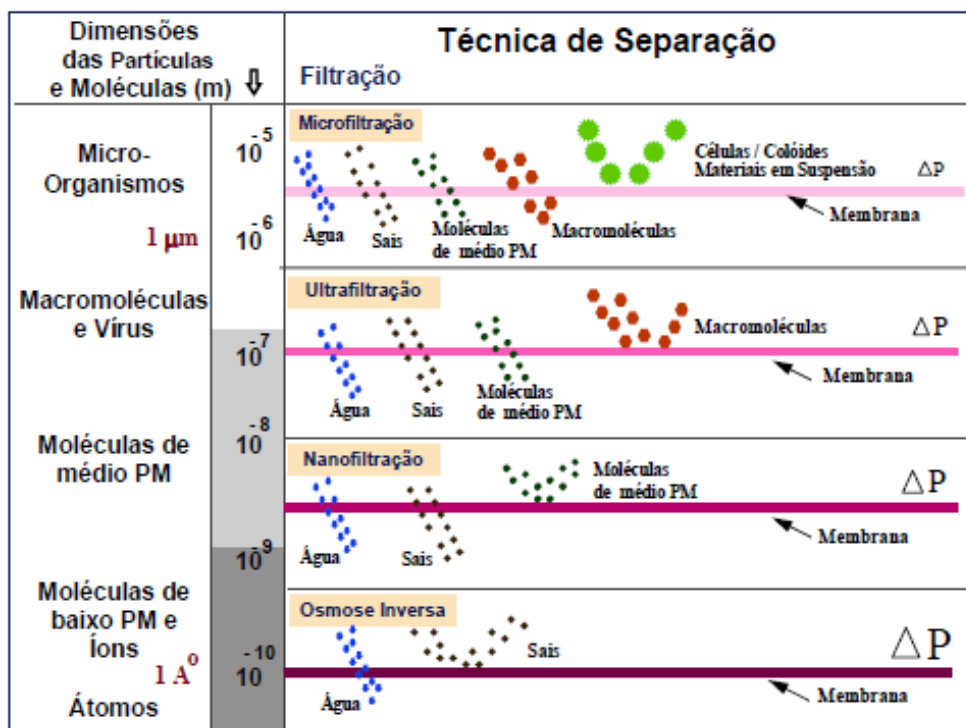


Figura 3.4- Principais Características dos Processos que Utilizam Diferença de Pressão como Força Motriz (HABERT *et al.*, 2006).

3.5.2.1 Microfiltração (MF) e Ultrafiltração (UF)

A microfiltração e a ultrafiltração envolvem a separação de um grande número de macromoléculas. O que diferencia esses dois processos é o tamanho do poro da membrana, e conseqüentemente a pressão de operação. A ultrafiltração exige maiores pressões para a separação, pois apresenta poros menores em relação aos da microfiltração.

A microfiltração é utilizada para separar partículas de tamanho entre 0,02 e 2,0 μm (PAULSON *et al.*, 1984), aplicando pressão à membrana entre cerca de 1 a 5 bar. Utilizada inicialmente na configuração de fluxo perpendicular à superfície da membrana, atualmente é comum o uso da microfiltração associada ao fluxo tangencial (DZIEZAK, 1990).

As aplicações de microfiltração são numerosas na área de alimentos, Rautenbach e Albrecht (1989) citam diversas aplicações da microfiltração, como a concentração ou separação de suspensões coloidais, separação de emulsões e como pré-tratamento da osmose inversa. De acordo com Porter (1990), a microfiltração permite excelente retenção

de microrganismos, sendo bastante utilizada em processos de esterilização. Além disso, Dziezak (1990) menciona a crescente aplicação da microfiltração na indústria de bebidas.

A ultrafiltração é também utilizada para separar compostos de alta massa molecular de compostos de baixa massa molecular. As membranas de UF apresentam diâmetro de poro de 0,001 a 0,1 μm (1 a 100 nm). O valor do diâmetro de poro na ultrafiltração é normalmente expresso em massa molecular de corte, definida como a massa molecular de proteínas globulares que são 90% retidas pela membrana (PORTER, 1990). O valor citado corresponderia aos valores de 500 a 300.000 daltons (DZIEZAK, 1990). As pressões utilizadas são da ordem de 1 a 15 bar. (MULDER, 1991).

Segundo Porter (1990), dentre as aplicações da ultrafiltração na área de alimentos estão a concentração do leite na fabricação de queijo e recuperação das proteínas do soro na indústria de laticínios; a concentração de gelatina, clara de ovo e a indústria de bebidas (sucos de fruta, vinho e cerveja).

3.5.2.2 Nanofiltração (NF)

A nanofiltração é um nome de utilização mais recente, e define um processo com membranas capaz de efetuar separações de moléculas de massa molar média situando-se entre o limite superior da ultrafiltração e o limite inferior da osmose inversa. Trata-se, portanto, de um processo que utiliza uma membrana “fechada” de ultrafiltração ou uma membrana “aberta” de osmose inversa. As membranas utilizadas em nanofiltração permitem a passagem de espécies iônicas e moléculas de baixa massa molar. O princípio básico é o mesmo dos demais processos com gradiente de pressão como força motriz, onde a solução a tratar circula sob pressão em contato com uma membrana microporosa. Sob o efeito da pressão o solvente, em geral água, atravessa a membrana e dá origem ao fluxo permeado, carregando sais e moléculas de baixa massa molar, enquanto as moléculas de maior massa molar não permeiam a membrana (HABERT *et al.*, 2006).

O processo de NF possui duas características importantes, que são a capacidade de fracionamento de ânions de baixa massa molar com tamanhos e valências diferentes através da exclusão iônica e o fracionamento de diferentes componentes orgânicos em solução aquosa, com peso molecular de corte (“*cut off*”) na faixa de 300 a 1000 g/mol. Os mais

importantes fatores que distinguem a nanofiltração dos demais processos de separação por membranas são (SCHÄFER *et al.*, 2006):

- A rejeição a íons negativos (ânions) multivalentes, como sulfatos (SO_4^{2-}) e fosfatos (PO_4^{3-});
- A rejeição de cloreto de sódio (NaCl) varia entre 0 a 70% em sistemas de misturas complexas;
- A rejeição a partículas sem cargas, materiais dissolvidos e íons de cargas positivas em solução está relacionada ao tamanho e formato da molécula em questão.

Portanto a eficiência de um processo de nanofiltração depende do tamanho das partículas presentes na solução e das cargas moleculares.

3.5.3 Fenômenos envolvidos no processo

O fluxo permeado representa uma variável crítica para qualquer processo com membranas. Busca-se a maximização da taxa de permeação e o ajuste das características de seletividade desejadas ao processo. Entretanto, alguns aspectos inerentes à operação com membranas conduzem a uma redução significativa da taxa de permeação, podendo ser associados às interações entre a solução e a membrana e suas características. Para que não haja uma diminuição da produtividade, é importante minimizar a ocorrência dos fenômenos que limitam o fluxo de permeado, os quais são: a polarização de concentração, formação de camada polarizada e *incrustação*. (CHERYAN, 1998).

A curva do fluxo de permeado pelo tempo pode ser descrita em três estágios, conforme ilustra a Figura 3.5. O primeiro é caracterizado por Marshall & Daufin (1995) por uma queda brusca do fluxo nos primeiros minutos, conseqüente da polarização dos solutos por concentração. Nesse estágio, a perda do fluxo é reversível.

No segundo estágio, a variação do fluxo é decrescente, variando com o diâmetro do poro da membrana (GIRARD & FUKUMOTO, 2000). Inicia-se a precipitação dos solutos acumulados na polarização que leva ao bloqueio dos poros e à adsorção dos componentes na membrana, ocasionando a formação da camada polarizada e da *incrustação*. A

diminuição do fluxo devido à incrustação é irreversível (MARSHALL & DAUFIN, 1995). O terceiro estágio é a consolidação da incrustação. O fluxo decresce contínua e lentamente.

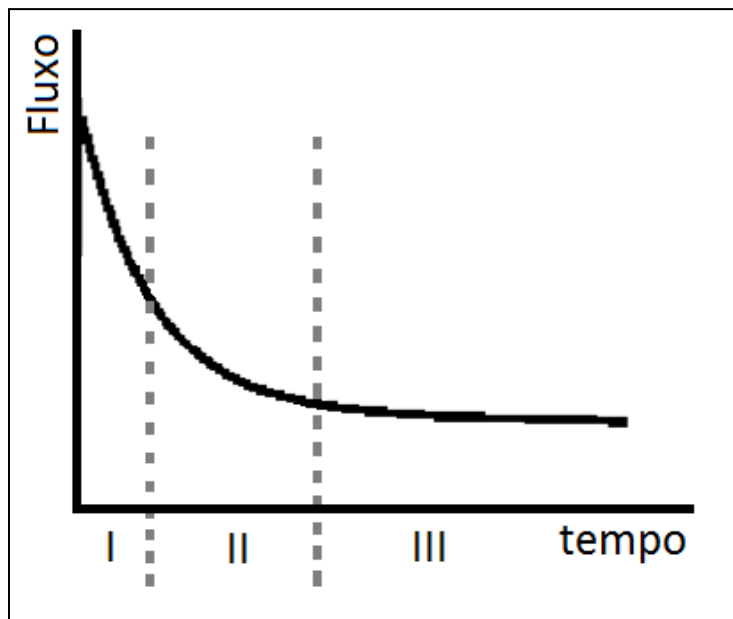


Figura 3.5- Curva típica de fluxo permeado

3.5.3.1 Polarização de concentração

Durante o processo com membranas, o soluto é conduzido à superfície da membrana por transporte convectivo, devido ao movimento exercido pela solução de alimentação. Este processo resulta em um aumento da concentração local do soluto na superfície da membrana quando comparada ao da solução da corrente de alimentação. Esta diferença gera um perfil de concentração, favorecendo a difusão do soluto da superfície da membrana à solução. Esta difusão do soluto promove um fluxo da superfície da membrana em direção ao seio da solução (BHATTACHARJEE & DATTA, 1996).

Análogo à camada limite de velocidade existe uma camada limite de concentração entre a região próxima à superfície da membrana, de alta concentração, e a de baixa concentração, igual à da corrente de alimentação. Esta camada limite tende a ser de espessura diferente da camada limite hidrodinâmica devido aos mecanismos de transporte envolvidos: a transferência de massa por difusão molecular, mecanismo associado à

camada de polarização, apresenta-se mais lenta que o transporte convectivo, associado à transferência de quantidade de movimento (BARROS, 2002).

A polarização de concentração é um fenômeno reversível resultado do acúmulo de partículas, macromoléculas e íons na superfície da membrana, aumentando sua concentração de acordo com o tempo de processo, conforme ilustra a Figura 3.6.

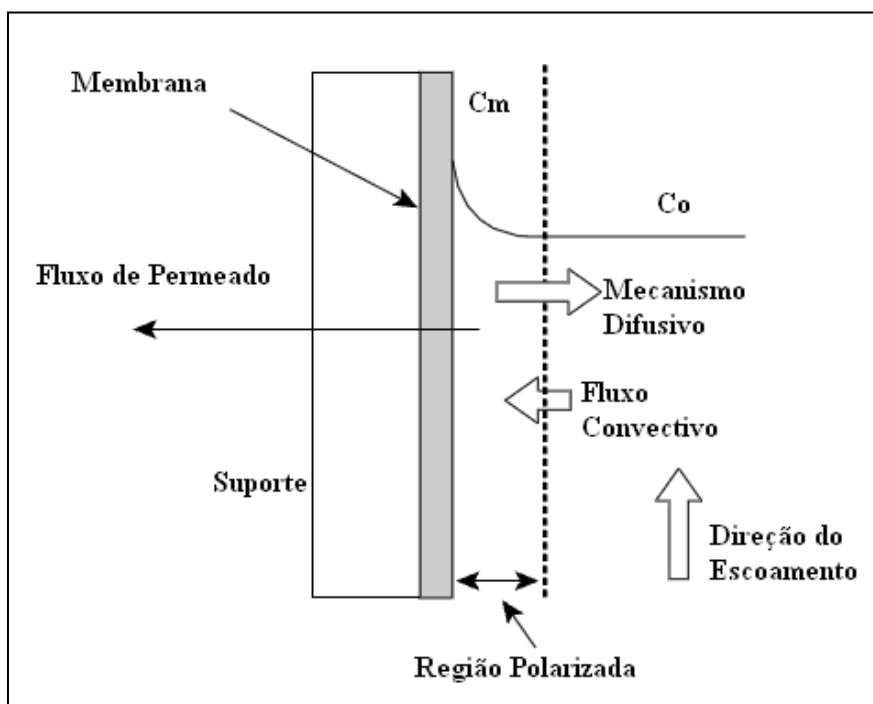


Figura 3.6- Polarização de concentração na superfície da membrana (MUTHUKUMARAPPAN & MARELLA, 2010).

A partir da formação da polarização de concentração, uma situação de equilíbrio ocorre quando a concentração do soluto próxima à superfície filtrante excede seu limite de solubilidade, ocorrendo então a formação da camada polarizada, devido à precipitação por saturação especialmente de macromoléculas. Segundo Song (1998), a camada polarizada formada ou “membrana dinâmica secundária”, cria uma resistência adicional ao fluxo permeado perturbando o funcionamento hidrodinâmico do sistema. A resistência ao fluxo permeado aumenta à medida que aumenta a espessura da camada polarizada.

O incremento da pressão deve ocasionar aumento de fluxo de permeado, para condições de baixa pressão. A partir de determinado valor de pressão, qualquer aumento adicional corresponde a um aumento equivalente na resistência ao transporte através da

membrana, ou seja, maior espessura da camada polarizada. Nessas condições, o fluxo de permeado permanece inalterado com o aumento da pressão. Do ponto de vista prático, um sistema de membrana deve ser operado em pressões inferiores à menor pressão que leve o fluxo de permeado ao seu valor limite (HABERT *et al.*, 2006).

3.5.3.2 Incrustação

Além dos fenômenos ocasionados pela hidrodinâmica do sistema, têm-se fatores relacionados à própria natureza da membrana e às interações entre ela e o soluto. Ao conjunto de efeitos mecânicos que ocorrem nos PSM's, denomina-se incrustação. Dentre estes fatores, destacam-se (MERIN & DAUFIN, 1990):

- Adsorção do soluto na membrana: processo ocasionado pelas interações físico-químicas existentes entre o material da membrana e os componentes presentes na solução a ser tratada. O fenômeno de adsorção pode ocorrer tanto na superfície da membrana quanto na superfície interna dos poros.
- Entupimento dos poros: consiste da ação mecânica de obstrução das partículas ou moléculas envolvidas, sobre os poros da membrana. A extensão deste fenômeno depende também da morfologia da membrana. Para membranas assimétricas, este efeito ocorre predominantemente na superfície, pois é nesta região que se apresentam as menores dimensões de poros.
- Depósito superficial das espécies presentes na solução: representa a formação de um filme na superfície da membrana, que com um elevado grau de compactação, reduz o fluxo de permeado. Quando a solução consiste de partículas suspensas, a formação do filme processa-se por depósito, gerando a torta filtrante similar à filtração clássica; e se a solução consiste de macromoléculas, pode ocorrer a precipitação em forma de gel devido à elevação da concentração das espécies na superfície da membrana.

A incrustação é um fenômeno indesejável, relacionado às características da membrana e interações soluto-soluto e soluto-membrana, que provoca um declínio irreversível no fluxo

de permeado, e só é recuperado com a limpeza química da membrana. Muitos fatores interferem na extensão da incrustação, dentre os quais (HABERT *et al.*, 2006):

- Propriedades físico-químicas e morfologia da membrana, tais como a natureza da membrana, a distribuição e o tamanho de poros;
- Propriedades físico-químicas da solução a ser filtrada, como o pH, a estrutura química e a concentração das espécies presentes;
- Parâmetros de operação, como a pressão aplicada à membrana, temperatura e velocidade tangencial superficial.

A seleção das condições de operação é de fundamental importância para a minimização da incrustação e consequente melhoria da operação, com a maximização do fluxo de permeado e de seletividade do processo.

3.5.4 Parâmetros do processo

3.5.4.1 Fluxo de permeado (J)

Definido como a quantidade de permeado obtida, expressa em massa ou volume, por área de permeação da membrana por tempo. O fluxo de permeado está expresso na Equação 3.1 (CHERYAN, 1998).

$$J = \frac{V_p}{A_p t} \quad 3.1$$

Onde: V_p é o volume de permeado no tempo t e A_p é a área de permeação.

3.5.4.2 Fator de Concentração Volumétrico (FCV)

É determinado pela razão entre a massa inicial na alimentação e a massa final de retido (Equação 3.2). O fator de concentração volumétrico também pode ser calculado através da razão entre o volume inicial da alimentação e o volume de retido, este obtido a partir da diferença entre alimentação e permeado (GIRARD & FUKUMOTO, 2000).

$$\mathbf{FCV} = \frac{V_A}{V_A - V_P} \quad 3.2$$

Onde: V_A é o volume inicial na alimentação, e V_P é o volume de permeado.

3.5.4.3 Índice de Retenção (IR)

Para avaliar o grau de retenção de um componente pela membrana utiliza-se o índice de retenção (ou rejeição), calculado conforme Equação 3.3 (GIRARD & FUKUMOTO, 2000). Ele fornece uma medida quantitativa da capacidade da membrana em reter moléculas ou componentes específicos, sob determinadas condições de operação.

$$\mathbf{R} = \left(1 - \frac{C_P}{C_R}\right) \cdot 100 \quad 3.3$$

Onde: C_P e C_R são respectivamente, as concentrações no permeado e no retido.

Este parâmetro é afetado por fatores como: tamanho e formato das partículas presentes, concentração dos compostos rejeitados, pH e força iônica da solução, tipo de material que constitui a membrana e configuração.

3.5.4.4 Pressão aplicada à membrana (P_M)

É definida como o gradiente de pressão entre os lados do retido e do permeado (Equação 3.4).

$$\mathbf{P_M} = P_R - P_P \quad 3.4$$

Onde P_R e P_P são, respectivamente, as pressões nas correntes do retido e do permeado.

Geralmente, o gradiente de pressão entre a corrente de retido e o permeado varia ao longo do comprimento da membrana. Assim, o valor da pressão aplicada à membrana é calculado pela média aritmética dos gradientes de pressão na entrada e na saída da membrana. Quando a saída do permeado for aberta para o ambiente, a pressão P_P é nula, e a pressão aplicada à membrana é determinada conforme expresso na Equação 3.5

(CHERYAN, 1998).

$$P_M = \frac{P_e + P_s}{2} \quad 3.5$$

Onde P_e e P_s são, respectivamente, as pressões de entrada e de saída da membrana no lado do retido.

3.5.5 Tecnologia de Membranas no Processamento de Sucos de Fruta

A maior aplicação da tecnologia de membranas em sucos de fruta é na clarificação do suco de maçã, utilizando a microfiltração ou a ultrafiltração. Além da clarificação, as membranas podem ser utilizadas no processamento de sucos de frutas para a concentração, empregando a osmose inversa; e para a desacidificação e descoloração, pela nanofiltração (CHERYAN, 1998; GIRARD & FUKUMOTO, 2000). Adicionalmente, são utilizadas também para esterilização a frio para envase asséptico.

Alguns trabalhos reportam a formulação de produtos a partir de sucos clarificados obtidos na micro ou ultrafiltração. Carvalho *et al.* (1998) realizaram a formulação de bebida carbonatada de abacaxi com o permeado obtido da ultrafiltração e microfiltração. Os autores utilizaram duas membranas de poro 50 kDa, com materiais e configurações diferentes, e uma de poro 0,22 μm , de α -alumina e tubular. Obtiveram maior fluxo (52 L/hm²) e permeação de componentes no suco clarificado utilizando a membrana de poro 0,22 μm . Quanto às bebidas formuladas, a análise sensorial indicou que os provadores não conseguiram detectar diferença entre as formulações que utilizaram permeados obtidos das diferentes membranas.

Wolkoff (2004) desenvolveu um repositório hidroeletrólítico formulado à base de sucos clarificados de acerola e caju. Os sucos foram obtidos por microfiltração, utilizando uma membrana tubular de polietersulfona de poro médio 0,3 μm . Houve pequena perda de ácido ascórbico (de 0 a 13%, de acordo com as variáveis do processo), os produtos se mostraram dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira e houve boa aceitabilidade dos produtos (de 82 a 91%).

A microfiltração de suco de caju foi avaliada por Campos *et al.* (2002), precedida de um pré-tratamento enzimático. A clarificação foi conduzida em módulo tubular polimérico, com tamanho de poro de 0,3 μm e área de 0,05 m^2 , a uma pressão de 2 bar e temperatura de 30 °C. O clarificado armazenado a 4 °C, após um período de dois meses, não apresentou alteração de cor e luminosidade, e permaneceu sendo uma boa fonte de vitamina C, apesar da redução de 46% em seu valor inicial.

Fontes & Caminoto (2007) avaliaram a microfiltração de suco de açaí diluído e refinado, com o objetivo de reter fibras e posteriormente caracterizar as antocianinas das frações do permeado e retido do processo. Os autores atribuíram a baixa produtividade, em termos de fluxo permeado, ao tamanho de poro utilizado (0,2 e 0,6 μm) e sugeriram novos experimentos com poros maiores, na faixa de 1 a 2 μm .

Dentre outras aplicações da tecnologia de membranas no processamento de sucos de fruta, além da clarificação, estão a utilização da osmose inversa para concentração de compostos de sabor ou em conjunto com a microfiltração para concentração do suco, e a concentração de pigmentos por ultrafiltração, como nos trabalhos descritos a seguir.

Ollé *et al.* (1997) concentraram purê de manga tratado enzimaticamente utilizando uma membrana cerâmica de microfiltração de poro 0,2 μm e outra de osmose inversa, para concentrar compostos que permearam na microfiltração. O suco, com concentração de sólidos solúveis inicial de 18 °Brix concentrou-se a 33 °Brix no final da osmose inversa. Os autores, porém, chegaram à conclusão de que somente a etapa da microfiltração já é capaz de reter quase completamente os principais componentes voláteis associados ao sabor.

A concentração de suco de tomate por microfiltração e osmose inversa foi estudada por Bottino *et al.* (2002). Na microfiltração, chegaram a um FCV de 2,5. Já na osmose inversa, chegaram a um FCV de 4,7 e concentração de 23,7 °Brix. Os autores obtiveram um produto com consistência similar à do suco original, um aumento no teor de açúcares e pequena perda de cor.

No estudo realizado por Cassano *et al.* (2003), sucos de cenoura, laranja e limão foram submetidos a um processo integrado de membranas que utilizou ultrafiltração, osmose inversa e destilação osmótica para concentração. A ultrafiltração em membrana de 15 kDa foi utilizada para clarificação dos sucos. O permeado foi pré-concentrado por osmose inversa em membrana de rejeição de sal mínima de 99,0%. A destilação osmótica,

por fim, concentrou o retido obtido na osmose inversa. Os produtos obtidos apresentaram boa qualidade com relação a cor e aroma, que são prejudicados na concentração tradicional.

Membranas de nanofiltração e osmose inversa foram comparadas por Ferrarini *et al.* (2001) no processo de concentração de suco de uva branca. Os autores obtiveram maiores fluxos na nanofiltração com pressão relativamente baixa, que implica em redução de gastos energéticos, indicando-a como processo mais econômico.

A retenção de compostos aromáticos durante a concentração de suco de maçã por osmose inversa foi estudada por Álvarez *et al.* (2002). Variando condições de pressão, vazão, temperatura e concentração inicial, os autores obtiveram um modelo para predição da rejeição dos compostos. Dependendo da condição, conseguiram altos valores de fluxo para osmose inversa e retenção de compostos aromáticos maior que 80%.

Santana (2009) concentrou suco de uva tinto por osmose inversa a 50, 30 e 20 °C com pressão aplicada à membrana de 60 bar e o Fator de Concentração Volumétrico (FCV) foi ajustado para 2. Os fluxos permeados iniciais foram 27,9 (50 °C), 20,4 (30 °C) e 16,3 Lh/m² (20 °C). O teor de sólidos solúveis, compostos fenólicos, antocianinas totais e monoméricas e a atividade antioxidante aumentaram proporcionalmente ao FCV nos sucos concentrados. O processo a 30 °C reuniu as melhores condições para a obtenção de um suco de uva concentrado com qualidade sensorial adequada e manutenção da vida útil das membranas.

A concentração de licopeno de suco de melancia utilizando microfiltração (MF) combinada com osmose inversa (OI) foi avaliada por Gomes (2009). A MF foi realizada com membranas cerâmicas de tamanho médio de poros de 0,1mm e área de permeação de 0,22 m². Avaliou-se a influência da temperatura e velocidade tangencial do suco de melancia sobre o fluxo permeado médio, o teor de licopeno e a capacidade antioxidante do suco concentrado e observou-se que o aumento da velocidade tangencial e da temperatura exerceu um efeito positivo no fluxo permeado e para o aumento no teor de licopeno e na capacidade antioxidante, apenas a velocidade tangencial foi significativa. A OI foi realizada a 30 °C e 60 bar, com FCV de 3,6 e apresentou fluxo permeado inicial de 44,3 e fluxo médio de 18,6 L/h.m². O teor de licopeno e a capacidade antioxidante do suco retido aumentaram, respectivamente, 3,2 e 2,4 vezes em relação ao suco original. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que os processos de MF e OI foram eficazes na

concentração do suco de melancia, aumentando a concentração de licopeno, preservando sua qualidade físico-química e aumentando sua capacidade antioxidante sem prejuízo dos atributos sensoriais.

O número de trabalhos realizados utilizando a tecnologia de membranas aplicada a sucos de frutas ainda é reduzido, comparado à sua imensa variedade. Muitas frutas brasileiras têm grande potencial de mercado, tornando-se interessante o estudo de processos que lhes agreguem valor e/ou que permitam sua aplicação em novos produtos.

3.6 Modelagem Matemática

Os projetos e aplicações de processos de separação com membranas dependem do desenvolvimento de modelos preditivos, que relacionam as variáveis de processo com os parâmetros do sistema. Como variável crítica do processo, o fluxo de permeado (J) representa o parâmetro mais interessante para avaliar o desempenho do sistema (KOLTUNIEWICZ & NOWORYTA, 1995).

A maioria dos modelos relaciona o fluxo com o tempo ou volume de permeado e tomam geralmente uma forma exponencial, considerando a forma das curvas de fluxo devido à incrustação.

Constenla & Lozano (1997) desenvolveram um modelo exponencial semi-empírico, utilizado para descrever o comportamento do fluxo de permeado de experimentos de micro e ultrafiltração de suco de maçã. Este modelo é descrito na equação 3.6. O parâmetro ajustável deste modelo é o λ (taxa de declínio de fluxo) que está relacionado à acentuação da queda do fluxo em função do tempo de filtração.

$$J = J_f + (J_i - J_f)e^{(-\lambda.t)} \quad 3.6$$

Onde: J_i e J_f são os fluxos iniciais e finais, respectivamente, λ é uma constante associada ao declínio de fluxo e t é o tempo. É importante citar que no trabalho de Constnla & Lozano (1997), o suco de maçã foi submetido a um pré-tratamento enzimático com enzimas pectinolíticas e os experimentos foram realizados com recirculação do permeado e retentado ao tanque de alimentação. Esse modelo obteve bons ajustes aos dados

experimentais de fluxo segundo trabalhos realizados com sucos de abacaxi (BARROS *et al.*, 2003) e tamarindo (WATANABE *et al.*, 2006).

Cheryan (1998) desenvolveu modelos semi-empíricos (Equações 3.7- 3.10), que em geral, se ajustam adequadamente aos dados experimentais dos PSM.

$$J_t = J_0 t^{-b} \quad 3.7$$

$$J_t = J_0 e^{-bt} \quad 3.8$$

$$J_t = J_0 V^{-b} \quad 3.9$$

$$J_t = J_{SS} + K e^{-bt} \quad 3.10$$

Onde J_0 é o fluxo inicial, J_t , é o fluxo em qualquer tempo t , J_{SS} é fluxo limite ou fluxo em estado estacionário, V é o volume de permeado e as constantes K e b caracterizam a incrustação.

Embora estes modelos predigam que o fluxo permeado será zero no tempo infinito, o que na prática não deve ocorrer, eles são extremamente úteis, pela sua simplicidade, para prever o fluxo de permeado, avaliar a incrustação e correlacionar o mesmo com os parâmetros operacionais (CHERYAN, 1998).

Wu *et al.*, (1991) utilizaram soluções modelo de proteína para testar a validade das diversas considerações feitas na elaboração do modelo que descreve o declínio do fluxo de permeado. Os autores consideraram que o declínio de fluxo seria proporcional ao fluxo para baixos valores de tempo (t), porém modificaram a equação empírica para obrigar o fluxo (J) a aproximar-se ao estado de equilíbrio para valores de t mais elevados. A descrição deste modelo está expressa na equação 3.11 e a forma desenvolvida na equação 3.12.

$$\frac{dJ}{dt} = -k_p e^{(-k_f t)} J \quad 3.11$$

$$J = J_0 - \frac{K_p}{K_f} \cdot \exp(e^{(-K_f \cdot t)} - 1) \quad 3.12$$

Onde k_p e k_f são constantes, relacionadas à taxa de declínio de fluxo inicial, isto é, devido à camada polarizada (k_p) e à incrustação (k_f).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Matéria-prima

Para realização dos experimentos utilizou-se amora-preta (*Rubus spp.*), variedade Tupy. Os frutos foram adquiridos congelados, em embalagens de 1 kg, da empresa De Marchi (Rio de Janeiro, RJ).

4.1.2 Membranas

- Membrana plana de polímero fluorado FSM 0.15PP (Alfa Laval - Dinamarca) com diâmetro médio de poro igual a 0,15 μm (microfiltração);
- Membrana plana de polissulfona GR61PP (Alfa Laval – Dinamarca) com *cut off* de 20 KDa (ultrafiltração);
- Membrana plana composta de película magnética NF99 (Alfa Laval – Dinamarca) com rejeição maior que 98 % ao Mg SO_4 (nanofiltração).

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do suco de amora-preta

Para obtenção do suco de amora-preta, os frutos foram previamente descongelados, higienizados com água corrente para remoção de sujidades. Em seguida, os frutos foram submetidos ao despulpamento em despulpadeira horizontal da marca Itametal (Itabuna, Brasil), modelo Bonina 0,25 df, previamente sanificada com solução de hipoclorito de sódio a 0,01% e equipada com peneira de 0,8 mm. O suco integral obtido foi centrifugado, com o objetivo de separar pelo menos parte das fibras insolúveis, em centrífuga de cesto da marca Internacional Equipment Company (Needham, USA), modelo SIZE 2, com velocidade de 4.000 rpm (479,2 G), tendo como meio filtrante uma tela de nylon de 150 μm . O suco foi acondicionado em embalagens de polietileno (± 4 L) e armazenado em câmara

de congelamento a -17°C . Para realização dos processos de separação por membranas, o suco foi retirado da câmara de congelamento no dia anterior ao processamento e armazenado na câmara de refrigeração (4°C). Antes de iniciar os processos, o suco foi aquecido em banho termostático (modelo Rheotherm 115 da Contraves® - Malaca, Malásia) até atingir a temperatura do processo (35°C).

4.2.2 Pré-Tratamento Enzimático

Com o objetivo de reduzir a viscosidade do suco de amora-preta e conseqüentemente aumentar o fluxo permeado, como observado em testes preliminares, realizou-se a hidrólise enzimática, adicionando-se a enzima Rapidase® TF da DSM Food Specialities (Delft, Holanda) na concentração de $0,4\text{g/Kg}$ de suco com atividade enzimática na concentração de $950,53\text{ UI/mL}$, a 35°C por 30 minutos, melhor condição obtida por Santiago (2010). A Rapidase® TF é uma preparação enzimática líquida oriunda de *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*, apresentando atividade de pectinase e hemicelulase, com temperatura ótima na faixa de 10 a 50°C e pH entre $3,0$ e $5,5$.

4.2.3 Processos de Separação por Membranas

Os processos de micro, ultra e nanofiltração foram realizados em um sistema piloto Modelo L da Gea Filtration (Hudson, EUA) que utiliza o M20 Lab Module™. É um sistema de configuração plana do tipo quadro placas, cujo módulo é constituído por 10 membranas planas com área total de permeação igual a $0,36\text{ m}^2$, sendo que esse valor foi alterado em alguns processos de acordo com o número de membranas disponíveis para o uso. Todos os processos foram realizados à 35°C , em batelada com recirculação da corrente de retido e recolhimento contínuo do permeado e a vazão de recirculação foi fixada em 500 L/h (na frequência correspondente a 20 Hz).

O sistema é composto por: um tanque de alimentação em aço inox, com capacidade máxima de 15 L , acoplado à uma unidade de refrigeração para o controle da temperatura do processo; uma bomba de alimentação (diafragma) de $7,5\text{ HP}$; válvula para ajuste da pressão e manômetros para leitura das pressões de entrada e saída da membrana; termômetro acoplado ao sistema, para verificação da temperatura do produto; bomba

hidráulica para pressurizar (4 bar) o conjunto de suportes e membranas, módulo quadro e placas. O diagrama representativo do sistema está apresentado na Figura 4.1. Antes de iniciar cada processo, monta-se o módulo com as membranas que serão utilizadas nos seus respectivos suportes, pressuriza-se o conjunto de suportes com membranas e espaçadores por meio da bomba hidráulica até 4 bar. Liga-se o sistema, previamente plugado na tomada, através do painel de controle, ajustando-o para operação manual. Verificam-se as válvulas de controle de pressão, deixando-as totalmente abertas. Determina-se a permeabilidade hidráulica da membrana, com água destilada, variando pressão e temperatura (no mínimo três valores diferentes), esta etapa é necessária para avaliar a limpeza da membrana. Posteriormente drena-se a água contida no sistema, para dar início ao processo com o produto, colocando-o no tanque de alimentação. Inicia-se a partida, acionando o botão no painel; ajusta-se a pressão, com auxílio da válvula de controle, que é lida nos manômetros de entrada e saída e verifica-se a temperatura. O permeado passa por pequenas mangueiras que saem de cada conjunto de membranas e é recolhido em proveta. Quando cai a primeira gota na proveta, aciona-se o cronômetro; o permeado acumulado é armazenado em embalagens de polietileno, enquanto o retido retorna ao tanque de alimentação. Ao final do processo, drena-se o retido, que é colocado em embalagens e inicia-se a limpeza do sistema.

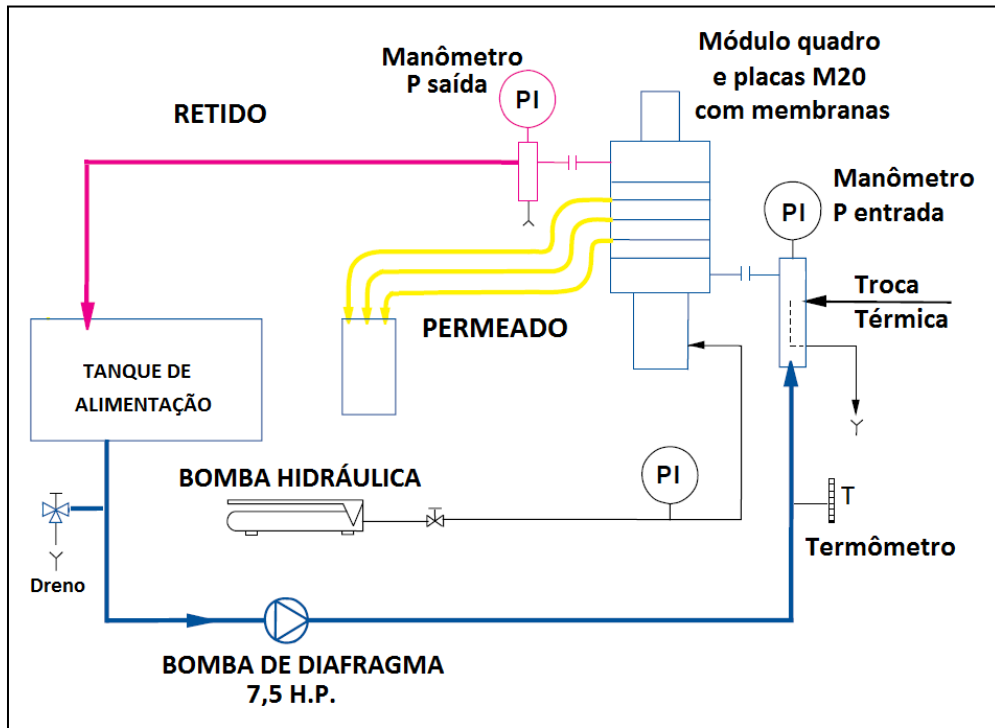


Figura 4.1- Representação esquemática do sistema de membranas



Figura 4.2- Foto do Sistema de membranas (GEA FILTRATION, 2010).

4.2.3.1 Limpeza do Sistema de Membranas

A limpeza CIP do módulo, logo após o processo, consistia em colocar água filtrada em abundância no tanque de alimentação e deixá-la recircular no sistema, com o objetivo de retirar os resíduos da superfície da membrana. Na etapa seguinte, recirculava-se durante 40 minutos, uma solução de hidróxido de sódio, com concentrações diferentes para cada tipo de membrana, segundo recomendações do fabricante, sendo 0,1% para as membranas de MF e NF e 1% para as de UF. Após esse procedimento, novamente circulava-se água em abundância até que a solução de hidróxido de sódio fosse removida. Desmontava-se o conjunto de suportes e membranas e acondicionavam-se as membranas em solução com hidróxido de sódio, de acordo com a respectiva concentração sugerida, até o dia seguinte quando seria utilizada novamente. Ao concluir todas as etapas do CIP, as membranas eram acondicionadas em recipientes contendo solução de ácido propiônico 1%.

Antes de cada processamento foi feito enxágue para em seguida serem realizados os testes de permeabilidade à água destilada, em diferentes condições de temperatura e pressão a fim de assegurar a limpeza e integridade das membranas. A permeabilidade hidráulica era determinada pelo coeficiente angular da reta representativa da relação entre o fluxo permeado e a pressão aplicada à membrana utilizando água como alimentação (Figura 4.3).

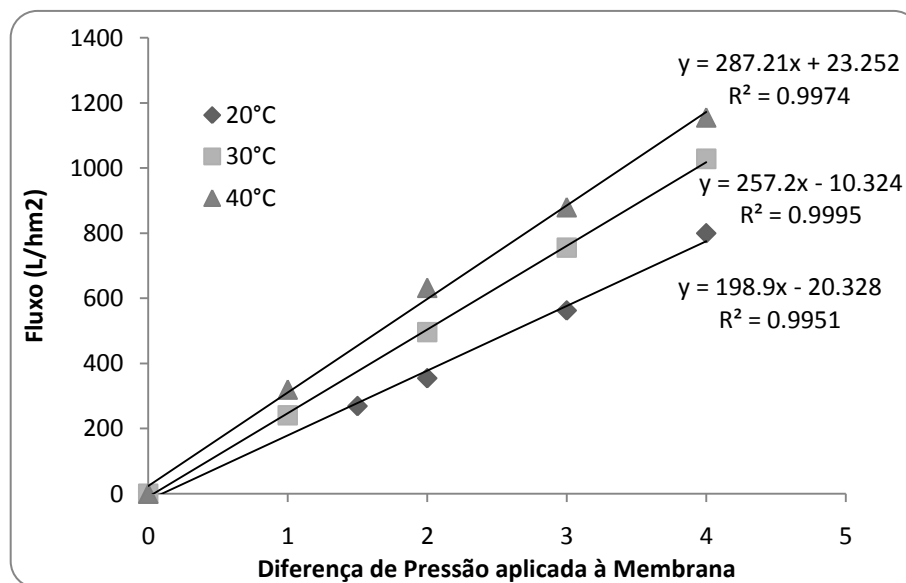


Figura 4.3- Permeabilidade hidráulica em diferentes condições de temperatura

4.2.3.1 Fluxograma de Processo - 1

Com o objetivo de se verificar o efeito do tratamento enzimático e o fracionamento em cascata foram realizados os procedimentos conforme fluxograma abaixo.

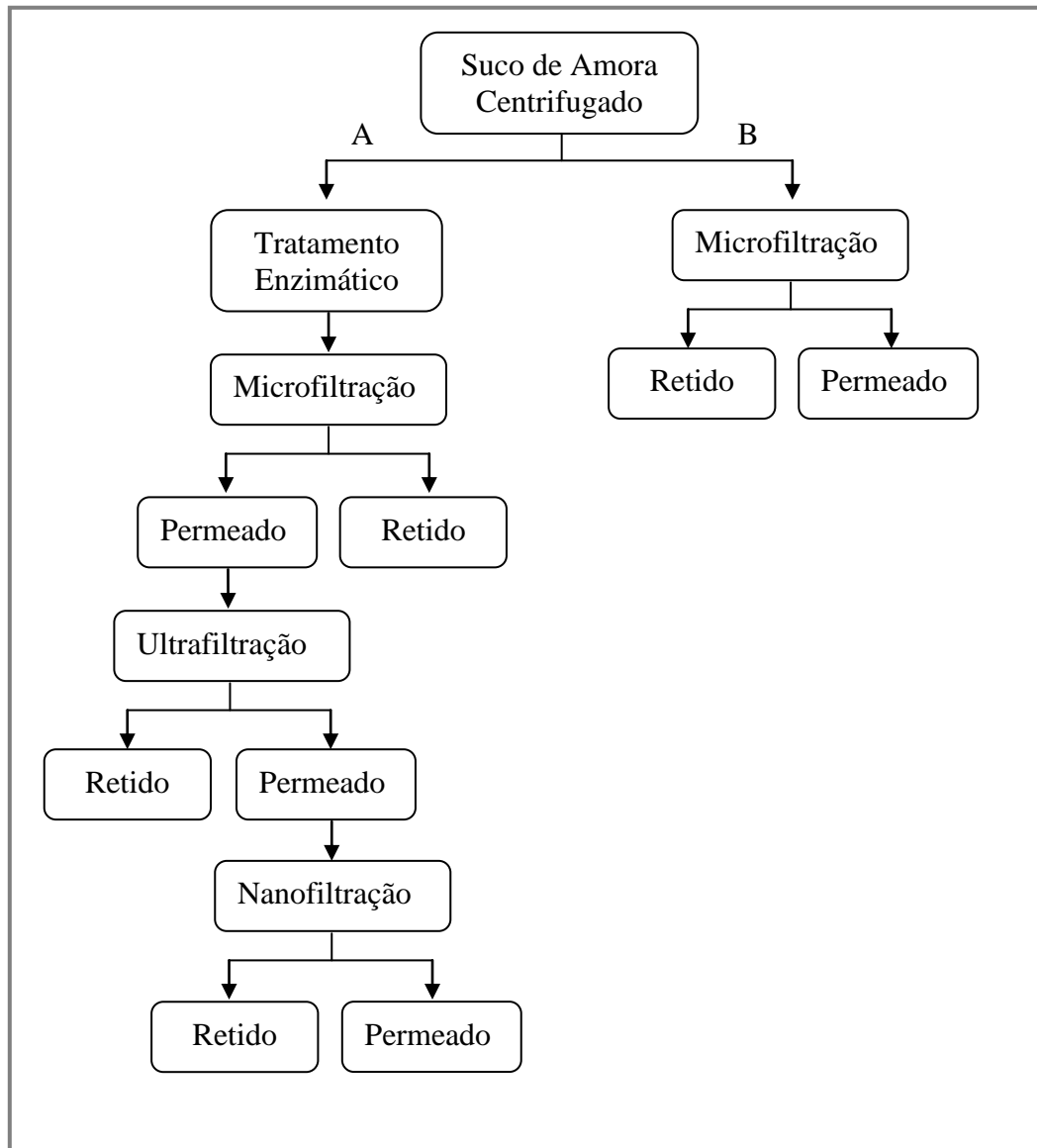


Figura 4.4- Fluxograma de Processo 1

4.2.3.1.1 Microfiltração (MF)

Os processos de microfiltração foram realizados com membranas de polímero fluorado, com tamanho de poro de 0,15 μm , área de permeação de 0,36 m^2 e a pressão de

trabalho de 5 bar (máxima sugerida pelo fabricante) e vazão de recirculação de 500 L/h. Inicialmente realizou-se um processo de MF a fim de clarificar o suco de amora-preta e obteve-se o fator de concentração volumétrico (FCV) igual a 7,0, valor máximo obtido para este sistema e com este produto, sendo então padronizado para os demais processos, que foram conduzidos com o objetivo de acumular permeado para realização dos processos seguintes, conforme ilustrado na sequência A do Fluxograma de Processo 1. Antes de cada processo de MF, o suco centrifugado foi tratado enzimaticamente conforme item 4.2.2.

A MF da sequência B do fluxograma 1 foi realizada, para efeitos comparativos do fluxo permeado, sem a utilização do tratamento enzimático, nas mesmas condições dos demais processos.

4.2.3.1.2 Ultrafiltração (UF)

Os processos de UF foram realizados com membranas planas de polisulfona e *cut off* de 20 kDa, 0,36 m² de área, 10 bar, 500 L/h de vazão de recirculação e FCV de 5,7, utilizando o permeado obtido na MF (este procedimento foi padronizado para os demais). O permeado obtido da UF foi acumulado para alimentar o processo de nanofiltração (NF).

4.2.3.1.3 Nanofiltração (NF)

Os processos de NF foram realizados com membranas cuja rejeição ao MgSO₄ era maior que 98%, a área de permeação foi de 0,216m², a pressão de trabalho 20 bar, 500 L/h de vazão de recirculação e o FCV de 2,4.

4.2.3.2 Fluxograma de Processo – 2

Os processos do fluxograma 2, foram realizados nas mesmas condições operacionais do fluxograma 1, sendo que agora conduzidos por três diferentes sequências denominadas A, B e C, realizando-se um único teste para cada sequência, a fim de verificar o caminho mais eficaz no sentido da obtenção de um produto com alta concentração de antocianinas, que foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e também pelo método do pH diferencial.

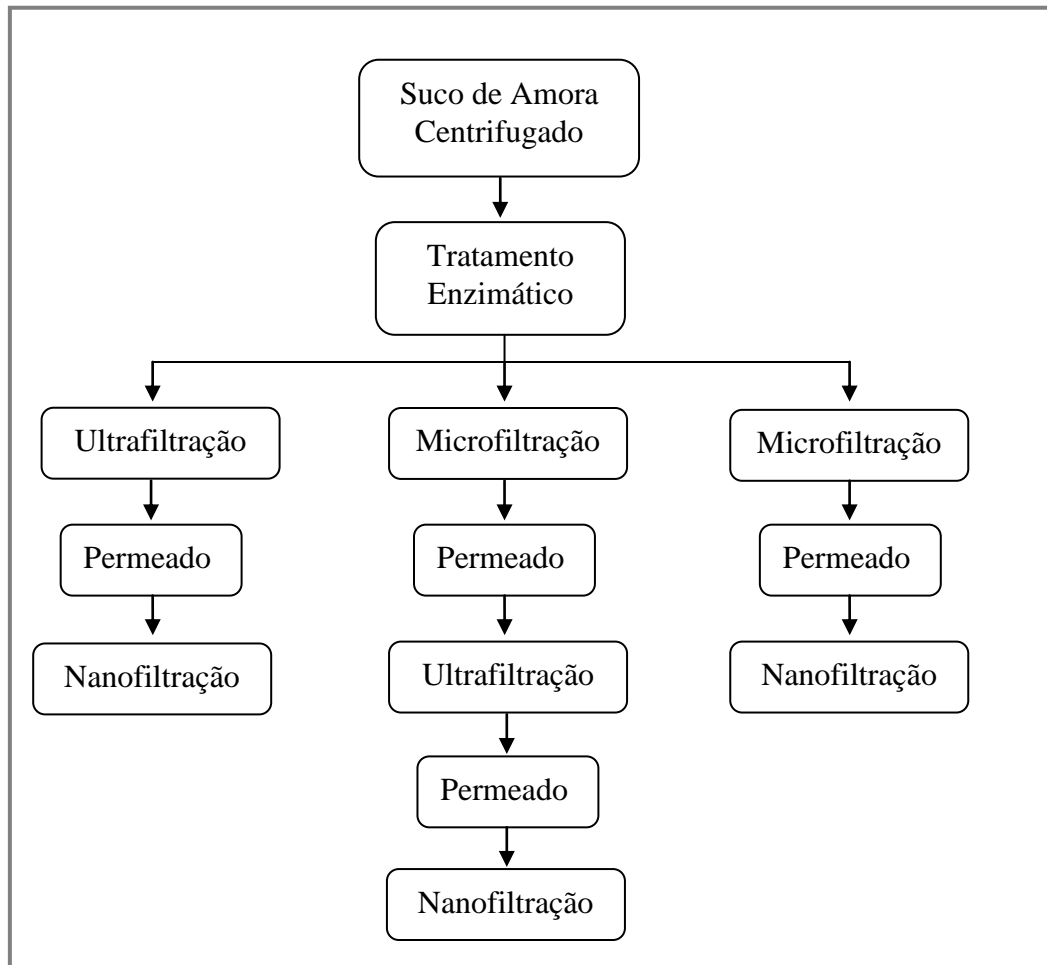


Figura 4.5- Fluxograma de Processo 2

4.2.4 Determinações Analíticas

Em cada processo foram recolhidas amostras do suco integral no início do processo (alimentação) da fração retida pela membrana (suco retido) e do permeado (recolhido no final do processo) para as determinações analíticas. Os resultados das determinações analíticas foram avaliados pela análise de variância (ANOVA), teste de *Tukey* com significância de 0,05, através do *software XLSTAT®*, versão 7.5.

4.2.4.1 pH

As determinações de pH foram realizadas em titulador automático Metrohm®,

modelo 785 DMP – Titrino, após calibração do aparelho com tampões de pH 4,00 e 7,00 , com leitura direta a 25°C, segundo método 973.41, A.O.A.C (2000).

4.2.4.2 Acidez total titulável

A determinação da acidez titulável foi realizada pelo método potenciométrico em titulador automático Metrohm modelo 785 DMP Titrino, utilizando solução de NaOH 0,1M segundo o método 942.15 da A.O.A.C (2000). Os valores foram expressos em g.100g⁻¹ de amostra. O teor de ácido cítrico foi estimado em g.100g⁻¹ de amostra.

4.2.4.3 Teor Sólidos solúveis em °Brix

O teor de sólidos solúveis foi determinado pela leitura direta em refratômetro do tipo Abbé, modelo Bellingham + Stanley Limited, com escala em graus Brix, segundo método 932.14 da A.O.A.C. (2000).

4.2.4.4 Teor de sólidos totais e umidade

O teor de sólidos totais e a umidade foram avaliados por gravimetria, pela determinação do peso seco em estufa à vácuo, mantida à 60°C, até peso constante, segundo AOAC (2000).

4.2.4.5 Capacidade Antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico usando uma adaptação do método de descoloração do radical livre ABTS (2,2, azino-bis (3 etilbenzotiazolina-ácido 6 sulfônico)) de acordo com RE *et al.* (1999). A leitura de absorvância foi realizada a 734 nm e os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) em µmol/g de amostra, de acordo com a curva padrão.

A extração foi realizada em duas etapas, nas quais a amostra foi submetida a soluções com diferentes polaridades. Primeiro, a amostra foi exposta a uma solução de

metanol 50% por um período de uma hora e depois a uma solução de acetona 70% por mais uma hora. Para o permeado, a etapa de extração foi suprimida, sendo necessária apenas a diluição, em metanol e acetona nas mesmas proporções utilizadas para as outras frações do processo, no momento da reação.

4.2.4.6 Teor de Antocianinas

4.2.4.6.1 Quantificação de Antocianinas pelo método do pH diferencial

A quantificação de antocianinas do suco de amora-preta (*Rubus* spp.), foi realizada pelo método do pH diferencial (WROLSTAD & GIUSTI, 2001). Alíquotas foram pesadas e transferidas para balões volumétricos e avolumadas com dois sistemas tampão: cloreto de potássio/ ácido clorídrico para o pH 1,0 (0,025M) e cloreto de potássio/acetato de sódio para o pH4,5 (0,4M). Após 30 minutos em repouso ao abrigo da luz, foram filtradas em papel de filtro (faixa preta) e logo em seguida foram efetivadas as medidas em máximos de absorção na região visível a 510 nm e a 700 nm utilizando o espectrofotômetro. A absorbância foi calculada a partir da equação 3.13.

$$A = (A_{\lambda \max} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda \max} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad 3.13$$

A concentração dos pigmentos antociânicos monoméricos foi calculada e representada em cianidina-3-glicosídeo através da utilização da equação 3.14.

$$AM = \frac{A \times MM \times FD}{\epsilon \times b} \quad 3.14$$

Onde:

AM = concentração de antocianinas monoméricas em g/L

A = absorbância calculada pela equação 3.13

MM = massa molar da cianidina-3-glicosídeo (449,2 g.mol⁻¹)

ε = coeficiente de absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo (26.900 L.cm⁻¹.mg⁻¹)

FD = fator de diluição

b = caminho óptico da cubeta usada no espectrofotômetro (cm)

A cianidina-3-glicosídeo é largamente usada como padrão de antocianinas em diversos procedimentos (experimentais) devido à abundância desta antocianina em frutas vermelhas (TERCI, 2004).

Segundo Lee *et al.* (2008) o método do pH diferencial para quantificação das antocianinas totais, o qual contempla o uso da espectroscopia de absorção UV-Visível, é validado e consiste em uma metodologia simples, rápida e confiável. Esta metodologia tem sido muito utilizada pelas comunidades científica e industrial para a quantificação das antocianinas. Este método torna-se uma opção vantajosa quando nos extratos há a presença de produtos de degradação (açúcares e antocianidinas). Baseia-se na obtenção de espectros das soluções em 2 valores de pH, visto que com a alteração deste parâmetro, são observadas transformações nas estruturas das antocianinas e conseqüentemente na coloração das soluções (JACKMAN *et al.*, 1987). São utilizadas soluções de pH 1,0 e 4,5 para diluição do extrato, sendo as leituras feitas em 2 comprimentos de onda (510 nm = absorção máxima; 700 nm = ausência de absorção). A absorbância das soluções a 510 nm em pH 1,0 é proporcional à concentração das antocianinas presentes, enquanto a absorbância das soluções neste mesmo comprimento de onda, porém em pH 4,5, equivale aos produtos de degradação das antocianinas. O cátion flavílico, de coloração vermelha, é a forma predominante em pH 1,0 enquanto que o carbinol, incolor, predomina em pH 4,5. As leituras a 700 nm corrigem eventuais espalhamentos de luz causados por partículas em suspensão (CAMPOS, 2006).

4.2.4.6.2 Quantificação de Antocianinas por CLAE

A quantificação de antocianinas do suco de amora-preta (*Rubus* spp.), foi também determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo método adaptado por Araújo *et al.*, (2008). A solução, preparada a partir do padrão isolado e ressuspenso em balão volumétrico de 5 mL com a solução de injeção (metanol 10% em ácido fórmico 10%) para o sistema cromatográfico, teve sua concentração determinada pela

leitura de sua absorvância a 520 nm em espectrofotômetro UV1800 *Shimadzu*® (Kyoto, Japão).

Uma alíquota de 100µL da solução preparada com o padrão isolado foi seca sob nitrogênio e ressuspensa com 2 mL da solução. Para a cianidina-3-O-glicosídeo a absorvância molar é conhecida para a solução 1% HCl em metanol ($\epsilon=34300$ L/mol.cm), enquanto para a cianidina-3-O-rutenosídeo a absorvância molar é dada para a solução 1% HCl em água ($\epsilon=28840$ L/mol.cm) (COHEN, 2006; GIUSTI *et al.*, 1999).

O cálculo da concentração em mg/100g das soluções preparadas de cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutenosídeo foi feito levando-se em conta a pureza da cada solução obtida por prévia injeção cromatográfica, a massa molar de cada antocianina isolada (cianidina-3-O-glicosídeo = 449,2g.mol⁻¹; cianidina-3-O-rutenosídeo = 594g.mol⁻¹) e as diluições feitas para a realização da leitura da absorvância, conforme equação 3.15.

$$C = \frac{P \times A \times 10^3 \times MM \times FD}{\epsilon \times b} \quad 3.15$$

Onde:

C = concentração da antocianina em mg/5mL;

P = percentual de pureza equivalente ao percentual de área da antocianina;

A = absorvância obtida a 520nm;

10³ é o fator para converter a concentração de g para mg;

MM = massa molar da antocianina;

FD = fator de diluição (FD = 0,10);

ϵ = coeficiente de absorvância molar da antocianina no solvente usado (L/mol.cm);

b = caminho óptico da cubeta usada no espectrofotômetro (cm).

Com o valor da concentração conhecido, foi possível preparar, por diluição, outros pontos para construção da curva de calibração, cada um com volume final de 200µL. Os pontos foram injetados sob as mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente, sendo a curva de calibração feita a partir dos valores de concentração em função da área dos picos. Para a escolha destes valores, uma amostra foi previamente injetada e

observando-se a área obtida, foi possível escolher pontos do padrão que dariam áreas acima e abaixo deste valor, englobando assim a concentração da amostra na curva, uma vez que a área do pico é diretamente proporcional à concentração do analito.

4.2.5 Modelagem Matemática

Os valores experimentais de fluxo permeado dos processos de separação por membranas foram ajustados com auxílio do *software Statistica*®, versão 10, baseado em modelos semi-empíricos estudados por Constenla & Lozano (1997), Cheryan (1998) e Wu (1991), descritos no item 3.6. Foi empregado o pacote de regressão não-linear para a estimativa dos parâmetros dos modelos e do R^2 (coeficiente de correlação), para cada experimento. Em todos os casos, o valor inicial do fluxo (J_0) e final (J_F), foi autorizado a variar, ou seja, serem estimados pelo pacote, a fim de minimizar o provável impacto dos erros experimentais dos fluxos. Esta estratégia foi justificada na medida em que, na maioria dos casos, os fluxos iniciais sempre estão sujeitos a maior flutuação.

5 RESULTADOS

5.1 Fluxograma de Processo - 1

5.1.1 Microfiltração

O comportamento do fluxo permeado ao longo da microfiltração do suco de amora-preta hidrolisado enzimaticamente, conduzido a 5 bar, 35 °C e vazão de recirculação de 500 L/h é mostrado na Figura 5.1. Pode-se verificar que ele diminuiu consideravelmente, aproximadamente 56%, nos primeiros 15 minutos de permeação, passando de $\pm 43 \text{ L/hm}^2$ para 25 L/hm^2 , permanecendo constante até o fim do processo. As três repetições do processo (MF₁, MF₂, MF₃) tiveram o comportamento semelhante, comprovando que os processos utilizados apresentam boa repetibilidade dos dados. Um dos principais fatores limitantes nos processos de separação por membranas é o declínio do fluxo de permeado no decorrer do processo. De acordo com Marshall & Munro (1993), existem três estágios de declínio do fluxo permeado, sendo o primeiro, resultado da polarização de concentração; o segundo, da incrustação, e o terceiro, da deposição e efetivação da incrustação. Durante o processo, os sólidos são arrastados para a superfície da membrana por transporte convectivo e, sendo parcialmente ou totalmente rejeitados, tendem a se concentrar na interface, formando um gradiente de concentração. A este aumento da concentração dá-se o nome de polarização de concentração, que é responsável pelo desvio do fluxo comparado ao fluxo de água pura, pois provoca o contra-fluxo de solutos em direção à alimentação, em virtude da difusão. A incrustação ocorre quando há deposição e acúmulo de componentes da alimentação na superfície e/ou nos poros da membrana de forma irreversível em relação à alteração das condições operacionais, isso se dá por adsorção ou bloqueio físico dos poros (CHERYAN, 1998).

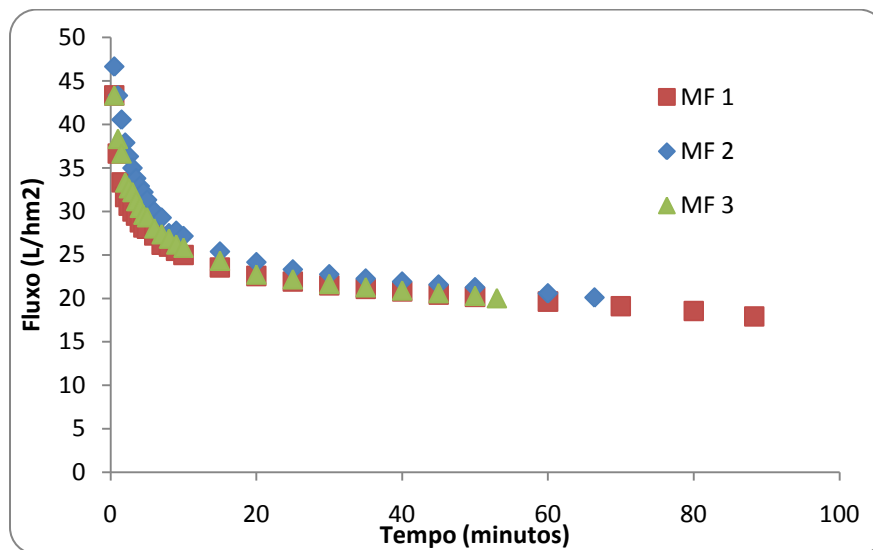


Figura 5.1- Fluxo permeado do processo de MF de suco de amora-preta.

Deve-se ressaltar que os três testes foram realizados sob as mesmas condições de operação, porém o afastamento observado entre as curvas deve-se ao fato que o volume de suco inicial usado para cada teste foi diferente, 11,07, 9,34 e 7,43 litros, respectivamente (dados apresentados no Apêndice A), e conseqüentemente o tempo de processo também, uma vez que o FCV foi fixado em 7. Na Figura 5.2, verificou-se que o volume do suco permeado aumentou quase linearmente ao longo da microfiltração.

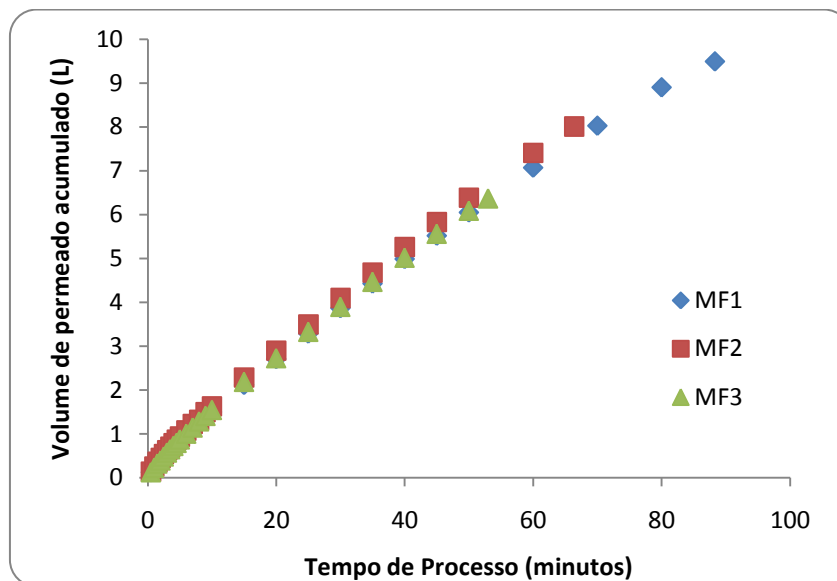


Figura 5.2- Volume de permeado ao longo do processo de MF de suco de amora-preta

De acordo com Baker (2004), a queda de fluxo e a incrustação nas membranas de MF geralmente ocorrem mais rapidamente do que nas membranas de UF e NF. Como os diâmetros de poro das membranas de MF são maiores, há entrada de partículas de várias dimensões, contribuindo para o aumento da incrustação.

Ao analisar o comportamento do fator de concentração volumétrica (FCV) no decorrer do processo observa-se que este aumenta exponencialmente com o tempo (Figura 5.3).

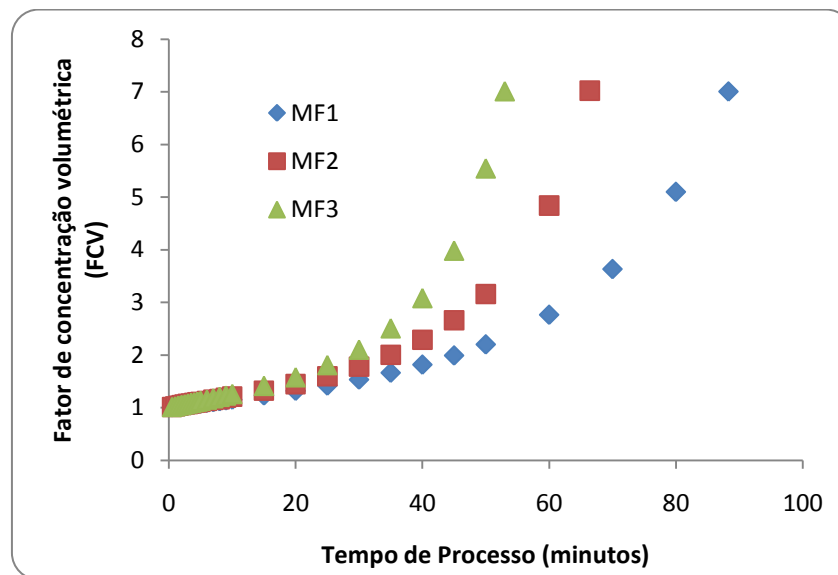


Figura 5.3- FCV ao longo do processo de MF de suco de amora-preta

Observa-se também que o fluxo de permeado diminuiu com o aumento do FCV (Figura 5.4). Esse comportamento pode ser atribuído ao fenômeno conhecido como polarização de concentração sobre a superfície da membrana, consequentemente formação da camada polarizada e também ao aumento da viscosidade do suco, que são consequência direta do aumento da concentração de sólidos totais no suco (GIRARD, FUKUMOTO, 2000; ALVAREZ *et al.*, 2000). O aumento de solutos junto à superfície da membrana, mesmo com o efeito da velocidade tangencial, que provoca turbulência próxima à superfície da membrana, contribui para a redução do fluxo de permeado.

Gibertoni *et al.* (2006) utilizaram MF e UF de suco de yacon para obtenção de um xarope rico em frutanos e observaram uma queda no fluxo de permeado de 33,3% e 30,4%, respectivamente, para as membranas de ultra e de microfiltração, quando o fator de concentração passou de 1 para 6, podendo ser explicada tanto pelo aumento da viscosidade do retido em virtude do aumento da concentração de partículas que não atravessaram a membrana, como pela formação da camada polarizada, que se desenvolve na superfície da membrana e que age como uma membrana secundária.

Sabe-se que para a utilização de tecnologias de membranas torna-se necessário avaliar as propriedades reológicas do fluido e propor alternativas viáveis para redução da viscosidade

uma vez que esta característica está diretamente associada às propriedades de escoamento da polpa pelo sistema de membranas (HAMINIUK *et al.*, 2008).

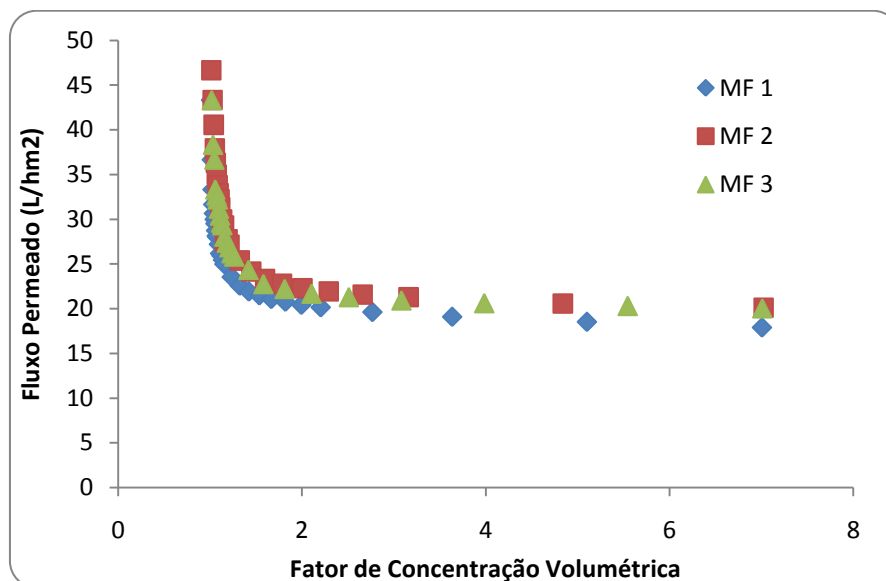


Figura 5.4- Comportamento do Fluxo permeado da MF com o aumento do FCV

Foram realizados testes a fim de comparar o fluxo permeado do suco de amora-preta quando submetido à hidrólise enzimática e na ausência deste pré-tratamento.

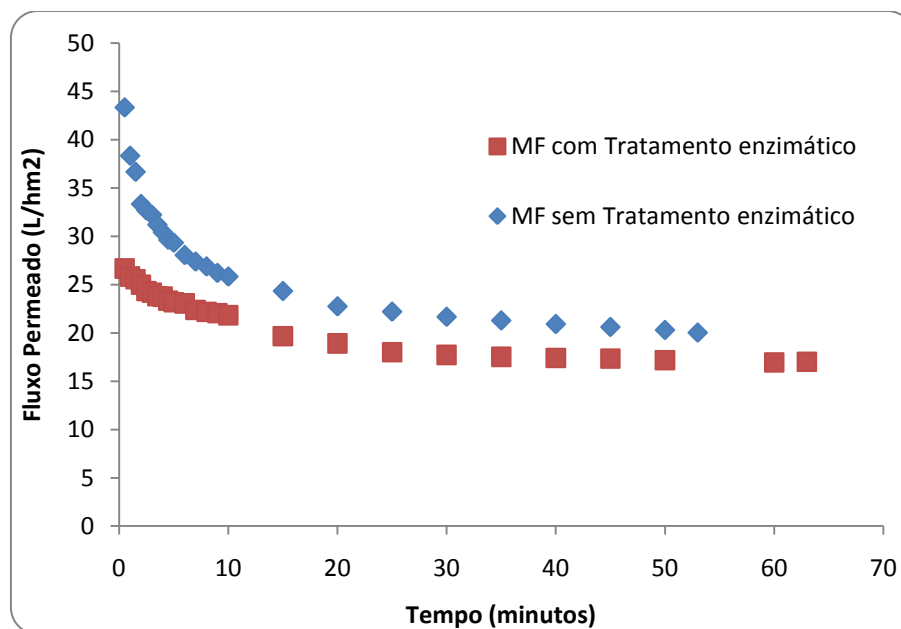


Figura 5.5- Fluxo permeado da MF de suco de amora-preta com e sem tratamento enzimático

Observa-se que o suco tratado enzimaticamente apresentou um fluxo permeado inicial, $43,3 \text{ L/hm}^2$, aproximadamente 40 % maior do que o suco sem o tratamento, $26,7 \text{ L/hm}^2$, terminando com o fluxo permeado 15 % maior e com um tempo 19% menor que o processo com suco que não sofreu hidrólise enzimática (Figura 5.5).

Sabe-se que para sucos de frutas, as substâncias causadoras da incrustação são compostos polissacarídeos provenientes da parede celular da fruta como pectina, lignina, celulose e hemiceluloses e para melhorar o desempenho da filtração por membranas pode ser feito um pré-tratamento com uma combinação de enzimas com, por exemplo, atividade pectinolítica e celulolítica, preparadas para hidrolisar a maior parte destes polissacarídeos solúveis, como se observou nos estudos de microfiltração de suco de maracujá (VAILLANT *et al.*, 1999) e suco de abacaxi (CARNEIRO *et al.*, 2002 e BARROS *et al.*, 2003).

O resultado obtido está coerente com o trabalho de Santiago (2010), onde a autora microfiltrou suco de amora-preta, e como pré-tratamento utilizou a hidrólise enzimática do suco nas mesmas condições, observando uma redução significativa (entre 6 e 36 vezes) na viscosidade da amostra, facilitando o processamento da mesma no sistema de membranas. Confirmando assim, que o uso de enzimas, em geral, facilita os processos industriais de membranas.

5.1.2 Ultrafiltração

As três repetições do processo (UF_1 , UF_2 , UF_3), realizadas a partir do permeado da MF, apresentaram comportamento semelhante e assim como na MF, uma boa repetibilidade dos resultados, conforme pode ser observado na Figura 5.6.

Observou-se que a UF, realizada a 10 bar, $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e com vazão de recirculação de 500 L/h, teve um comportamento semelhante ao da MF, o fluxo de permeado do suco de amora-preta diminuiu rapidamente com o aumento do tempo de processamento, aproximadamente 53%, apresentando um fluxo médio de 16 L/hm^2 .

Gonçalves *et al.* (2001) estudaram o efeito da remoção de colóides na estabilidade tartárica de vinhos brancos clarificados por micro/ultrafiltração. O vinho branco, pré-filtrado por microfiltração com membrana de diâmetro de $5 \text{ }\mu\text{m}$, foi testado em duas

membranas poliméricas de micro e ultrafiltração de diâmetro médio de 1,0 μm e 100 kDa de massa molecular média de corte, respectivamente. Os autores observaram que a microfiltração e a ultrafiltração apresentaram produtividades similares em relação ao fluxo de permeado e remoção de partículas.

Outros autores como Barros (2002), Carneiro *et al.* (2002), Jegatheesan *et al.*, (2009) e Cassano *et al.*, (2010), que estudaram o processo de clarificação dos sucos de abacaxi e acerola, abacaxi, caldo de cana e pêra, respectivamente, usando processos de separação por membranas, também descreveram comportamento do fluxo permeado semelhante ao presente trabalho, com a ocorrência da queda de fluxo no início e após 15 min de processo, uma taxa praticamente constante, com valores de fluxo diferentes em cada caso, até o final do experimento, correspondendo à etapa de consolidação da incrustação.

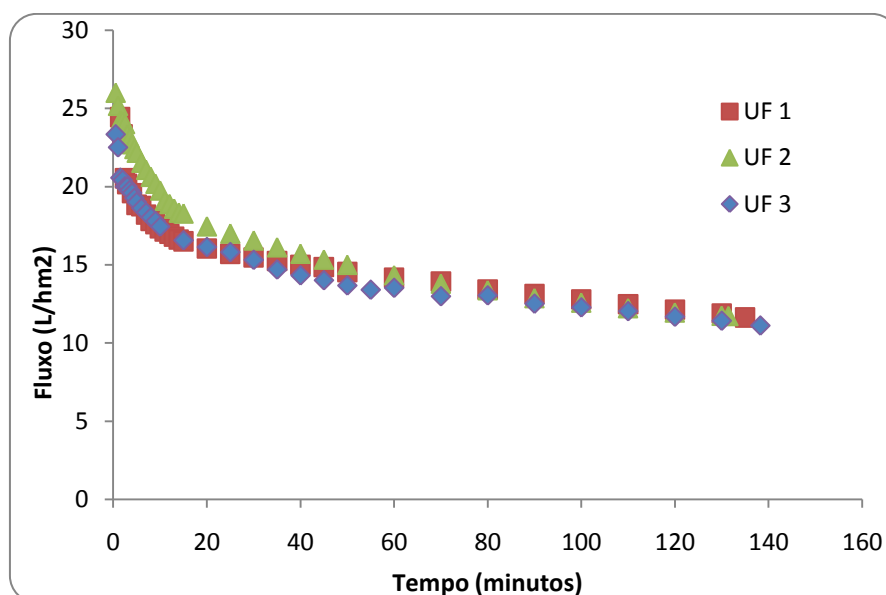


Figura 5.6- Fluxo permeado da UF do permeado de suco de amora-preta microfiltrado

Como pode ser constatado, o fluxo de permeado da UF também diminuiu com o aumento do fator de concentração volumétrico (Figura 5.7). Embora a hipótese de retenção de sólidos insolúveis pela membrana seja descartada, pois o suco utilizado para alimentar o sistema foi o permeado da MF, isento de sólidos em suspensão, pode ter ocorrido a retenção de sólidos totalmente solúveis pela membrana devido à formação da camada

polarizada, aumentando assim a concentração destes sólidos no retido, como pode ser observado na Tabela 5.1, provocando um aumento na viscosidade do suco, conforme comentado anteriormente na MF, e conseqüentemente o declínio do fluxo de permeado. Outros fatores que podem ter contribuído para a queda do fluxo, são a ocorrência da adsorção de moléculas na superfície da membrana e/ou no interior de seus poros, interações físico-químicas entre o material acumulado e a membrana e entre as próprias espécies que constituem este material (BARROS, 2002).

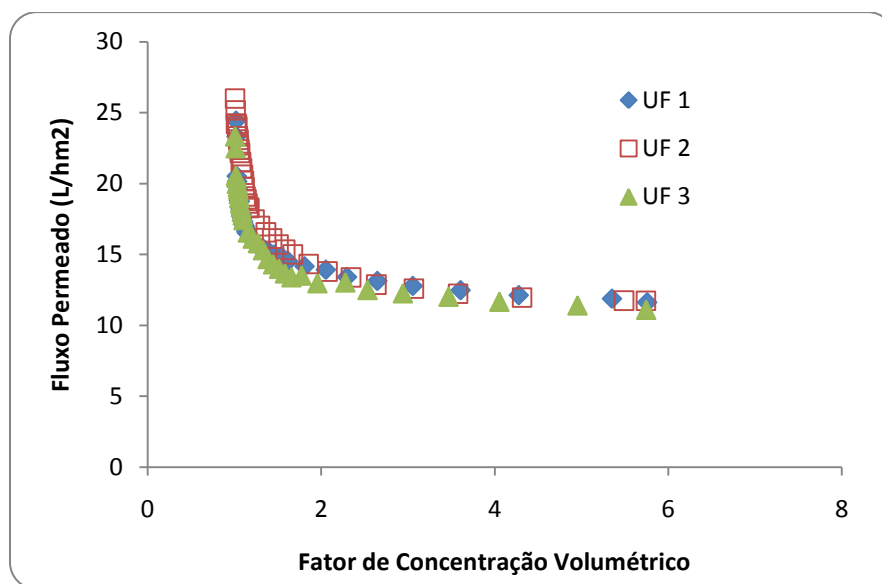


Figura 5.7- Comportamento do Fluxo permeado da UF com o aumento do FCV

5.1.3 Nanofiltração

O comportamento do fluxo permeado durante a NF do suco de amora-preta ultrafiltrado, realizada a 20 bar, 35 °C e com a vazão de recirculação fixada em 500 L/h como nos demais processos, está mostrado na Figura 5.8. Verifica-se uma queda contínua no fluxo permeado, sendo de aproximadamente 10 % nos primeiros 15 minutos, quando a curva começa a decrescer linearmente chegando a um fluxo médio final de 14 L/hm², aproximadamente 70% menor que o inicial. Liikanen *et al.* (2002), Warczok *et al.* (2004), Van der Bruggen *et al.*, (2008) e Suárez *et al.* (2009) atribuem este declínio à camada de polarização, em decorrência do processo de concentração, e à incrustação, ambos os fenômenos normalmente presentes nos processos de separação por membranas, como

comentado no item 3.5.3. Comportamento semelhante foi observado por Benedetti (2010) na concentração de isoflavonas do extrato aquoso de farinha desengordurada de soja por nanofiltração e Hódur *et al.* (2009) na concentração por membranas de produtos similares, a partir de extratos aquosos. Fersi *et al.* (2005) utilizaram o processo de nanofiltração no tratamento de efluentes biologicamente tratados da indústria têxtil e observaram um declínio do fluxo de permeado no decorrer do processo de 50 L/h.m² para valores próximos de 10 L/h.m². Em outro estudo, os mesmos autores avaliaram o declínio do fluxo e observaram que a formação da camada polarizada no início da MF e UF contribuiu para uma queda mais acentuada nos primeiros instantes do fluxo de permeado, diferente dos processos de NF, na qual essa queda só ocorreu uma hora após o início do experimento (FERSI *et al.*, 2009).

Resultados similares foram obtidos por Diaz-Reinoso *et al.* (2009), para concentrados de extrato aquoso de destilado de bagaço de uva fermentada, e por Luo *et al.* (2009), na remoção do sal de molho de soja, todos empregando a NF, onde os fluxos variaram de 10 a 70 L/hm² no primeiro estudo, enquanto na remoção do sal de molho de soja o fluxo médio foi de 6,64 L/hm². Apesar de serem produtos diferentes, as similaridades entre os processos permitem a comparação entre os resultados.

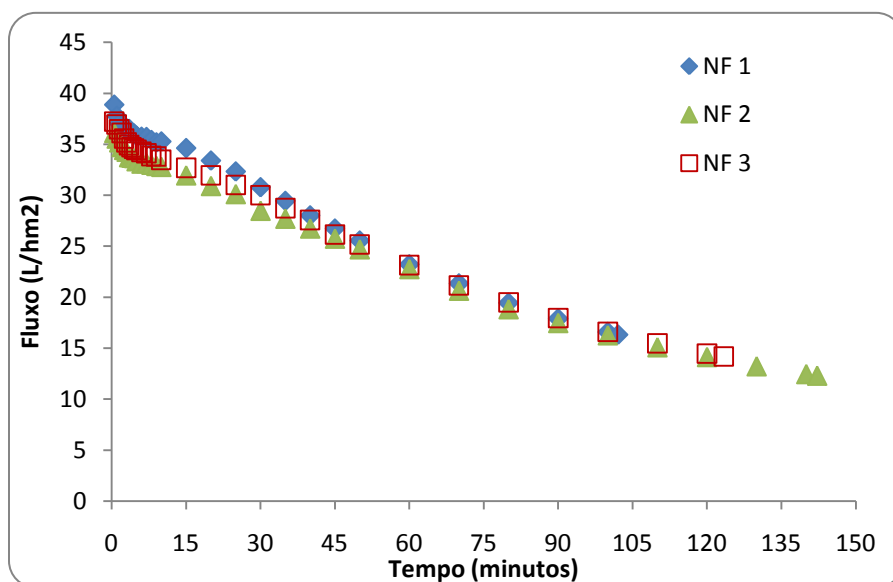


Figura 5.8- Fluxo permeado do processo de NF de suco de amora-preta ultrafiltrado

Na Figura 5.9, é possível observar que o fluxo permeado nos primeiros 15 minutos tem uma ligeira tendência a ficar constante com o aumento do fator de concentração volumétrico (FCV), e depois decresce continuamente, formando uma curva e tendendo ficar constante. Comportamento diferente do que ocorreu nos processos de micro e ultrafiltração. Sugere-se que essa queda, que não é considerada típica para o processo de NF, ocorra devido ao acúmulo de substâncias na superfície da membrana, conseqüentemente aumentando a camada polarizada e a consolidação da incrustação com o tempo. Visto que a membrana de NF é constituída de poros bem pequenos, sendo quase uma membrana densa, retendo mais que 96% das antocianinas, que é o foco de interesse deste trabalho e será visto mais a frente no item 5.2.4.1.

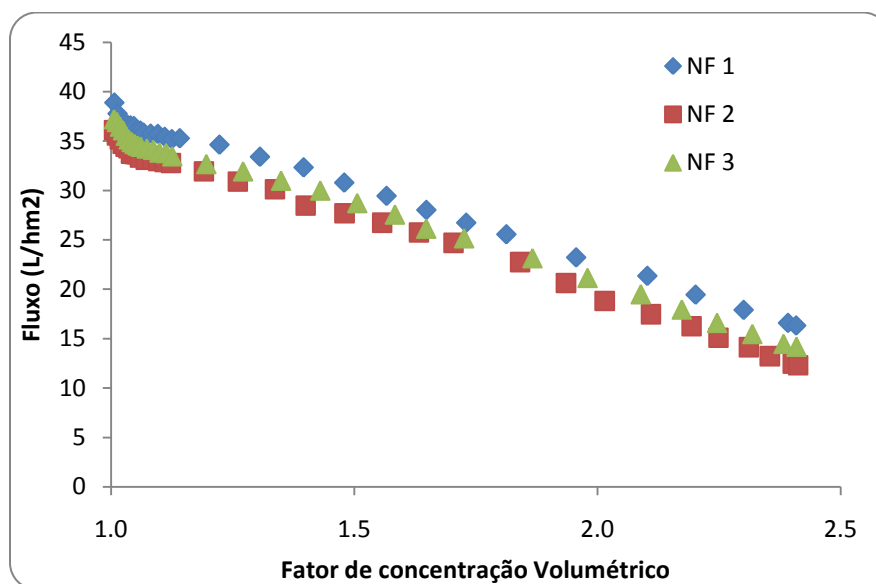


Figura 5.9- Comportamento do Fluxo permeado da NF com o aumento do FCV

5.1.4 Determinações Analíticas

5.1.4.1 Propriedades Físicas

A alimentação e as duas correntes do processo (permeado e retido) foram avaliadas quanto à acidez (total e expressa em ácido cítrico), pH, sólidos solúveis (° Brix) e sólidos totais (expressa em umidade e extrato seco), cujos resultados estão expressos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1- Caracterização das amostras de alimentação, permeado e retido do suco de amora-preta (*Rubus spp.*).

Propriedades Físicas				
PROCESSO	ANÁLISE	ALIMENTAÇÃO	PERMEADO	RETIDO
MF*	Acidez (g _{ac. cítrico} /100g)	1,14 ^a ± 0,02	1,12 ^a ± 0,02	1,34 ^b ± 0,00
	pH	3,08 ^a ± 0,03	3,06 ^a ± 0,03	3,09 ^a ± 0,03
	°Brix	7,00 ^a ± 0,29	7,00 ^a ± 0,00	9,00 ^b ± 0,29
	Umidade (g/100g)	91,67 ^a ± 0,71	92,57 ^b ± 0,24	90,21 ^c ± 0,34
	Extrato Seco (g/100g)	8,33 ^a ± 0,71	7,43 ^a ± 0,24	9,79 ^b ± 0,34
MF s/ Tratamento Enzimático (T.E.)*	Acidez (g _{ac. cítrico} /100g)	1,13 ^a ± 0,01	1,09 ^a ± 0,01	1,34 ^b ± 0,01
	pH	3,08 ^a ± 0,01	3,08 ^a ± 0,01	3,08 ^a ± 0,00
	°Brix	7,00 ^a ± 0,00	7,00 ^a ± 0,29	9,50 ^b ± 0,00
	Umidade (g/100g)	92,30 ^a ± 0,02	92,65 ^b ± 0,01	90,21 ^c ± 0,06
	Extrato Seco (g/100g)	7,70 ^a ± 0,02	7,35 ^b ± 0,01	9,79 ^c ± 0,06
UF	Acidez (g _{ac. cítrico} /100g)	1,10 ^a ± 0,08	1,10 ^a ± 0,03	1,39 ^b ± 0,04
	pH	3,13 ^a ± 0,01	3,14 ^a ± 0,01	3,15 ^a ± 0,01
	°Brix	6,75 ^a ± 0,29	7,00 ^a ± 0,00	9,50 ^b ± 0,25
	Umidade (g/100g)	92,48 ^a ± 0,16	92,60 ^a ± 0,14	89,55 ^b ± 0,10
	Extrato Seco (g/100g)	7,52 ^a ± 0,16	7,40 ^a ± 0,14	10,45 ^b ± 0,10
NF	Acidez (g _{ac. cítrico} /100g)	1,27 ^a ± 0,07	0,90 ^a ± 0,16	1,73 ^b ± 0,04
	pH	3,11 ^a ± 0,01	2,95 ^b ± 0,06	3,16 ^a ± 0,01
	°Brix	7,00 ^a ± 0,50	2,50 ^b ± 0,29	13,50 ^c ± 0,58
	Umidade (g/100g)	92,74 ^a ± 0,17	97,37 ^b ± 0,24	85,95 ^c ± 0,67
	Extrato Seco (g/100g)	7,26 ^a ± 0,17	2,63 ^b ± 0,24	14,05 ^c ± 0,67

Letras diferentes (na mesma linha) significam diferença estatística, considerando nível de confiabilidade de 95%. *Os dois processos, quando comparados estatisticamente, em relação às determinações analíticas, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$)

A partir da caracterização físico-química das amostras obtidas nos processos de MF, UF e NF observa-se que as alterações foram muito pequenas, mesmo apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$). Porém algumas considerações devem ser feitas.

Em relação à acidez, nota-se que o retido de todos os processos realizados apresentaram valores superiores às demais frações. Confrontando os resultados para pH e acidez titulável das amostras de retido e permeado, Silva (2010), verificou que no processo de microfiltração e ultrafiltração de polpa de mamão hidrolisada ocorreu uma concentração de ácidos não-dissociados, sem alterar a concentração de íons hidrogênio, uma vez que o retido apresentou maior acidez quando comparado com o permeado. No entanto, o pH foi praticamente igual em ambas as frações. Este mesmo comportamento foi encontrado em

estudos com suco de tamarindo (WATANABE *et al.*, 2006) e de pitanga (ONGARATTO, 2009).

Observa-se que na MF e UF, o teor de sólidos solúveis (° Brix) da fração retida difere significativamente ($p \leq 0,05$) das demais frações, apresentando-se maior. Esse aumento no retido indica a retenção de sólidos totalmente solúveis devido à barreira adicional decorrente da formação da camada polarizada nos processos de MF e UF que conseqüentemente contribui para o declínio do fluxo permeado. Gomes (2009), ao realizar testes preliminares para verificar a influência da configuração do sistema na concentração de licopeno de melancia, também observou o aumento de sólidos solúveis no retido ao realizar MF usando membranas poliméricas tubular. Silva (2010), ao concentrar licopeno de polpa de mamão usando membranas poliméricas obteve o mesmo resultado e sugere que esta ocorrência pode ser justificada pelo efeito da camada polarizada que constitui uma barreira adicional ao transporte de espécies químicas, resultando em uma maior concentração da espécie no retido. Carvalho *et al.*, (2008) avaliaram a retenção de açúcares no processo de clarificação de suco de abacaxi e perceberam que após a MF e UF, em membranas com ponto de corte (*cut-offs*) de 50 e 100 KDa, houve uma retenção de açúcares em torno de 10 %. Já Youn *et al.* (2004), não observou diferença significativa no conteúdo de açúcar total, depois da MF e UF de suco de maçã, em membranas de fibra oca com diâmetro médio de poros de 0,1 μm e 30 kDa.

Ao realizar o tratamento estatístico para comparar os processos de MF com e sem tratamento enzimático, observou-se que as frações (alimentação, permeado e retido) de ambos os processos não diferiram significativamente ($p > 0,05$), demonstrando que a hidrólise enzimática não alterou a composição do suco de amora-preta.

5.1.4.2 Antocianinas

A Tabela 5.2 apresenta o teor de antocianinas, determinado por pH diferencial, para as correntes de todos os processos e é possível observar que o teor de antocianinas no suco de amora-preta quando submetido ao processo de MF passou de 46 para 43 mg/100g no permeado, comprovando a eficácia do processo para a manutenção deste componente.

Em relação à UF, verifica-se que as antocianinas permeiam através da membrana. O balanço de massa dessas moléculas, obtido a partir dos volumes de cada fração, de acordo

com os dados apresentados no Apêndice B, mostra que cerca de 52 % do teor de antocianinas fica retido, 43% passa através da membrana e a perda no processo é muito baixa, em torno de 5%, comprovando o bom desempenho do processo de UF na manutenção de moléculas bioativas de suco de amora-preta.

Tabela 5.2 Teor de Antocianinas nas diferentes frações dos diferentes processos.

PROCESSO	Antocianinas (mg _{cianidina-3-O-glicosídeo} /100g)			FATOR DE CONCENTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS
	ALIMENTAÇÃO	PERMEADO	RETIDO	
MF *	46,67 ^a ± 0,54	43,74 ^b ± 0,91	60,63 ^c ± 0,05	1,3
MF s/ T.E.*	46,67 ^a ± 0,13	43,04 ^b ± 0,08	60,73 ^c ± 0,11	1,3
UF	43,51 ^a ± 0,69	27,56 ^b ± 2,62	105,90 ^c ± 3,62	2,5
NF	26,51 ^a ± 0,54	3,15 ^b ± 0,04	55,44 ^c ± 0,19	2,1

Letras diferentes (na mesma linha) significam diferença estatística, considerando nível de confiabilidade de 95%. *Os dois processos, quando comparados estatisticamente, em relação às determinações analíticas, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

Resultados comprovam que no processo de NF, apesar de o FCV atingido ter sido de 2,4 mas o fator de concentração de antocianinas em relação ao teor da alimentação ser 2,1, o processo possui um grande potencial para concentrar antocianinas porque, a partir dos dados apresentados no apêndice C, em média, mais de 85% (percentual em massa) de antocianinas presentes no permeado da UF foram retidas pela membrana de NF, sendo que apenas 7% permearam através da membrana, resultando em perda de aproximadamente 6%.

Apesar de pequenas, as perdas observadas de antocianinas ao longo dos processos podem ser atribuídas ao fato dos mesmos terem sido conduzidos em escala semi-piloto. Exemplo disto é o acúmulo de material na superfície da membrana, visto que a área utilizada não foi pequena (0,36 m² na MF e UF e 0,216 m² na NF), não podendo, portanto, desconsiderar essa hipótese; a oxigenação devido à aeração natural que ocorre no interior do tanque de alimentação devido ao retorno do retido, o que resulta na oxidação das antocianinas e de outros compostos e a possível existência de material residual acumulado na tubulação.

Outra possível explicação para a perda de antocianinas pode ser a própria concentração do suco, pois, segundo Wang & Xu (2007), que estudaram a estabilidade das antocianinas em suco concentrado de amora e compararam com o suco integral, o suco concentrado é mais susceptível à degradação das antocianinas devido à proximidade entre moléculas reativas (como oxigênio), acelerando a velocidade de ocorrência das reações de degradação. Este fenômeno também foi relatado por Garzón & Wrolstad (2002), para antocianinas do morango e por Cemeroglu *et al.* (1994), para antocianinas da cereja.

5.1.4.3 Capacidade Antioxidante (CA)

A Tabela 5.3 apresenta a capacidade antioxidante (CA) para todas as frações de todos os processos e pode-se observar que em todos os processos ocorreu um aumento da capacidade antioxidante na fração retida comparado à alimentação, de aproximadamente 2 vezes na MF e NF e em 2,4 na UF.

O permeado da MF apresenta uma redução em torno de 25% da capacidade antioxidante quando comparada à alimentação, esse resultado, quando confrontado com o teor de antocianinas, mostra que existem outras moléculas bioativas contribuindo para a capacidade antioxidante além das antocianinas, que provavelmente ficam na fração retida, uma vez que o teor de antocianinas na alimentação e no permeado da MF são semelhantes.

Orak (2007) estudou dezesseis cultivares de uvas vermelhas e avaliou a correlação entre fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante. Para as uvas vermelhas avaliadas, o teor de fenólicos totais teve maior correlação com a atividade antioxidante quando comparada a correlação apresentada pelas antocianinas e a atividade antioxidante, indicando maior contribuição de compostos não flavonóides na atividade antioxidante de uvas vermelhas.

De acordo com Vinson *et al.* (1999) e Luo *et al.* (2002), a interação entre compostos fenólicos pode causar um aumento da atividade antioxidante do suco concentrado de forma independente, sem a influência das antocianinas, apesar das mesmas possuírem comprovado potencial antioxidante. Garcia-Alonso *et al.* (2004) avaliaram as propriedades antioxidantes em vinte e oito frutos, concluíram que a atividade antioxidante está associada à ação de outros compostos presentes nas frutas e a possíveis efeitos de sinergia e antagonismo ainda desconhecidos.

No processo de NF, é possível observar que cerca 10% da capacidade antioxidante da alimentação está presente na fração permeada, e este resultado está coerente com o obtido para o teor de antocianinas na NF, comprovando a contribuição das antocianinas na capacidade antioxidante.

Tabela 5.3- Capacidade Antioxidante nas diferentes frações dos diferentes processos.

PROCESSO	Capacidade Antioxidante ($\mu\text{mol trolox/g}$)			
	ALIMENTAÇÃO	PERMEADO	RETIDO	$CA_{\text{RETIDO}}/CA_{\text{ALIMENTAÇÃO}}$
MF*	10,14 ^a ± 0,07	7,60 ^b ± 0,28	19,70 ^c ± 0,57	1,9
MF s/ T.E.*	10,52 ^a ± 0,10	7,32 ^b ± 0,06	18,54 ^c ± 0,16	1,8
UF	7,53 ^a ± 0,46	5,46 ^b ± 0,11	18,39 ^c ± 0,80	2,4
NF	3,30 ^a ± 0,09	0,33 ^b ± 0,01	6,58 ^c ± 0,27	2,0

Letras diferentes (na mesma linha) significam diferença estatística, considerando nível de confiabilidade de 95%. *Os dois processos, quando comparados estatisticamente, em relação às determinações analíticas, não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$)

5.2 Fluxograma de Processo – 2

De acordo com o fluxograma de processo 2 descrito no item 4.2.3.2, realizou-se a combinação dos PSM em três sequências diferentes, A, B e C, e os processos foram realizados nas mesmas condições dos realizados na primeira parte do trabalho (Fluxograma de processo 1).

5.2.1 Sequência A

Analisando os resultados obtidos, observa-se que na UF direta, partindo do suco hidrolisado de amora-preta, o fluxo inicial foi muito baixo, 13 L/hm², terminando com um fluxo constante de 6,3 L/hm², utilizando o mesmo FCV (5,7) dos demais processos de UF. Os baixos valores de fluxo comparados aos outros processos de UF, cujo fluxo médio em torno de 16 L/hm², podem ser justificados pela matéria-prima utilizada para alimentar o processo, suco de amora-preta hidrolisado, cuja característica era diferente da alimentação utilizada nos demais processos de UF (permeado da MF), com grande quantidade de sólidos em suspensão e viscosidade maior, que conseqüentemente também contribuiu com o aumento de 70% no tempo de processamento. Apesar dessas diferenças entre os processos de UF realizados na primeira etapa do trabalho (fluxograma 1) e a UF realizada

nessa etapa, observa-se um percentual de redução do fluxo permeado inicial semelhante aos demais ($\pm 53\%$) e uma similaridade no comportamento, em termos de curva de fluxo permeado (Figura 5.10).

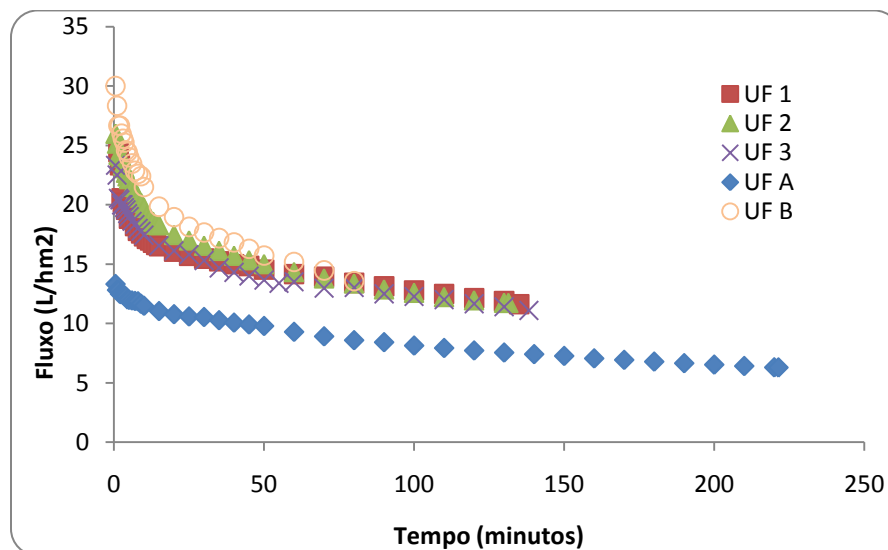


Figura 5.10 - Comparação dos fluxos permeados da UF nas duas etapas do trabalho, fluxograma 1 (UF 1, 2 e 3), apresentado na Figura 5.6, e fluxograma 2 (sequência A e B).

O processo de NF seguiu o mesmo comportamento descrito no item 5.1.3, com uma leve tendência a ficar constante até 7 minutos, mas com uma queda constante ao longo do tempo. Observa-se na Figura 5.11 que o tempo de processo em relação às NF da primeira etapa do trabalho (Fluxograma 1) foi menor devido ao volume inicial de matéria-prima ter sido também menor.

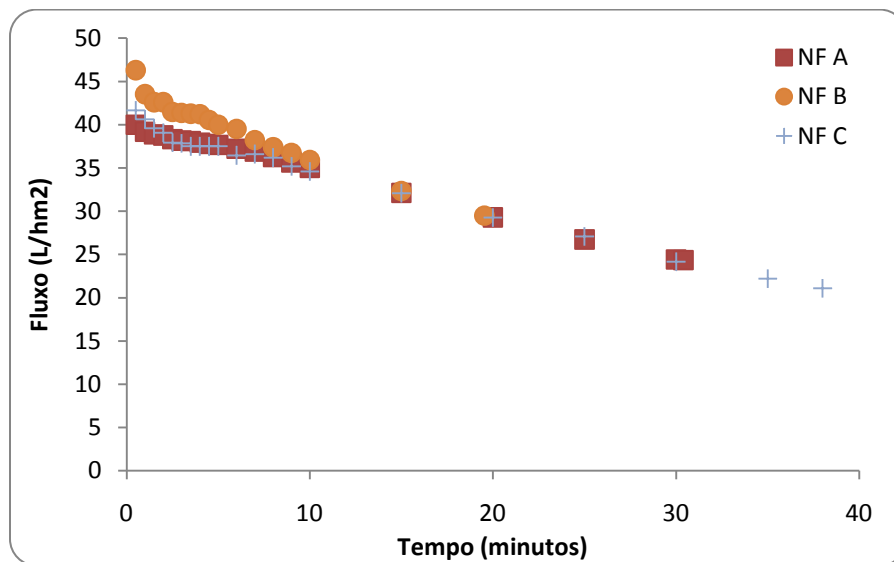


Figura 5.11- Fluxo permeado da NF nas três diferentes sequências A, B e C.

5.2.2 Sequência B

O mesmo comportamento da primeira etapa do trabalho (Fluxograma 1) pode ser visto nas Figuras 5.10, 5.11 e 5.12, para todos os processos. Podendo ser ressaltado que todos os processos de MF foram realizados de forma igual, porém o fluxo permeado das MF's desta etapa foi superior aos demais (Figura 5.12), o que pode ser justificado pelo acondicionamento das membranas em ácido propiônico 1%, enquanto estas não estavam sendo utilizadas, o que possivelmente contribuiu para uma maior remoção dos elementos causadores da incrustação existentes na membrana, mesmo após o procedimento de limpeza, mostrando que a eficiência do procedimento de limpeza é primordial para integridade da membrana e repetibilidade dos dados experimentais.

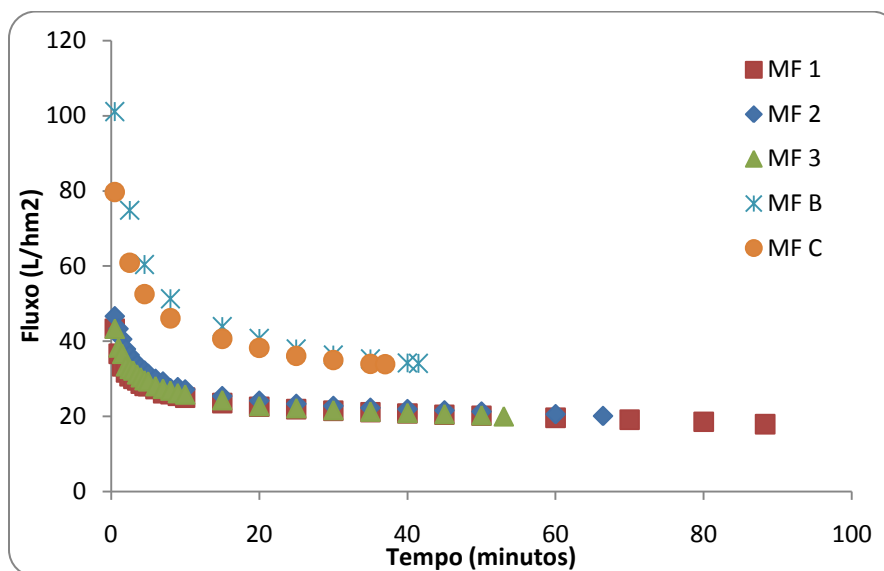


Figura 5.12- Comparação dos fluxos permeados da MF nas duas etapas do trabalho, fluxograma 1 (MF 1, 2 e 3), apresentado na Figura 5.1, e fluxograma 2 (seqüências B e C).

5.2.3 Sequência C

Conforme mencionado nos itens anteriores (5.2.1 e 5.2.2), tanto a MF quanto a NF realizadas nesta parte seguiram comportamentos semelhantes aos seus respectivos processos na primeira etapa desse trabalho (Fluxograma 1).

5.2.4 Determinações Analíticas

5.2.4.1 Antocianinas

A Tabela 5.4 apresenta os resultados da quantificação de antocianinas das amostras obtidas na segunda etapa do trabalho. Observa-se diferença entre os resultados obtidos pelos diferentes métodos, pH diferencial e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), porém essa diferença pode ser considerada pequena. Em estudo realizado por Gouvêa (2010), ao quantificar antocianinas de açaí por pH diferencial e CLAE, a autora observou que o método do pH diferencial superestimou a quantidade de antocianinas, devido a presença de possíveis substâncias na matriz do açaí, que interferiram apenas nos resultados

provenientes da análise de quantificação por pH diferencial e não nos resultados cromatográficos.

Tabela 5.4- Teor de Antocianinas analisados por pH diferencial e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Antocianinas (mg cianidina-3-O-glicosídeo/100g)											
SEQUÊNCIA A			SEQUÊNCIA B				SEQUÊNCIA C				
PH DIFERENCIAL		CLAE	PH DIFERENCIAL		CLAE	PH DIFERENCIAL		CLAE			
			A	43,61 ± 0,40	27,65 ± 1,05	A	42,59 ± 0,13	34,62 ± 0,35			
			P	40,37 ± 0,23	25,76 ± 4,05	P	39,44 ± 0,14	22,64 ± 2,52			
			R	57,36 ± 0,14	39,05 ± 0,03	R	57,00 ± 0,23	51,77 ± 3,66			
UF			UF			UF					
A	44,38 ± 0,42	33,03 ± 0,93	A	43,18 ± 0,33	27,73 ± 2,36						
P	24,73 ± 0,06	17,00 ± 0,33	P	23,62 ± 0,10	10,14 ± 0,94						
R	114,5 ± 0,10	77,54 ± 3,22	R	100,32 ± 0,18	105,59 ± 2,63						
NF			NF			NF					
A	18,75 ± 0,11	11,96 ± 0,09	A	23,79 ± 0,18	12,85 ± 1,94	A	37,42 ± 0,24	18,40 ± 1,44			
P	1,52 ± 0,01	0,78 ± 0,08	P	0,78 ± 0,01	1,05 ± 0,08	P	0,84 ± 0,01	0,79 ± 0,06			
R	40,76 ± 0,29	25,85 ± 2,79	R	43,85 ± 0,16	26,77 ± 2,00	R	74,48 ± 0,12	41,19 ± 0,35			

Onde: A=Alimentação, P= Permeado e R= Retido

Gouvêa (2010) determinou também o teor de antocianinas de extrato de amora, o qual possui a antocianina cianidina-3-O-glicosídeo em maior concentração, a majoritária como preconiza o método de pH diferencial. Comparando os valores obtidos, a autora observou que para essa matriz os resultados tanto para análise por pH diferencial, quanto por CLAE estão na mesma ordem de grandeza e possuem valores próximos, já que a quantificação realizada pela primeira metodologia fornece valores de antocianinas monoméricas totais, ou seja, tanto as majoritárias quanto as outras de menor concentração são quantificadas, enquanto a segunda metodologia fornece a soma dos valores de concentração das antocianinas majoritárias (cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutenosídeo), constatando que as duas técnicas avaliadas são eficientes para quantificação de antocianinas da amora.

A partir da análise por CLAE, foi possível observar que todas as frações dos diferentes processos apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, variando somente na magnitude dos picos, o que está diretamente relacionado à concentração das antocianinas (Figura 5.13).

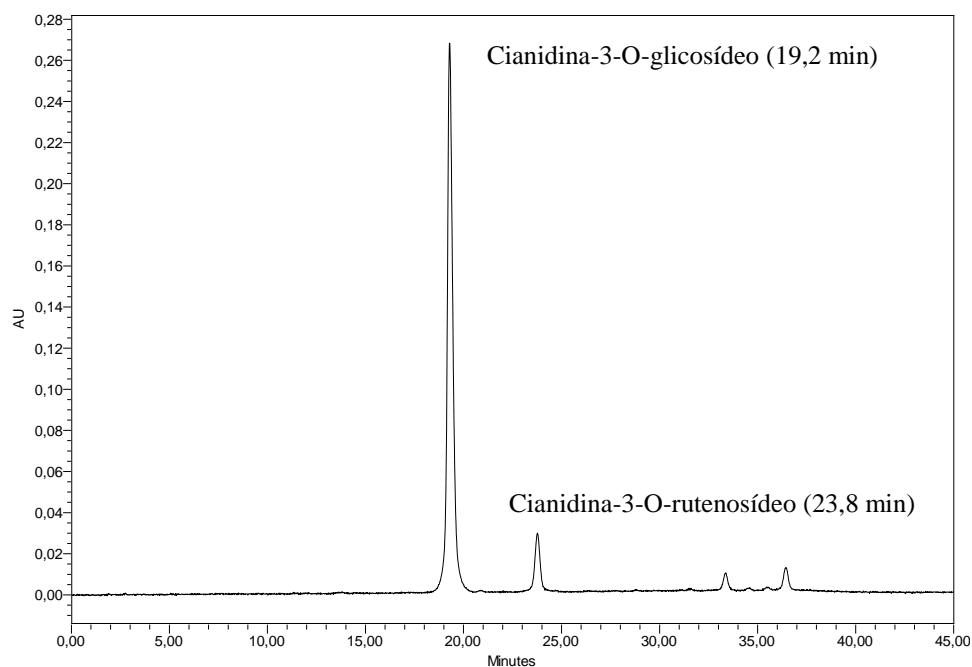


Figura 5.13- Perfil cromatográfico das antocianinas majoritárias do suco de amora-preta

As concentrações das duas antocianinas majoritárias no suco de amora-preta, cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutenosídeo, de todas as frações foram determinadas por CLAE e observou-se que o índice de retenção para cada antocianina, calculado pela equação 3.3, foi semelhante para ambas as antocianinas em todos os casos, indicando que não houve um fracionamento das mesmas (Tabela 5.5).

Segundo a Tabela 5.5, o índice de retenção, tendo como parâmetro as antocianinas, variou de 34 a 59 % nos processos de MF, 78 a 90 % nos de UF e foi superior a 96% nos processos de NF. Isso indica que a membrana de MF reteve, em média, 47 % das antocianinas do suco de amora, a UF reteve, em média, 87 %, enquanto a de NF reteve mais de 96%, sugerindo este processo como uma alternativa eficiente para a obtenção de um suco concentrado em antocianinas.

Em relação à manutenção de antocianinas, ao longo das três diferentes sequências de processos (A, B e C), observa-se que a NF da sequência C foi a mais eficaz, cujo retido apresentou uma concentração de antocianinas igual a 74,48g/100g, enquanto as demais sequências apresentaram valores de 40,76 e 43,85g/100g, respectivamente A e B.

Tabela 5.5- Concentração e índice de retenção das antocianinas majoritárias nas diferentes combinações de PSM realizadas.

Concentração de antocianinas expressa nas duas majoritárias e Índice de Retenção (IR) pela Membrana											
SEQUÊNCIA A				SEQUÊNCIA B				SEQUÊNCIA C			
				MF				MF			
g cianidina-3-o-glicosídeo/100g	IR	g cianidina-3-o-rutenosídeo/100g	IR	g cianidina-3-o-glicosídeo/100g	IR	g cianidina-3-o-rutenosídeo/100g	IR	g cianidina-3-o-glicosídeo/100g	IR	g cianidina-3-o-rutenosídeo/100g	IR
A				27,65		2,80		34,62		3,16	
P				25,76	34%	2,52	38%	22,64	56%	2,09	59%
R				39,05		4,03		51,77		5,03	
UF				UF							
A	33,03		3,44	27,73		2,81					
P	17,00	78%	1,55	10,14	90%	0,71	94%				
R	77,54		10,09	105,59		12,86					
NF				NF				NF			
A	11,96		0,90	12,85		0,90		18,40		1,66	
P	0,78	97%	0,04	1,05	96%	0,02	99%	0,79	98%	0,04	99%
R	25,85		1,99	26,77		2,22		41,19		3,52	

Onde: A=Alimentação, P= Permeado e R= Retido

5.2.4.2 Capacidade Antioxidante (CA)

Analisando os resultados da Tabela 5.6, observa-se que na UF da sequência A, a permeação de compostos bioativos resulta na CA de 3,72 $\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$ no permeado, que representa 40% em relação à alimentação, e retém 2,8 vezes. Já na UF que foi realizada com o permeado da MF, sequência B, a presença de compostos bioativos resultou em 53% da CA no permeado em relação à alimentação e concentrou 2,5 vezes a CA no retido. Em ambas microfiltrações observou-se uma concentração de aproximadamente 1,7 vezes no retido.

Tabela 5.6- Capacidade Antioxidante das combinações de processos A, B e C.

Capacidade Antioxidante ($\mu\text{mol}_{\text{trolox}}/\text{g}$)					
SEQUÊNCIA A		SEQUÊNCIA B		SEQUÊNCIA C	
		MF		MF	
		A	9,32 \pm 0,05	A	9,93 \pm 0,06
		P	6,98 \pm 0,04	P	5,44 \pm 0,08
		R	15,53 \pm 0,02	R	17,20 \pm 0,22
UF		UF			
A	9,51 \pm 0,05	A	6,35 \pm 0,05		
P	3,72 \pm 0,02	P	3,39 \pm 0,04		
R	26,12 \pm 0,04	R	15,74 \pm 0,02		
NF		NF		NF	
A	2,37 \pm 0,02	A	3,35 \pm 0,03	A	5,28 \pm 0,08
P	0,20 \pm 0,01	P	0,35 \pm 0,01	P	0,38 \pm 0,00
R	5,99 \pm 0,01	R	6,57 \pm 0,07	R	11,87 \pm 0,11

Onde: A=Alimentação, P= Permeado e R= Retido

Os resultados de capacidade antioxidante para os processos de NF mostram que de 7 a 10% da capacidade antioxidante permeiam através da membrana, resultado que é compreensível, pois, como visto na Tabela 5.4, ocorre também a passagem de antocianinas que são moléculas que contribuem para a capacidade antioxidante. Observa-se também uma concentração em média de 2,3 vezes no retido.

Em relação aos valores de CA, ao longo das três diferentes sequências de processos (A, B e C), observa-se que a NF da combinação C foi também a mais eficaz, cujo retido

apresentou valor de capacidade antioxidante, expresso em μmol de trolox/g, igual a 11,87 e nas demais combinações 5,99 e 6,57, respectivamente A e B.

5.2.5 Análise Global das Combinações

Em um primeiro momento, analisando os fluxos permeados, os teores de antocianinas e capacidade antioxidante no final de cada combinação, ou seja, nas nanofiltrações, observa-se que a melhor sequência a ser utilizada seria a “C”, visto que em ambos os processos onde havia uma UF como parte do processo, os teores de interesse foram menores e em todos os casos a UF apresentou um fluxo permeado menor. Porém, ao realizar uma análise mais criteriosa, vê-se que em ambos os processos de UF, o teor de antocianinas na fração retida, 114,5 e 100,32 g/100g, é maior que no retido da melhor NF, 74,48 g/100g, e conseqüentemente nos valores de capacidade antioxidante. Como mencionado anteriormente, sabe-se que existe uma correlação entre esses dois parâmetros, ou seja, as antocianinas são moléculas que contribuem para a capacidade antioxidante. Essa informação observada leva a pensar na possibilidade de encerrar o processamento na UF, mas vários fatores influem na escolha da melhor combinação e, portanto devem ser considerados, tais como: tempo de processo, volume de retido rico em antocianinas obtido, a concentração de antocianinas, fator de concentração, entre outros.





As Tabelas 5.7 e 5.8, foram construídas para essa análise que será discutida neste item.

Tabela 5.7- Resumo dos dados obtidos em todos os processos do fluxograma 2 para análise global das combinações.

Sequência A				Sequência B				Sequência C			
				MF				MF			
V _A				V _A	9,9	C _A	44	V _A	8,8	C _A	43
V _R				V _R	1,4	C _R	57	V _R	1,3	C _R	57
V _P				V _P	8,5	C _P	40	V _P	7,5	C _P	39
FCV				FCV	7			FCV	7		
Tempo				Tempo	40			Tempo	37		
UF				UF							
V _A	10,2	C _A	44	V _A	7,9	C _A	43				
V _R	1,8	C _R	114	V _R	1,4	C _R	100				
V _P	8,4	C _P	25	V _P	6,5	C _P	24				
FCV	5,7			FCV	5,7						
Tempo	220			Tempo	80						
NF				NF				NF			
V _A	7,5	C _A	19	V _A	10,2	C _A	24	V _A	6,6	C _A	37
V _R	3,1	C _R	41	V _R	1,8	C _R	44	V _R	2,7	C _R	74
V _P	4,4	C _P	1,5	V _P	8,4	C _P	0,8	V _P	3,9	C _P	0,8
FCV	2,4			FCV	2,4			FCV	2,4		
Tempo	30			Tempo	20			Tempo	38		



Onde: C representa a concentração de antocianinas, em mg/100g, nas frações dos processos (A=Alimentação, P= Permeado e R= Retido), V, o volume, em litros, nas suas respectivas frações (A=Alimentação, P= Permeado e R= Retido) e o tempo é dado em minutos.

Optou-se por fixar a concentração de antocianinas em 74 mg/100g, obtida na sequência C, e parar na UF das sequências A e B. Como a concentração fixada foi menor do que a obtida, tanto na sequência A quanto na B, com os dados do processo foi simples determinar o tempo e o volume obtido na concentração fixada. Relacionando o FCV com a concentração obtida, iniciando pela sequência A, da seguinte forma:

UF direto: FCV → 5,7 Concentra 2,6 vezes FCV → ??? Concentra 1,7 vezes
 C_A → 44  C_A → 44 
 C_R → 114  C_R → 74 

Se FCV=5,7 corresponde à concentração em 2,6 vezes, para concentrar 1,7 vezes, o FCV será 3,7. A partir dos dados de processo, disponíveis no Apêndice D, o FCV é 3,7 quando o tempo de processo é aproximadamente 180 minutos, que corresponde ao volume de permeado de 7,3 L, e como o volume de alimentação foi 10,2 L (Tabela 5.7), conseqüentemente, por diferença, o volume de retido será 2,9 L.

Da mesma forma, foram feitas as determinações para a sequência B, descrita a seguir:

UF:	$FCV \rightarrow 5,7$ $C_A \rightarrow 43$ $C_R \rightarrow 100$		Concentra 2,3 vezes	$FCV \rightarrow ???$ $C_A \rightarrow 43$ $C_R \rightarrow 74$		Concentra 1,7 vezes
-----	--	---	------------------------	---	---	------------------------

Observa-se que na UF, quando o FCV é 5,7, as antocianinas concentram em 2,3 vezes, logo para conseguir a concentração fixada (74) seria necessário concentrar 1,7 vezes, que resulta no FCV= 4,2. Novamente, pelos dados do processo disponíveis no Apêndice D, chega-se ao FCV de 4,2 em aproximadamente 68 minutos, com um volume de permeado igual a 6,0 L. Como o volume de alimentação é 7,9 L (Tabela 5.7), por diferença, o volume de retido será de 1,9 L. Somando-se os tempos dos dois processos (MF e UF) realizados nesta sequência, tem-se um tempo total aproximado de 110 minutos.

Construiu-se a Tabela 5.8 com as informações analisadas acima. Ao confrontar os resultados das sequências B e C, observa-se que apesar de ambas utilizarem duas unidades de filtração, o tempo de processamento na sequência B é 1,5 vezes maior e o volume de retido rico em antocianinas é 30% menor. Além disso, a sequência C, apesar de produzir um volume de retido rico em antocianinas semelhante ao produzido pela A e utilizar duas unidades de filtração, apresenta um tempo de processo aproximadamente 60% menor que a sequência A.

Dessa forma, como sugerido inicialmente, a sequência C, que representa a combinação de MF e NF, seria a melhor opção no ponto de vista de concentração de antocianinas, sem considerar o custo de investimento, que provavelmente para esse caso seria maior, pois seriam duas unidades de filtração, sendo uma delas com pressão adequada a processamento de NF, no caso o mínimo de 20 bar.

Tabela 5.8- Valores reais e estimados para análise geral das três combinações (A, B e C).

Combinações	Valores Reais			Valores estimados c/ Concentração Fixada		
	VOLUME*	CONCENTRAÇÃO*	TEMPO*	VOLUME	CONCENTRAÇÃO	TEMPO
A UF	1,8	114	220	2,9	74	180
B MF/UF	1,4	100	120	1,9	74	110
C MF/NF	2,7	74	75	2,7	74	75

*Volume expresso em litros, concentração de antocianinas expressa em mg/100g e tempo em minutos.

5.3 Modelagem Matemática

Em um estudo prévio foram utilizados 6 modelos semi-empíricos desenvolvidos segundo os autores mencionados no item 4.2.5, porém optou-se por reduzir o número de modelos para facilitar a análise dos resultados. A Tabela 5.9 apresenta os coeficientes de correlação (R^2) para todos os processos de MF, UF e NF estudados. Os gráficos que apresentam os dados experimentais e as curvas ajustadas referentes aos modelos testados estão disponíveis no Apêndice E.

Tabela 5.9- Coeficientes de Correlação (R^2) obtidos pelos modelos testados em todos os processos realizados.

MODELOS	VALORES DE R^2 (%)									
	FLUXOGRAMA 1			FLUXOGRAMA 2						
	MF	UF	NF	SEQ. A		SEQ. B			SEQ. C	
UF				NF	MF	UF	NF	MF	NF	
CONSTENLA & LOZANO	92-99	92-99	> 99	99	99	98	99	97	93	99
CHERYAN $J_t=J_{ss}+Ke^{-bt}$	< 90	92-99	> 99	99	99	< 90	98	96	< 90	99
WU	94-99	n.c.*	99	n.c.*	99	99	n.c.*	97	94	99

*n.c. significa não converge

Considerando um bom ajuste para valores de R^2 superior a 92%, observa-se que os processos de MF se ajustaram bem aos modelos de Constenla & Lozano e Wu. Já em relação à UF, nenhum dos processos convergiu para o modelo de Wu. Os processos de NF tiveram um ótimo ajuste, com R^2 igual ou superior a 96%, para os modelos de Constenla & Lozano, Cheryan e Wu.

A Tabela 5.10 apresenta os parâmetros, que estão relacionados ao declínio do fluxo, calculados pelos seus respectivos modelos. Observa-se que, no modelo de Constenla & Lozano, o λ apresenta valores maiores nos processos de MF. Sabe-se que o valor de λ está associado à taxa de declínio de fluxo, e maiores valores de λ devem ser esperados, quanto mais acentuada a queda de fluxo nos primeiros minutos do processo. A maior taxa de declínio encontrada foi na MF do fluxograma 2 de $17,61 h^{-1}$, mostrando a ocorrência de uma queda mais acentuada do fluxo de permeado no início do processo comparada aos outros processos. No modelo do Cheryan, observa-se que os maiores valores foram encontrados para constante k nos processos de NF, 55,39 e 42,98. Essa constante, assim

como a constante b , caracteriza a incrustação, possibilitando a avaliar que esse fenômeno ocorre de maneira mais agressiva nos processos de NF.

Tabela 5.10- Parâmetros relacionados ao declínio do fluxo permeado obtidos pelos modelos aplicados.

PROCESSOS		CONSTENLA & LOZANO	CHERYAN		WU	
			4			
		λ	k	b	k_p	k_f
Fluxograma 1	MF	11,58	-	-	320,64	8,56
	UF	5,37	9,56	2,81	-	-
	NF	0,15	42,98	0,38	15,22	0,14
Fluxograma 2	UF (A)	0,70	6,56	0,70	-	-
	UF (B)	0,65	13,23	4,09	-	-
	MF	17,61	-	-	1713,70	13,29
	NF	0,68	55,39	0,41	37,66	0,35

Verificou-se que o modelo de Wu, para todos os processos que foi possível o ajuste, apresentou valores de k_p maiores que os valores de k_f , mostrando que a camada polarizada é o fenômeno de maior impacto no declínio do fluxo de permeado, sendo de incidência maior no processo de MF.

6 CONCLUSÕES

- A hidrólise enzimática utilizada como pré-tratamento, resultou em maior fluxo de permeado em relação ao suco não tratado;
- Os processos de MF foram eficientes na clarificação do suco de amora-preta e contribuíram para o bom desempenho da NF, com perda de antocianinas inferior a 10%;
- Os processos de MF e NF apresentaram fluxo permeado maior que a UF;
- A NF apresentou índices de retenção de antocianinas mais elevados, superior a 85%, em qualquer uma das combinações: UF/NF, MF/UF/NF e MF/NF;
- Quando analisadas por CLAE, as antocianinas de todas as frações dos diferentes processos apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, com índice de retenção semelhante para as duas antocianinas majoritárias em todos os casos, indicando que não houve um fracionamento das mesmas;
- Dentre as três combinações de PSM observou-se que a combinação da MF/NF foi a que apresentou os melhores resultados em relação ao desempenho de fluxo e retenção de antocianinas;
- Os dados experimentais dos processos de MF tiveram um bom ajuste aos modelos de Constenla & Lozano e Wu, os dados experimentais de UF ajustaram-se bem aos modelos de Constenla & Lozano e Cheryan. Os processos de NF tiveram um bom ajuste aos modelos de Constenla & Lozano, Cheryan e Wu. Em todos os casos, os valores de R^2 foram superiores a 0,92.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- A partir da combinação MF/NF, estudar a influência dos parâmetros de operação (pressão, temperatura e fator de concentração volumétrico) no fluxo permeado e no teor de antocianinas;
- Avaliação sensorial do suco de amora-preta concentrado em antocianinas;
- Formulação de produtos nutracêuticos e funcionais, utilizando o suco rico em antocianinas.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**, 17 ed. Washington D.C.: AOAC, 2000.

ÁLVAREZ, S.; RIERA, F. A.; ÁLVAREZ, R.; COCA, J. Concentration of apple juice by reverse osmosis at laboratory and pilot-plant scales. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 41, p. 6156-6164, 2002.

ALVAREZ, S.; RIERA, F.A.; COCA, J.; CUPERUS, F.P.; BOUWER, S.TH.; BOSWINKEL, G.; GEMERT, R.W.; TODISCO, S.; DRIOLI, E.; OLSSON, J.; TRAGARDH, G.GAETA, S.N.; PANYOR, L. A new integrated membrane process for producing clarified apple juice and apple juice aroma concentrate. **Journal of Food Engineering**, v.46, p.109-125, 2000.

AMARAL, I.O.G.. **Ultrafiltração com membrana mineral de efluente modelo de desengomagem têxtil para recuperação de PVA e água**. 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. **Aditivos em Alimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1984.

ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C. M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 413-419, 2003.

ANTUNES, L.E.; RASEIRA, M.C.B. **Aspectos Técnicos da Cultura da Amora-preta**. ISSN 1806-9193 Junho, 2004.

ANTUNES, L.E.C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, 2002.

ARAUJO, M. C. P.; GOUVÊA, A. C. M. S.; ROSA, J. S.; PACHECO, S.; OIANO-NETO, J.; GODOY, R. L. O. Adaptação de um método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para determinação de antocianinas em suco de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). In: XII Congresso Latino Americano de Cromatografia e Técnicas Afins (2008). **Anais eletrônicos**. Florianópolis, 2008.

BAKER, R. W. **Membrane Technology and Applications**. 2°. ed. California: John

Wiley e Sons, 538p.,2004.

BARROS S. T. D., **Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: Modelagem e Simulação do Fluxo de Permeado e Determinação dos Mecanismos de Fouling**, tese de doutorado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

BARROS S.T.D., ANDRADE C.M.G., MENDES E.S., PERES L., Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration, **Journal of Membrane Science**, v. 215, p. 2133 - 224, 2003.

BENEDETTI, S. **Efeito do tratamento térmico em isoflavonas concentradas por nanofiltração**. 2010. Dissertação (mestrado), Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2010.

BHATTACHARJEE C., DATTA S., Analysis of mass transfer during UF of PEG-6000 in a continuous stirred cell: effect of back transport, **Journal of Membrane Science**, v. 119, p. 39 - 46, 1996.

BOBBIO, G. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Editora Varela, 238p. 1992.

BOTTINO, A.; CAPANNELLI, G.; TURCHINI, A.; DELLA VALLE, P.; TREVISAN, M. Integrated membrane processes for the concentration of tomato juice. **Desalination**, v. 148, p. 73-77, 2002.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4841-4844, 2001.

CAMPOS, D. C. P., SANTOS, A. S., WOLKOFF, D. B., MATTA, V. M., CABRAL, L. M. C., MODESTA, R. C. D. Clarificación de jugo de anacardo (*Anacardium occidentale* L.) utilizando tratamiento enzimático y microfiltración. **Alimentaria**, v. 334, p. 121-124, 2002.

CAMPOS, D. D. P. **Extração, purificação e isolamento de antocianinas de jambolão e avaliação dos seus efeitos biológicos (*Syzygium cuminii*)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2006.

CARNEIRO, L.; SA, I.S.; GOMES, F. S.; MATTA, V. M. & CABRAL, L.M. C. Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration. **Desalination**,

v. 148, p. 93-98, 2002.

CARVALHO, L. M. J.; SILVA, C. A. B.; PIERUCCI, A. P. T. R. Clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L. Merrill) by ultrafiltration and microfiltration: physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation and sensorial evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2185-2189, 1998.

CARVALHO, L.M.J. de.; CASTRO, I. M. de.; SILVA, C.A.B. da. A study of retention of sugars in the process of clarification of pineapple juice (*Aanas comosus*, L. Merrill) by micro and ultrafiltration. **Journal of Food Engineering**, v.87, p.447-454, 2008.

CASSANO, A.; CONIDI, C.; DRIOLI, E. Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. **Desalination**, v.250, p.1101-1104, 2010.

CASSANO, A.; DRIOLI, E.; GALAVERNA, G.; MARCHELLI, R.; DI SILVESTRO, G.; CAGNASSO, P. Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. **Journal of Food Engineering**, v. 57, p. 153-163, 2003.

CEMEROGLU, B. VELIOGLU, S. ISIK, S. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, v.59, n.6, p.1216–1218, 1994.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. Lancaster: Technomic Publ. Co., Illinois, 1998. 243, 517-526p.

CHIM, J.F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus sp.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light**. 2008. 86f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

COHEN, K. O.; ALVES, S. DE M., Açaí. In: **Sistemas de Produção**. Embrapa Amazônia Oriental, v.4, 2006. Disponível em : <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fontes HTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/index.htm>. Acesso em: 11 fev. 2011.

CONSTENLA, D. T.; LOZANO, J. E. Hollow fibre ultrafiltration of apple juice: macroscopic approach. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 30, p. 373-378, 1997.

DAO, L.T.; TAKEOKA, G.R.; EDWARDS, R.H.; et al. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. **Journal Agric. Food Chem.**, v.46, p.3564-3569, 1998.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H. PARAJÓ, J.C. Ultra- and nanofiltration of aqueous extracts from distilled fermented grape pomace. **Journal of Food Engineering**, v.91, p.587-593, 2009.

DZIEZAK, J. D. Membrane separation technology offers processors unlimited potential. **Food Technology**, v. 44, n. 9, p. 108-113, 1990.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FERRARINI R.; VERSARI, A.; GALASSI, S. A preliminary comparison between nanofiltration and reverse osmosis membranes for grape juice treatment. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 113-116, 2001.

FERSI, C.; GZARA, L.; DHAHBI, M. Treatment of textile effluents by membrane technologies. **Desalination**, v.185, p.399-409, 2005.

FERSI, C.; GZARA, L.; DHAHBI. Flux decline study for textile wastewater treatment by membrane processes. **Desalination**. v.244, p.321–332, 2009.

FONTES, S. R.; CAMINOTO, K. B. Microfiltração tangencial aplicada na clarificação do suco de açaí. **In: Anais do VI Congresso Íbero- Americano em Ciências e Tecnologia de Membranas - CITEM, 2007**, Campina Grande – PB, v. 6, p. 1-4, 2007.

GARCIA-ALONSO, M. PASCUAL-TERESA, S. SANTOS-BUELGA, C. RIVAS-GONZALO, J. C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v.84, p.13-18, 2004.

GARZÓN, G. A., WROLSTAD, R. E. Comparison of the stability of pelargonidinbased anthocyanins in strawberry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1288–1299, 2002.

GEA FILTRATION. Disponível em: http://www.geafiltration.com/filtration_library/model_1_spec_sheet.pdf. Acesso em 01 de dezembro de 2010.

GIBERTONI, C.F; NOGUEIRA, A.M.P; VENTURINI FILHO, W.G. Ultra e microfiltração de suco de yacon (*Polymnia sonchifolia*) para obtenção de xarope rico em frutanos. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 2, p.68-81, outubro, 2006

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L. R.. Membrane processing of fruit juices and beverages: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 40, n. 2, p. 91-157, 2000.

GIUSTI, M. M.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Molar Absorptivity and Color Characteristics of Acylated and Non-Acylated Pelargonidin-Based Anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, no. 11, p. 4631-4637, nov. 1999.

GOMES, F.S. **Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação por membranas**. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2009.

GONÇALVES, F.; FERNANDES, C.; PINHO, M. N. White wine clarification by micro/ultrafiltration: effect of removed colloids in tartaric stability. **Separation and Purification Technology**, New York, v. 22-23, n.1, p. 423-429, 2001.

GOUVÊA, A.C.M.S. **Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.

HABERT, C. A. ; NOBREGA, R. BORGES, C.P. **Processos de separação com membranas**. Ed e-paper. 1ª Ed. Rio de Janeiro, 2006.

HAGER, T.; HOWARD, L.R.; PRIOR, R.L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 689-695, 2008.

HAMINUK, C. H.I.; SIERAKOWSKI, M. R.; IZIDORO, D. R.; MACIEL, G. M.; SCHEER, A. P.; MASSON, M. L. Effect of Heat Treatment on Pectic Fractions and Apparent Viscosity of Whole Blackberry (*Rubus spp.*) Pulp. **International Journal of Food Engineering**, v.4,n.4, article 13,2008.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GOMEZ, M.L.P.A.; MOTA, R.V.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. **Compostos antioxidantes da amora-preta (Rubus sp.)**. In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: estratégia para o desenvolvimento. 2004, Recife: Anais (cd-rom) XIX CBCTA, n. 424.

HO, W.S.W.; SIRKAR, K.K. **Membrane Handbook**. USA, vol. VII e VIII, p. 391-594, 1992. *apud* AMARAL (2004).

HODÚR, C.; KERTÉSZ.; BESZÉDES, S.; LÁSZLÓ, Z.; SZABÓ, G. Concentration of marc extracts by membrane techniques. **Desalination**, v.241, p.265-271, 2009.

HOFFMANN, A.; CAMARGO, U. A; MAIA, J. D. Sistema de Produção de Uvas

Rústicas para Processamento em Regiões Tropicais do Brasil. Embrapa Uva e Vinho. **Sistema de Produção**, 9. ISSN 1678-8761. Versão Eletrônica Dez./2005. Acesso em 23 de março de 2011.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural food colorants**. New York-USA: AVI, 1992.

JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M. A.; SPEERS, R.A., Anthocyanins as food colorants. - A Review. **Journal of Food Biochemistry**. v.11, p.201-247, 1987.

JACQUES, A. **Amora-preta**. Pelotas, 2008. 1 fot. (6,06 X 9,08cm), color.

JEGATHEESAN, V.; PHONG, D.D.; SHU, L.; BEN AIM, R. Performance of ceramic micro- and ultrafiltration membranes treating limed and partially clarified sugar cane juice. **Journal of Membrane Science**, v.327, p.69-77, 2009.

JEPSON R.G.; CRAIG J.C. The **American heritage science dictionary**. North America: Houghton Mifflin Company, 2005. p. 704.

KLEIN, B. **Redução de brix e acidez em sucos de frutas através de nanofiltração**. Dissertação (mestrado). Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2009.

KOLTUNIEWICZ A. B., NOWORYTA A., Method of yield evaluation of pressure-driven membrane process, **The Chemical Engineering Journal**, v. 58, p. 175 - 182, 1995.

KONGO, K.; KURIHARA, M.; MIYATA, N.; SUZUKI, T.; TOYODO, M. Mechanistic studies of catechins as antioxidant against radical oxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 362, n. 1, p. 79-86, 1999.

LEE, J.; RENNAKER, C.; WROLSTAD, R. E. Correlation of two anthocyanin quantification method: HPLC and spectrophotometric methods. **Food Chemistry**, v.110, p.782-786, 2008.

LIIKANEN, R.; YLI-KUIVILA, J.; LAUKKANEN, R. Efficiency of various chemical cleanings for nanofiltration membrane fouled by conventionally-treated surface water. **Journal of Membrane Science**, v.195, p.265-276, 2002.

LIMA, V.L.A.G.; GUERRA, N.B. Antocianinas: atividade antioxidante e biodisponibilidade. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v. 37 (Supl.), p. 121-128, 2003.

LUO, J.; DING, L.; CHEN, X.; WAN, Y. Desalination of soy sauce by nanofiltration. **Separation and Purification Technology**, v.66, p.429-437, 2009.

LUO, X -D. BASILE, M. J. KENNELLY, E. J. Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.1379-1382, 2002.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, 370-374, 2007.

MARSHALL, A. D.; DAUFIN, G. Physico-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. In: **Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes**. Brussels: International Dairy Federation, 1995. cap. 1, p.8-35. IDF Special Issue, 9504.

MARSHALL, A.D., MUNRO, G.T. The effect of protein fouling in microfiltration and ultrafiltration on permeate flux, protein retention and selectivity: a literature review. **Desalination**, v.11, p.65-80, 1993.

MARTÍNEZ-VALVERDE, PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. **ALAN**, v. 50, n. 1. Caracas, mar. 2000.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da SBCTA**. Campinas, v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MERIN U., DALFIN G., Cross-flow microfiltration in the dairy industry: state-of-art, **LAIT**, v. 70, p. 281 - 290, 1990.

MORRIS, J.R., SPAYD, S.E., BROOKS, J.G., CAWTHON, D.L. Influence of postharvest holding on raw and processed quality of machine harvested blackberries. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, n.6, p.769-775, 1981.

MOTA, R.V. Caracterização física e química de geléia de amora-preta. **CiênciaTecnologia Alimentos**, v.26, n.3, p.539-543, 2006.

MULDER, Marcel. **Basic Principles of Membrane technology**. 2ª [s. L.]: Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1991.

NACHTIGALL,A.M.; SOUZA, E.L.de; MALGARIM, M.B.; ZAMBIAZI, R.C. Geléias light de amora-preta. **B.Ceppa**, v.22, n.2, p.337-354, 2004.

NELSON, P. E. & TRESSLER D. K. **Fruit and Vegetable Juice Processing Technology**, 3 ed. Westport: AVI, 1980. 597p.

OLLÉ, D.; BARON, A.; LOZANO, Y. F.; SZNAPER, C.; BAUMES, R.; BAYONOVE, C.; BRILLOUET, J. M. Microfiltration and Reverse Osmosis affect

recovery of mango puree flavor compounds. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 6, p. 1116-1119, 1997.

ONGARATTO, R.S. **Micro e Ultrafiltração de suco de pitanga: Estudo dos parâmetros de operação e do mecanismo de *fouling***. 2009. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, v.111, p.235–241, 2007.

PAULSON, D. J.; WILSON, R. L.; SPATZ, D. D. Crossflow membrane technology and its applications. **Food Technology**, v. 38, n. 12, p. 77-87; 111, 1984.

PORTER, M. C. Handbook of Industrial Membrane Technology. New Jersey: **Noyes Publications**, 1990. 604-609 p.

RAUTENBACH, R.; ALBRECHT, R. **Membrane Proceses**. Chichester: John Wiley & Sons, 1989. 459 p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

REYES-CARMONA, J.; YOUSEF, G.G.; MARTÍNEZ-PENICHE, R.A.; LILA, M.A. Antioxidant Capacity of Fruit Extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) Produced in Different Climatic Regions. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 7, p. 497-503, 2005.

SANTANA, I. **Avaliação do efeito da temperatura do processo de concentração por osmose inversa na qualidade do suco de uva (*Vitis labrusca* L.)**. Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, IQ/UFRJ. Rio de Janeiro-RJ, 2009.

SANTIAGO, M.C.P.A. **Avaliação via cromatografia líquida de alta eficiência do efeito da microfiltração do suco de amora-preta (*Rubus* spp.) sobre a composição de suas antocianinas majoritárias**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro - RJ, 2010.

SANTOS, A. M.; RASEIRA, M. B. ; MADAIL, J. M. **Coleção Plantar - A Cultura da**

Amora-Preta, Brasília: EMBRAPA, v. 1, n.33, p 28-9, 1996.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal Nutricional**. 130: 2073S-2085S. 2000.

SCHÄFER, A.I.; FANE, A.G; WAITE, T.D.. **Nanofiltration – Principles and Applications**. Elsevier, Great Britain, 2006.

SELLAPPAN, S. AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, p. 2432-2438, 2002.

SILVA, F. C. **Aplicação de membranas poliméricas para obtenção de licopeno concentrado a partir de polpa de mamão (Carica papaya L.)**. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual de Campinas/FEA. Campinas-SP, 2010.

SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1986.

SONG, L., Flux decline in crossflow microfiltration and ultrafiltration: mechanisms and modeling of membrane fouling. **Journal of Membrane Science**, [s.i.], v.139, p.183-200, 1998.

SUÁREZ, E.; LOBO, A.; ALVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by means of nanofiltration. **Desalination**, v.241, p.272-280, 2009.

TERCI, D.B.L. **Aspectos analíticos e didáticos de antocianinas extraídas de frutas**,2004. Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, 2004. v. 148, p. 93-98, 2002.

VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G.; DORNIER, M.; DECLoux, M.; REYNES, M. Cross flow microfiltration of passion fruit juice partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, n.42, p.215- 224, 1999.

VAN DER BRUGGEN, B.; MÄNTTÄRI, M.; NYSTRÖM, M. Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: A review. **Separation and Purification Technology**, v.63, p.251–263, 2008.

VINSON, J. JANG, J. YANG, J. DABBAGH, Y. LIANG, X. SERRY, M. PROCH, J. CAI, S. Vitamins and especially flavonoids in common beverages are powerful in vitro antioxidants which enrich low density lipoproteins and increase their oxidative resistance

after ex vivo spiking in human plasma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.2502-2504, 1999.

WANG, S.Y., LIN, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 140-146, 2000.

WANG, S.Y.; ZHENG, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago, v.49, p. 4977-4982, 2001.

WANG, W-D. & XU, S-Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, v.82, p.271-275, 2007.

WARCZOK, J.; FERRANDO, M.; LÓPEZ, F.; GÜELL, C. Concentration of apple and pear juices by nanofiltration at low pressures. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 63-70, 2004.

WATANABE, A.P.; USHIKUBO, F.Y.; VIOTTO, L.A. Evaluation of permeate flux in microfiltration of Tamarind (*Tamarindus indica* L.) juice using polypropylene membrane. **Desalination**, v.200, p.337-338, 2006.

WOLKOFF, D. B. **Estudo da estabilidade de repositores hidroeletrólitos formulados à base de sucos clarificados de acerola e caju**. 2004. 183f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2004.

WROLSTAD, R. E. & GIUSTI, M. M. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 2001.

WROLSTAD, R. E. DURST, R.W. LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Food Science & Technology**, 16, 423-428, 2005.

WU, D., HOWELL, J.A., TURNER, N.M., A new method for modelling the time-dependence of permeation flux in ultrafiltration. **Food and Bioprocess Processing**. 69, 77-82 1991.

YOUN, K.S.; HONG, J.H.; BAE, D.H.; KIM, S.J.; KIM, S.D. Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment.

Journal of Membrane Science, v. 228, p.179-186, 2004.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic Acid in some Small Berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.2118-2124, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Curvas de fluxos de permeado da MF

Todos os experimentos de microfiltração foram realizados na mesma temperatura, vazão de recirculação, área de permeação, FCV e pressão aplicada à membrana, 35°C, 500 L/h, 0,36 m², 7 e 5 bar respectivamente. Nas Tabelas A.1 a A.3 e nas Figuras A.1 a A.3 são apresentados os dados obtidos para o fluxo permeado de cada experimento da MF de suco de amora preta, previamente centrifugado, e tratado enzimaticamente. E na Tabela A.4 e Figura A.4 são apresentados os dados obtidos do fluxo permeado da MF, cuja alimentação não sofreu hidrólise enzimática.

Tabela A.1- Dados experimentais para MF₁

MF₁			
V_{alimentação} (mL)	11070		
V_{permeado} (mL)	9490		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	130	43,33	1,01
1	220	36,67	1,02
1,5	300	33,33	1,03
2	380	31,67	1,04
2,5	460	30,67	1,04
3	540	30,00	1,05
3,5	620	29,52	1,06
4	690	28,75	1,07
4,5	760	28,15	1,07
5	840	28,00	1,08
6	980	27,22	1,10
7	1100	26,19	1,11
8	1245	25,94	1,13
9	1375	25,46	1,14
10	1500	25,00	1,16
15	2120	23,56	1,24
20	2710	22,58	1,32
25	3290	21,93	1,42
30	3870	21,50	1,54
35	4430	21,10	1,67
40	4990	20,79	1,82
45	5520	20,44	1,99
50	6050	20,17	2,21

60	7070	19,64	2,77
70	8025	19,11	3,64
80	8900	18,54	5,10
88,3	9490	17,91	7,01

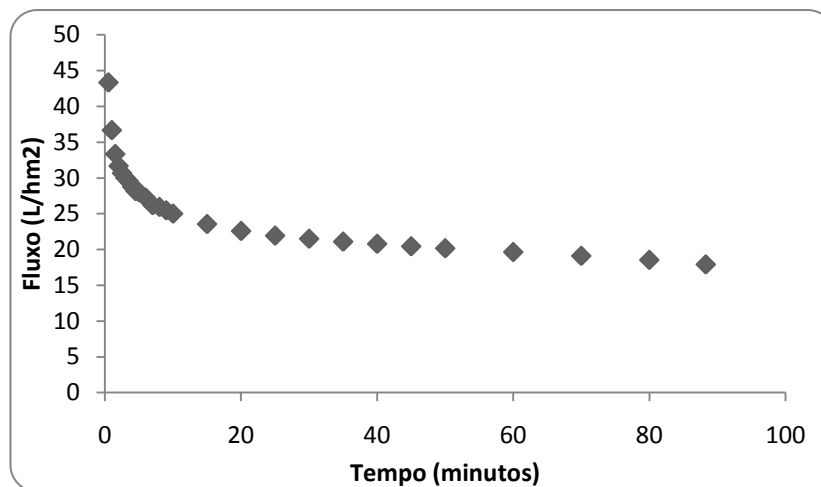


Figura A.1- Curva de fluxo permeado acumulado da MF₁ com o tempo

Tabela A.2- Dados experimentais para MF₂

MF 2				
V _{alimentação} (mL)	9340			
V _{permeado} (mL)	8010			
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV	
0,5	140	46,67	1,02	
1	260	43,33	1,03	
1,5	365	40,56	1,04	
2	455	37,92	1,05	
2,5	545	36,33	1,06	
3	630	35,00	1,07	
3,5	710	33,81	1,08	
4	790	32,92	1,09	
4,5	870	32,22	1,10	
5	940	31,33	1,11	
6	1080	30,00	1,13	
7	1230	29,29	1,15	
8	1320	27,50	1,16	
9	1500	27,78	1,19	
10	1630	27,17	1,21	
15	2285	25,39	1,32	
20	2900	24,17	1,45	

25	3500	23,33	1,60
30	4100	22,78	1,78
35	4680	22,29	2,00
40	5265	21,94	2,29
45	5830	21,59	2,66
50	6385	21,28	3,16
60	7410	20,58	4,84
66,4	8010	20,11	7,02

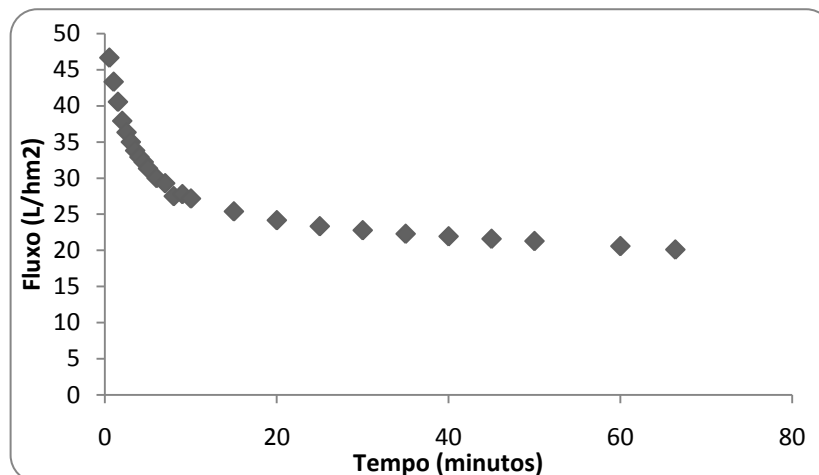


Figura A.2- Curva de fluxo permeado acumulado da MF₂ com o tempo

Tabela A.3- Dados experimentais para MF₃

MF 3			
V _{alimentação} (mL)	7430		
V _{permeado final} (mL)	6370		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	130	43,33	1,02
1	230	38,33	1,03
1,5	330	36,67	1,05
2	400	33,33	1,06
2,5	490	32,67	1,07
3	580	32,22	1,08
3,5	655	31,19	1,10
4	730	30,42	1,11
4,5	800	29,63	1,12
5	880	29,33	1,13
6	1010	28,06	1,16
7	1150	27,38	1,18

8	1290	26,88	1,21
9	1415	26,20	1,24
10	1550	25,83	1,26
15	2190	24,33	1,42
20	2730	22,75	1,58
25	3330	22,20	1,81
30	3900	21,67	2,10
35	4470	21,29	2,51
40	5020	20,92	3,08
45	5565	20,61	3,98
50	6090	20,30	5,54
53	6370	20,03	7,01

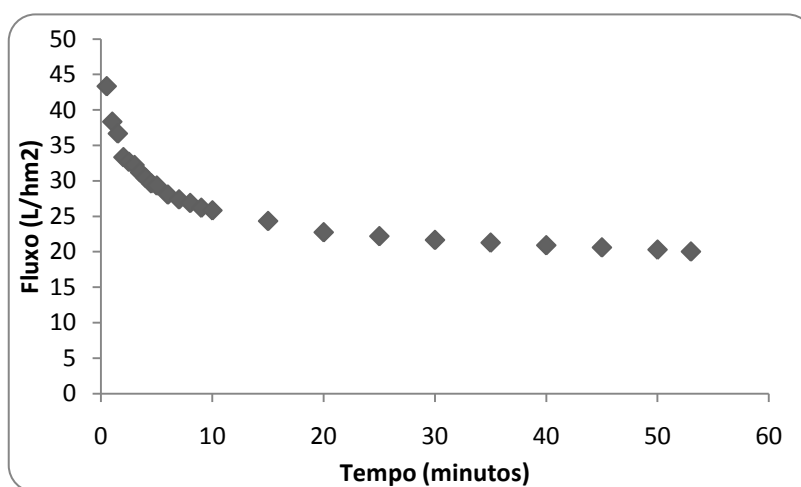


Figura A.3- Curva de fluxo permeado acumulado da MF₃ com o tempo

Tabela A.4- Dados experimentais para MF sem tratamento enzimático (T.E.)

MF sem TE			
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
V _{alimentação} (mL)		7500	
V _{permeado} (mL)		6430	
0,5	80	26,67	1,01
1	155	25,83	1,02
1,5	230	25,56	1,03
2	300	25,00	1,04
2,5	365	24,33	1,05
3	435	24,17	1,06
3,5	500	23,81	1,07
4	570	23,75	1,08

4,5	630	23,33	1,09
5	695	23,17	1,10
6	830	23,06	1,12
7	940	22,38	1,14
8	1065	22,19	1,17
9	1190	22,04	1,19
10	1310	21,83	1,21
15	1770	19,67	1,31
20	2270	18,92	1,43
25	2700	18,00	1,56
30	3190	17,72	1,74
35	3680	17,52	1,96
40	4180	17,42	2,26
45	4680	17,33	2,66
50	5150	17,17	3,19
60	6100	16,94	5,36
63	6430	17,01	7,01

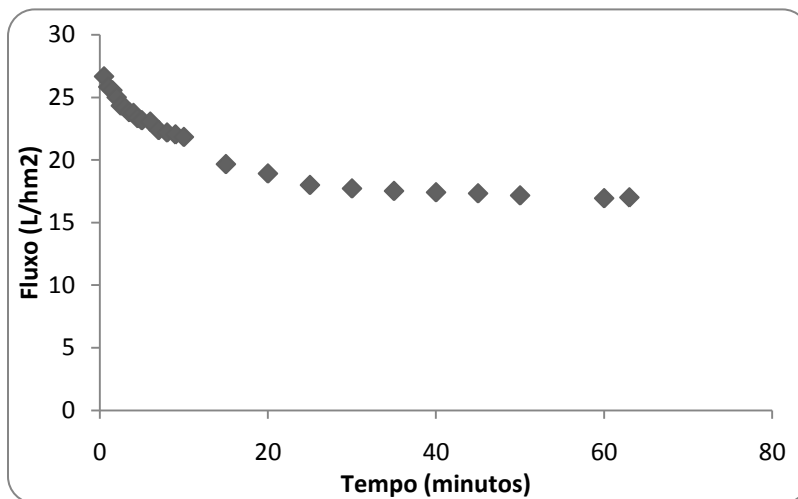


Figura A.4- Curva de fluxo permeado acumulado da MF s/ T.E. com o tempo

APÊNDICE B - Curvas de fluxos de permeado da UF

Todos os experimentos de ultrafiltração foram realizados na mesma temperatura, vazão de recirculação, área de permeação, FCV e pressão aplicada à membrana, 35°C, 500 L/h, 0,36 m², 5,7 e 10 bar respectivamente. Nas Tabelas B.1 a B.3 e nas Figuras B.1 a B.3 são apresentados os dados obtidos para o fluxo permeado de cada experimento da UF de suco de amora preta, previamente microfiltrado.

Tabela B.1- Dados experimentais para UF₁

UF1			
V _{alimentação} (mL)	11400		
V _{permeado} (mL)	9420		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
1,5	220	24,44	1,02
2	280	23,33	1,03
2,5	308	20,53	1,03
3	363	20,17	1,03
4	470	19,58	1,04
5	565	18,83	1,05
6	675	18,75	1,06
7	765	18,21	1,07
8	855	17,81	1,08
9	950	17,59	1,09
10	1040	17,33	1,10
11	1130	17,12	1,11
12	1223	16,99	1,12
13	1310	16,79	1,13
14	1395	16,61	1,14
15	1485	16,50	1,15
20	1925	16,04	1,20
25	2355	15,70	1,26
30	2785	15,47	1,32
35	3200	15,24	1,39
40	3600	15,00	1,46
45	4010	14,85	1,54
50	4360	14,53	1,62
60	5100	14,17	1,81
70	5850	13,93	2,05
80	6440	13,42	2,30
90	7095	13,14	2,65
100	7670	12,78	3,06
110	8240	12,48	3,61

120	8735	12,13	4,28
130	9270	11,88	5,35
135	9420	11,63	5,76

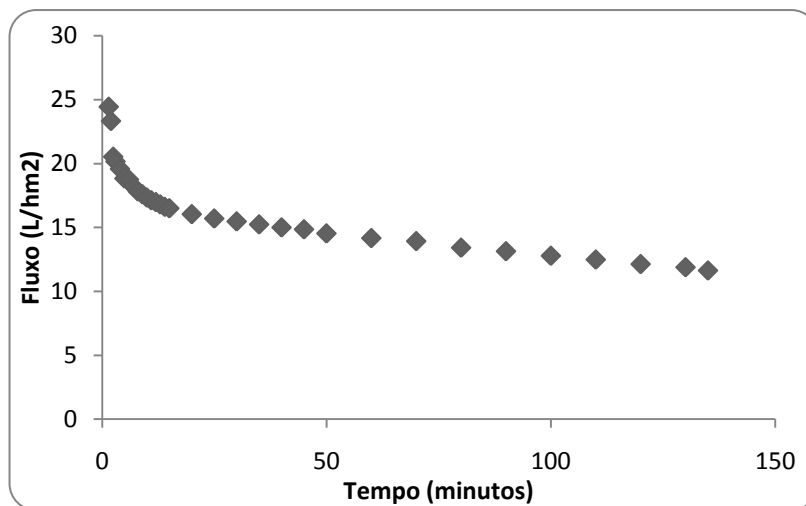


Figura B.1- Curva de fluxo permeado acumulado da UF₁ com o tempo

Tabela B.2- Dados experimentais para UF₂

UF ₂			
V _{alimentação} (mL)	11200		
V _{permeado} (mL)	9250		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	78	26,00	1,01
1	151	25,17	1,01
1,5	218	24,22	1,02
2	290	24,17	1,03
2,5	360	24,00	1,03
3	420	23,33	1,04
3,5	485	23,10	1,05
4	545	22,71	1,05
4,5	605	22,41	1,06
5	665	22,17	1,06
6	775	21,53	1,07
7	885	21,07	1,09
8	990	20,63	1,10
9	1090	20,19	1,11
10	1185	19,75	1,12

11	1260	19,09	1,13
12	1360	18,89	1,14
13	1450	18,59	1,15
14	1540	18,33	1,16
15	1645	18,28	1,17
20	2095	17,46	1,23
25	2550	17,00	1,29
30	2980	16,56	1,36
35	3385	16,12	1,43
40	3770	15,71	1,51
45	4140	15,33	1,59
50	4500	15,00	1,67
60	5160	14,33	1,85
70	5795	13,80	2,07
80	6420	13,38	2,34
90	6950	12,87	2,64
100	7550	12,58	3,07
110	8070	12,23	3,58
120	8605	11,95	4,32
130	9160	11,74	5,49
131,4	9250	11,73	5,74

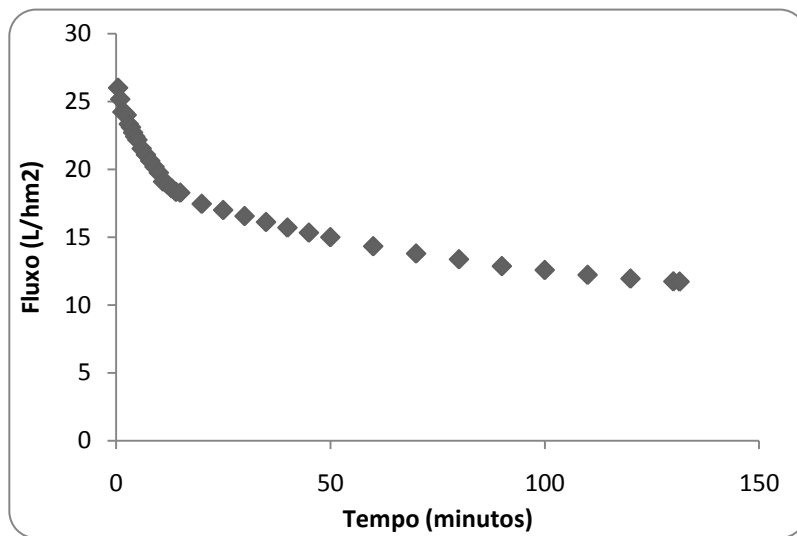


Figura B.2- Curva de fluxo permeado acumulado da UF₂ com o tempo

Tabela B.3- Dados experimentais para UF₃

UF ₃			
V _{alimentação} (mL)	11150		
V _{permeado} (mL)	9210		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	70	23,33	1,01
1	135	22,50	1,01
1,5	185	20,56	1,02
2	245	20,42	1,02
2,5	300	20,00	1,03
3	360	20,00	1,03
3,5	415	19,76	1,04
4	470	19,58	1,04
4,5	520	19,26	1,05
5	570	19,00	1,05
6	670	18,61	1,06
7	770	18,33	1,07
8	865	18,02	1,08
9	960	17,78	1,09
10	1046	17,43	1,10
15	1490	16,56	1,15
20	1935	16,13	1,21
25	2370	15,80	1,27
30	2755	15,31	1,33
35	3084	14,69	1,38
40	3435	14,31	1,45
45	3780	14,00	1,51
50	4100	13,67	1,58
55	4420	13,39	1,66
60	4865	13,51	1,77
70	5450	12,98	1,96
80	6255	13,03	2,28
90	6750	12,50	2,53
100	7360	12,27	2,94
110	7935	12,02	3,47
120	8400	11,67	4,05
130	8900	11,41	4,96
138,2	9210	11,10	5,75

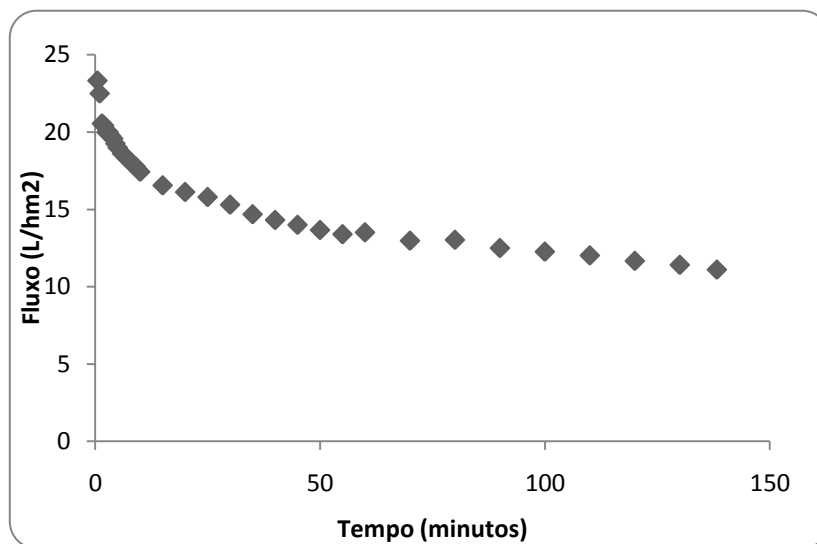


Figura B.3- Curva de fluxo permeado acumulado da UF_3 com o tempo

APÊNDICE C - Curvas de fluxos de permeado da NF

Todos os experimentos de ultrafiltração foram realizados na mesma temperatura, vazão de recirculação, área de permeação, FCV e pressão aplicada à membrana, 35°C, 500 L/h, 0,216 m², 2,4 e 20 bar respectivamente.

Nas Tabelas C.1 a C.3 e nas Figuras C.1 a C.3 são apresentados os dados obtidos para o fluxo permeado de cada experimento da NF de suco de amora preta, previamente ultrafiltrado.

Tabela C.1- Dados experimentais para NF₁

NF ₁			
V _{alimentação} (mL)	10260		
V _{permeado} (mL)	6000		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	70	38,89	1,01
1	136	37,78	1,01
1,5	200	37,04	1,02
2	265	36,81	1,03
2,5	330	36,67	1,03
3	395	36,57	1,04
3,5	460	36,51	1,05
4	520	36,11	1,05
4,5	584	36,05	1,06
5	645	35,83	1,07
6	772	35,74	1,08
7	900	35,71	1,10
8	1020	35,42	1,11
9	1140	35,19	1,13
10	1270	35,28	1,14
15	1870	34,63	1,22
20	2405	33,40	1,31
25	2910	32,33	1,40
30	3325	30,79	1,48
35	3710	29,44	1,57
40	4035	28,02	1,65
45	4330	26,73	1,73
50	4600	25,56	1,81

60	5015	23,22	1,96
70	5380	21,35	2,10
80	5600	19,44	2,20
90	5800	17,90	2,30
100	5970	16,58	2,39
102,1	6000	16,32	2,41

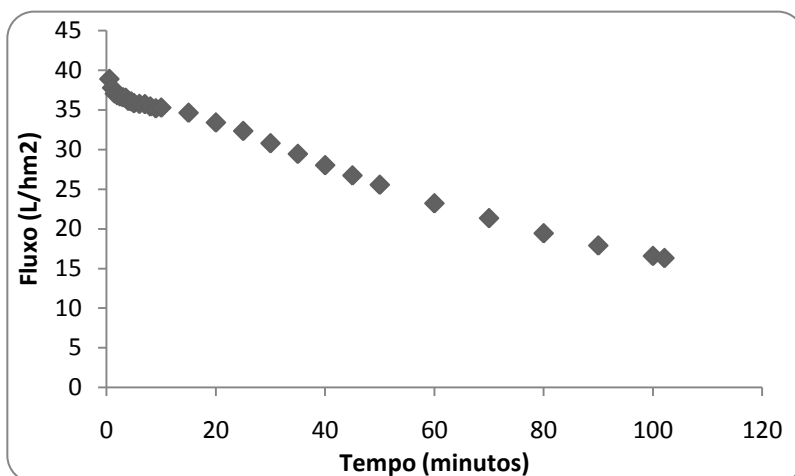


Figura C.1- Curva de fluxo permeado acumulado da NF₁ com o tempo

Tabela C.2- Dados experimentais para NF₂

NF ₂			
V _{alimentação} (mL)	10760		
V _{permeado} (mL)	6300		
Tempo (minutos)	VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO (mL)	FLUXO (L/hm ²)	FCV
0,5	65	36,11	1,01
1	128	35,56	1,01
1,5	190	35,19	1,02
2	250	34,72	1,02
2,5	310	34,44	1,03
3	370	34,26	1,04
3,5	425	33,73	1,04
4	485	33,68	1,05
4,5	545	33,64	1,05
5	600	33,33	1,06
6	715	33,10	1,07
7	835	33,13	1,08
8	950	32,99	1,10
9	1065	32,87	1,11
10	1180	32,78	1,12
15	1725	31,94	1,19

20	2225	30,90	1,26
25	2710	30,11	1,34
30	3075	28,47	1,40
35	3490	27,70	1,48
40	3850	26,74	1,56
45	4170	25,74	1,63
50	4445	24,69	1,70
60	4915	22,75	1,84
70	5200	20,63	1,94
80	5420	18,82	2,01
90	5660	17,47	2,11
100	5855	16,26	2,19
110	5975	15,09	2,25
120	6105	14,13	2,31
130	6190	13,23	2,35
140	6280	12,46	2,40
142,2	6300	12,31	2,41

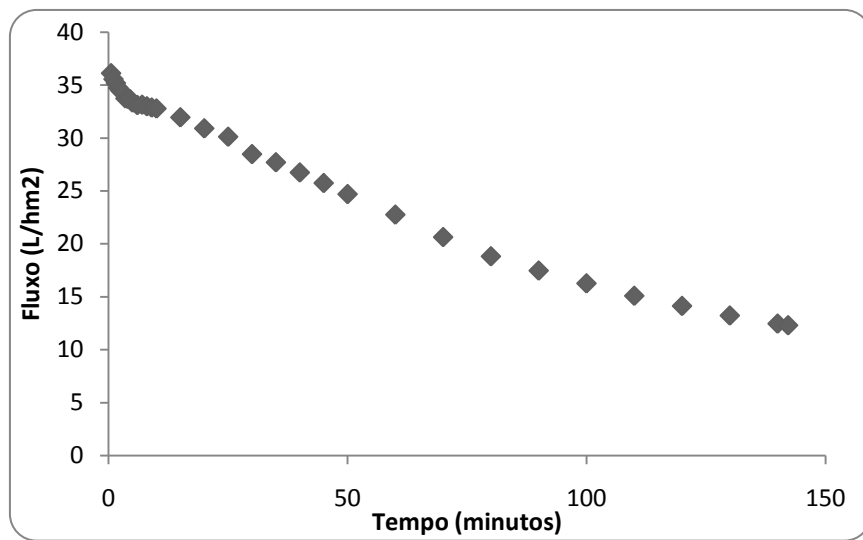


Figura C.2- Curva de fluxo permeado acumulado da NF_2 com o tempo

Tabela C.3- Dados experimentais para NF₃

NF 3			
V_{alimentação} (mL)	10770		
V_{permeado} (mL)	6300		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	67	37,22	1,01
1	133	36,94	1,01
1,5	197	36,48	1,02
2	260	36,11	1,02
2,5	320	35,56	1,03
3	380	35,19	1,04
3,5	440	34,92	1,04
4	500	34,72	1,05
4,5	560	34,57	1,05
5	620	34,44	1,06
6	740	34,26	1,07
7	860	34,13	1,09
8	975	33,85	1,10
9	1095	33,80	1,11
10	1205	33,47	1,13
15	1765	32,69	1,20
20	2300	31,94	1,27
25	2790	31,00	1,35
30	3240	30,00	1,43
35	3620	28,73	1,51
40	3970	27,57	1,58
45	4235	26,14	1,65
50	4530	25,17	1,73
60	5000	23,15	1,87
70	5330	21,15	1,98
80	5615	19,50	2,09
90	5815	17,95	2,17
100	5975	16,60	2,25
110	6125	15,47	2,32
120	6250	14,47	2,38
123,4	6300	14,18	2,41

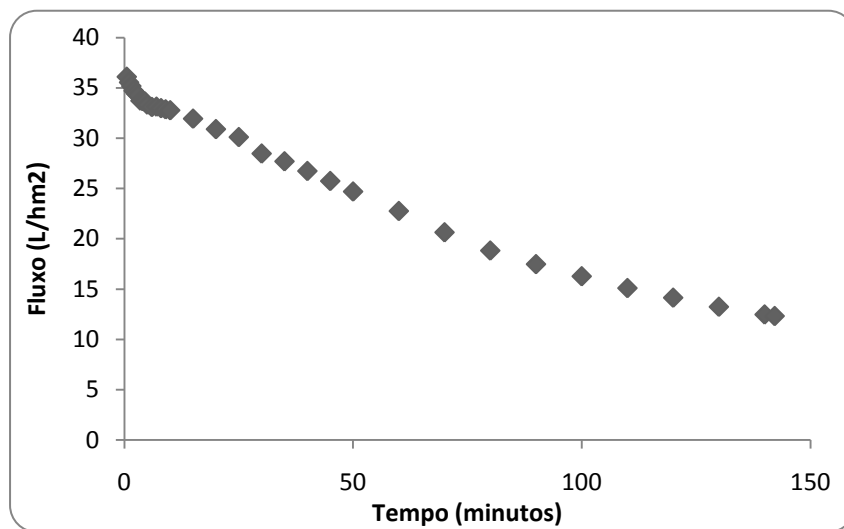


Figura C.3- Curva de fluxo permeado acumulado da NF_3 com o tempo

APÊNDICE D - Curvas de fluxos de permeado das Combinações A, B e C

Nas Tabelas D.1 a D.7 e nas Figuras D.1 a D.7 são apresentados os dados obtidos para o fluxo permeado de cada experimento das combinações A, B e C.

Tabela D.1- Dados experimentais para UF_A

UF _A			
V _{alimentação} (mL)	10150		
V _{permeado} (mL)	8380		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	40	13,33	1,00
1	77	12,83	1,01
1,5	115	12,78	1,01
2	150	12,50	1,02
2,5	187	12,47	1,02
3	224	12,44	1,02
3,5	260	12,38	1,03
4	294	12,25	1,03
4,5	325	12,04	1,03
5	360	12,00	1,04
6	430	11,94	1,04
7	500	11,90	1,05
8	570	11,88	1,06
9	630	11,67	1,07
10	690	11,50	1,07
15	995	11,06	1,11
20	1295	10,79	1,15
25	1590	10,60	1,19
30	1900	10,56	1,23
35	2160	10,29	1,27
40	2420	10,08	1,31
45	2680	9,93	1,36
50	2940	9,80	1,41
60	3350	9,31	1,49
70	3750	8,93	1,59
80	4130	8,60	1,69
90	4555	8,44	1,81
100	4890	8,15	1,93
110	5245	7,95	2,07
120	5570	7,74	2,22
130	5900	7,56	2,39
140	6240	7,43	2,60

150	6550	7,28	2,82
160	6790	7,07	3,02
170	7085	6,95	3,31
180	7345	6,80	3,62
190	7600	6,67	3,98
200	7855	6,55	4,42
210	8100	6,43	4,95
220	8340	6,32	5,61
221,4	8380	6,31	5,73

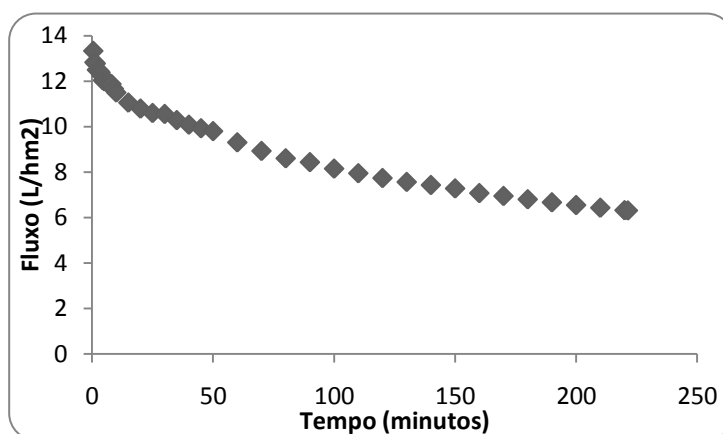


Figura D.1- Curva de fluxo permeado acumulado da UF_A com o tempo

Tabela D.2- Dados experimentais para NF_A

		NF _A		
		V _{alimentação} (mL)	7550	
		V _{permeado} (mL)	4440	
Tempo (minutos)	VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV	
0,5	120	40,00	1,02	
1	235	39,17	1,03	
1,5	350	38,89	1,05	
2	465	38,75	1,07	
2,5	575	38,33	1,08	
3	687	38,17	1,10	
3,5	800	38,10	1,12	
4	910	37,92	1,14	
4,5	1020	37,78	1,16	
5	1130	37,67	1,18	
6	1340	37,22	1,22	
7	1550	36,90	1,26	
8	1740	36,25	1,30	

9	1925	35,65	1,34
10	2100	35,00	1,39
15	2890	32,11	1,62
20	3515	29,29	1,87
25	4010	26,73	2,13
30	4395	24,42	2,39
30,4	4440	24,34	2,43

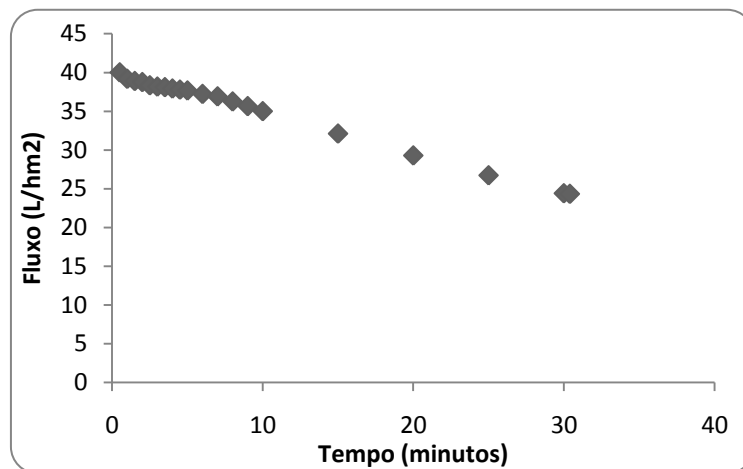


Figura D.2- Curva de fluxo permeado acumulado da NF_A com o tempo

Tabela D.3- Dados experimentais para MF_B

MF_B			
V _{alimentação} (mL)	9900		
V _{permeado} (mL)	8490		
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	340	113,33	1,04
1	640	106,67	1,07
1,5	860	95,56	1,10
2	1050	87,50	1,12
2,5	1190	79,33	1,14
3	1340	74,44	1,16
3,5	1580	75,24	1,19
4	1620	67,50	1,20
4,5	1745	64,63	1,21
5	1870	62,33	1,23
6	2105	58,47	1,27
7	2330	55,48	1,31

8	2550	53,13	1,35
9	2770	51,30	1,39
10	2980	49,67	1,43
15	3950	43,89	1,66
20	4890	40,75	1,98
25	5690	37,93	2,35
30	6550	36,39	2,96
35	7410	35,29	3,98
40	8210	34,21	5,86
41,5	8490	34,10	7,02

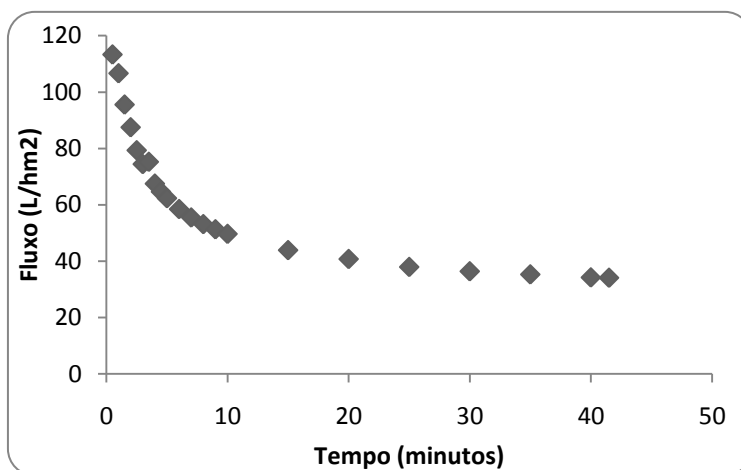


Figura D.3- Curva de fluxo permeado acumulado da MF_B com o tempo

Tabela D.4- Dados experimentais para UF_B

UF _B			
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
	V _{alimentação} (mL)	7880	
	V _{permeado} (mL)	6510	
0,5	90	30,00	1,01
1	170	28,33	1,02
1,5	240	26,67	1,03
2	320	26,67	1,04
2,5	390	26,00	1,05
3	460	25,56	1,06
3,5	530	25,24	1,07
4	590	24,58	1,08
4,5	660	24,44	1,09

5	720	24,00	1,10
6	845	23,47	1,12
7	960	22,86	1,14
8	1085	22,60	1,16
9	1210	22,41	1,18
10	1290	21,50	1,20
15	1785	19,83	1,29
20	2275	18,96	1,41
25	2720	18,13	1,53
30	3180	17,67	1,68
35	3610	17,19	1,85
40	4040	16,83	2,05
45	4400	16,30	2,26
50	4715	15,72	2,49
60	5470	15,19	3,27
70	6080	14,48	4,38
80	6510	13,56	5,75

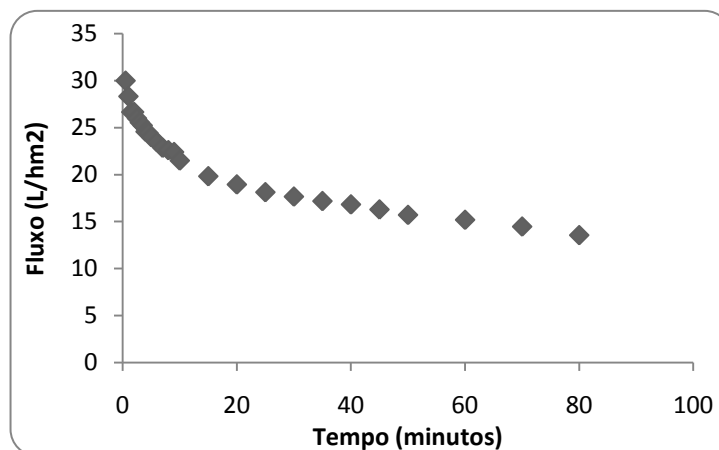


Figura D.4- Curva de fluxo permeado acumulado da UF_B com o tempo

Tabela D.5- Dados experimentais para NF_B

NF _B			
Tempo (minutos)	Volume de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
	V _{alimentação} (mL)	5320	
	V _{permeado} (mL)	3100	
0,5	125	46,30	1,02
1	235	43,52	1,05
1,5	345	42,59	1,07

2	460	42,59	1,09
2,5	560	41,48	1,12
3	670	41,36	1,14
3,5	780	41,27	1,17
4	890	41,20	1,20
4,5	985	40,53	1,23
5	1080	40,00	1,25
6	1280	39,51	1,32
7	1445	38,23	1,37
8	1615	37,38	1,44
9	1785	36,73	1,50
10	1940	35,93	1,57
15	2620	32,35	1,97
19,5	3110	29,49	2,41

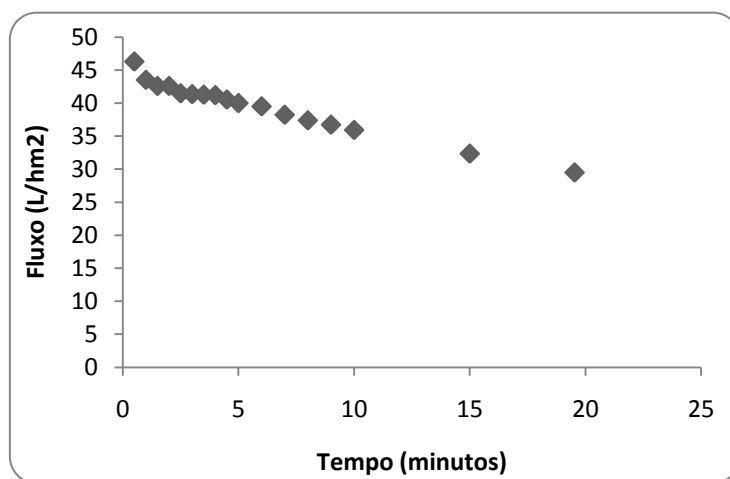


Figura D.5- Curva de fluxo permeado acumulado da NF_B com o tempo

Tabela D.6- Dados experimentais para MF_C

MF _C			
V _{alimentação} (mL)	8770		
V _{permeado} (mL)	7520		
Tempo (minutos)	VOLUME DE PERMEADO ACUMULADO (mL)	FLUXO (L/hm ²)	FCV
0,5	340	113,33	1,04
1	490	81,67	1,06
1,5	700	77,78	1,09
2	850	70,83	1,11
2,5	1000	66,67	1,13

3	1120	62,22	1,15
3,5	1250	59,52	1,17
4	1380	57,50	1,19
4,5	1490	55,19	1,20
5	1610	53,67	1,22
6	1850	51,39	1,27
7	2110	50,24	1,32
8	2380	49,58	1,37
9	2490	46,11	1,40
10	2690	44,83	1,44
15	3660	40,67	1,72
20	4590	38,25	2,10
25	5420	36,13	2,62
30	6300	35,00	3,55
35	7130	33,95	5,35
37	7520	33,87	7,02

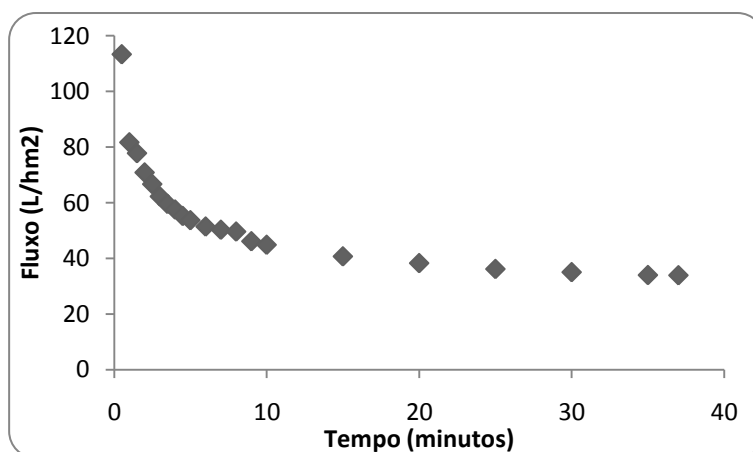


Figura D.6- Curva de fluxo permeado acumulado da MF_C com o tempo

Tabela D.7- Dados experimentais para NF_C

NF _C			
Tempo (minutos)	Volumen de Permeado Acumulado (mL)	Fluxo (L/hm ²)	FCV
0,5	100	41,67	1,02
1	195	40,63	1,03
1,5	285	39,58	1,05
2	375	39,06	1,06
2,5	455	37,92	1,07
3	545	37,85	1,09

3,5	630	37,50	1,11
4	720	37,50	1,12
4,5	810	37,50	1,14
5	900	37,50	1,16
6	1050	36,46	1,19
7	1230	36,61	1,23
8	1390	36,20	1,27
9	1520	35,19	1,30
10	1660	34,58	1,34
15	2310	32,08	1,54
20	2810	29,27	1,75
25	3250	27,08	1,98
30	3480	24,17	2,13
35	3730	22,20	2,31
38	3850	21,11	2,42

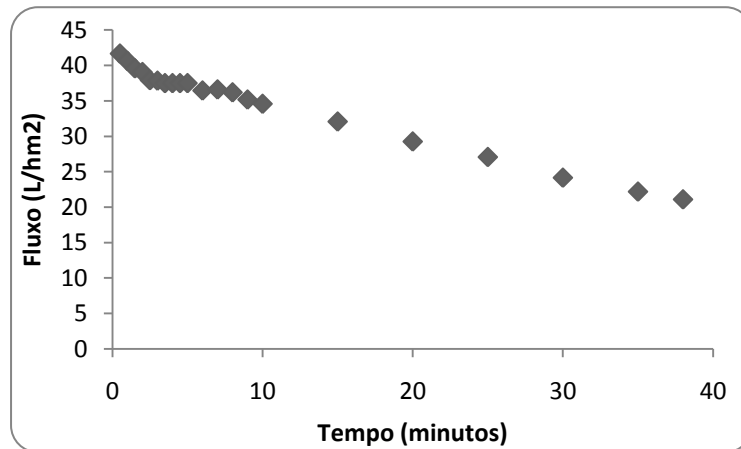


Figura D.7- Curva de fluxo permeado acumulado da NF_C com o tempo

APÊNDICE E - Ajuste aos modelos matemáticos

Tabela E.1- Coeficientes de Correlação (R^2) obtidos pelos modelos testados em todos os processos realizados.

MODELOS	VALORES DE R^2 (%)									
	FLUXOGRAMA 1			FLUXOGRAMA 2						
	MF	UF	NF	PARTE A		PARTE B			PARTE C	
			UF	NF	MF	UF	NF	MF	NF	
CONSTENLA & LOZANO	92-99	92-99	> 99	99	99	98	99	97	93	99
CHERYAN	1- $J_t=J_0t^{-b}$	94-99	94-98	< 90	< 90	97	96	< 90	98	< 90
	2- $J_t=J_0e^{-bt}$	< 90	< 90	> 99	95	99	< 90	< 90	97	< 90
	3- $J_t=J_0V^{-b}$	93-99	92-97	< 90	< 90	95	95	< 90	97	< 90
	4- $J_t=J_{ss}+Ke^{-bt}$	< 90	92-99	> 99	99	99	< 90	98	96	< 90
WU	94-99	n.c.*	99	n.c.*	99	99	n.c.*	97	94	99

*n.c. significa não converge

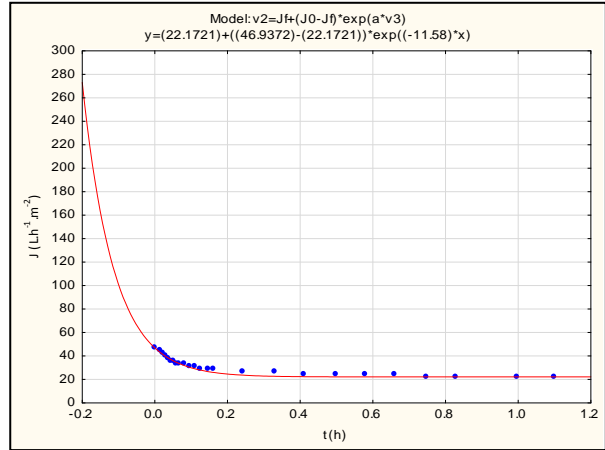
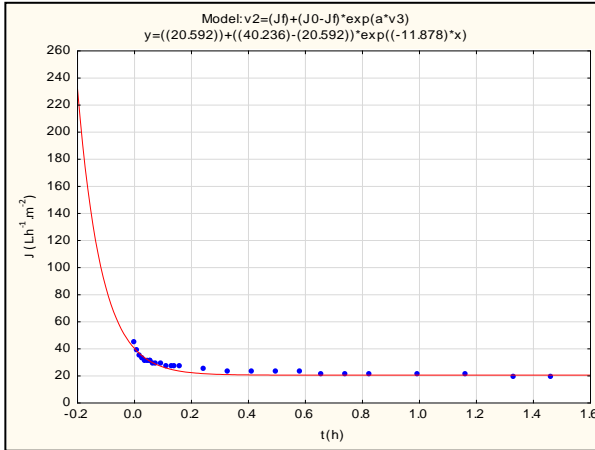
Tabela E.2 - Parâmetros relacionados ao declínio do fluxo permeado obtidos pelos modelos aplicados.

PROCESSOS	CONSTENLA & LOZANO	CHERYAN					WU	
		1	2	3	4			
	λ	b	b	b	k	b	kp	kf
MF	11,58	0,16	-	0,20	-	-	320,64	8,56
UF	5,37	0,14	-	0,16	9,56	2,81	-	-
NF	0,15	-	0,46	0,15	42,98	0,38	15,22	0,14
UF (A)	0,70	-	0,21	-	6,56	0,70	-	-
UF (B)	0,65	0,15	-	4,09	13,23	4,09	-	-
MF	17,61	0,29	-	0,40	-	-	1713,70	13,29
NF	0,68	-	1,01	-	55,39	0,41	37,66	0,35

E.1 FLUXOGRAMA 1

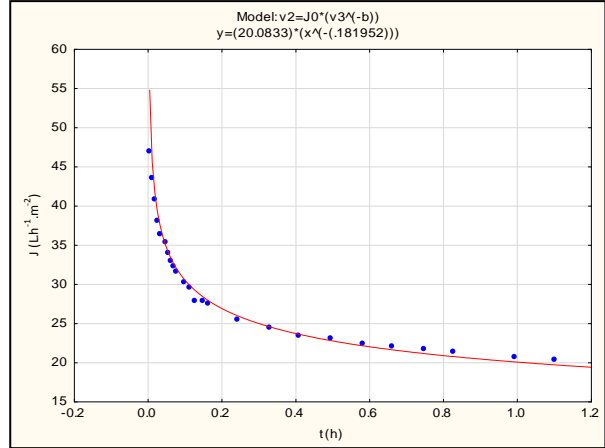
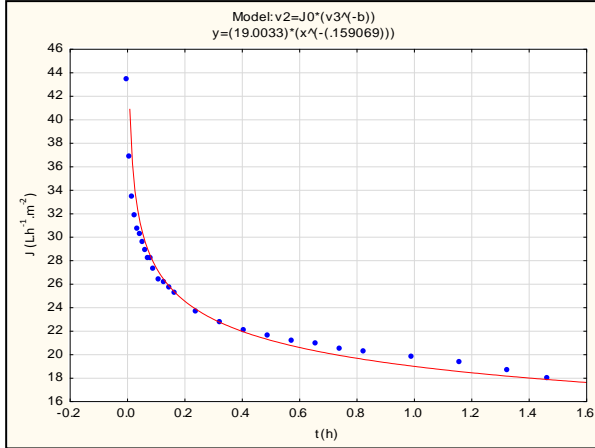
- MF

❖ Constenla e Lozano (1997) – R^2 variando de 92% a 99%



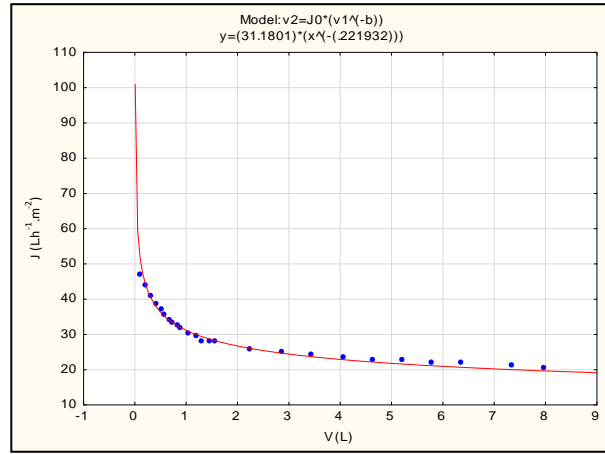
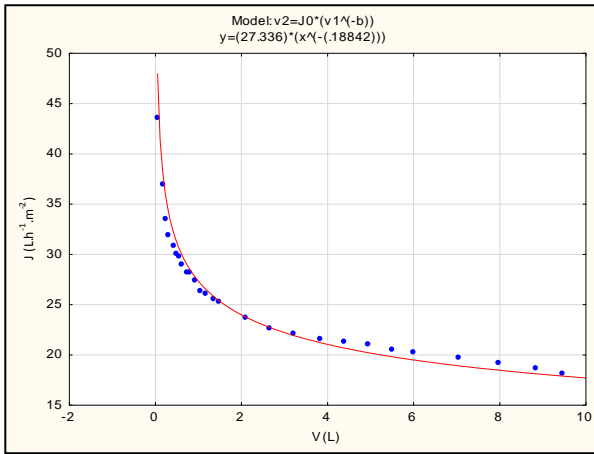
❖ Cheryan (1998)

✓ $J_t = J_0 t^{-b}$ R^2 variando de 94% a 99%



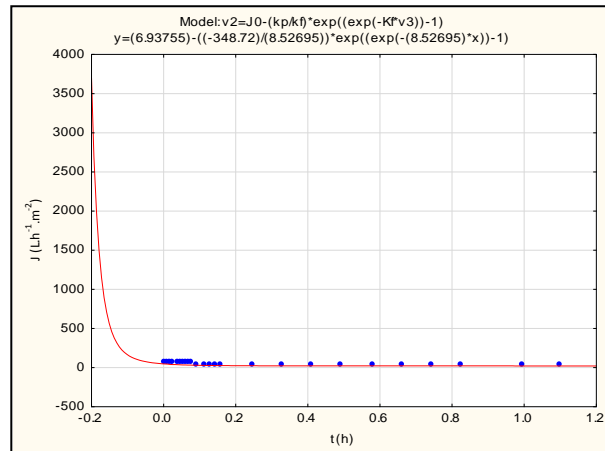
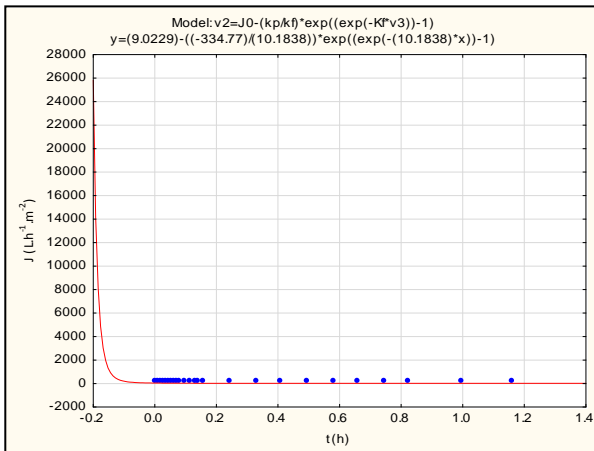
✓ $J_t = J_0 e^{-bt}$ R^2 abaixo de 90%

✓ $J_t = J_0 V^{-b}$ R^2 variando de 93% a 99%



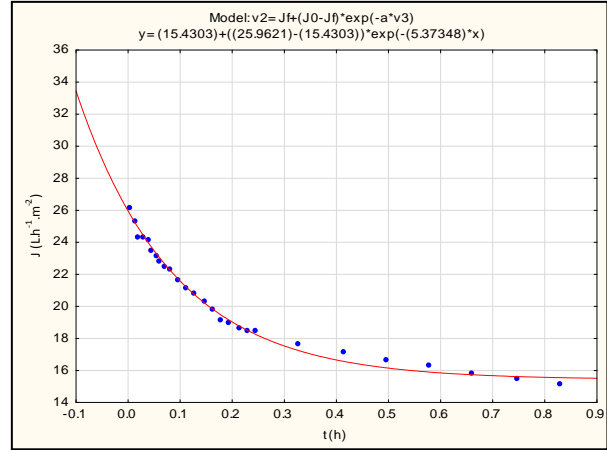
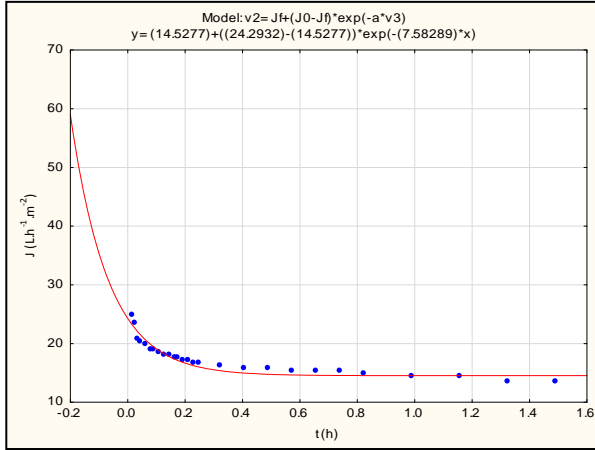
✓ $J_t = J_{ss} + K e^{-bt}$ R^2 abaixo de 90%

❖ Wu (1991) R^2 variando de 94% a 99%



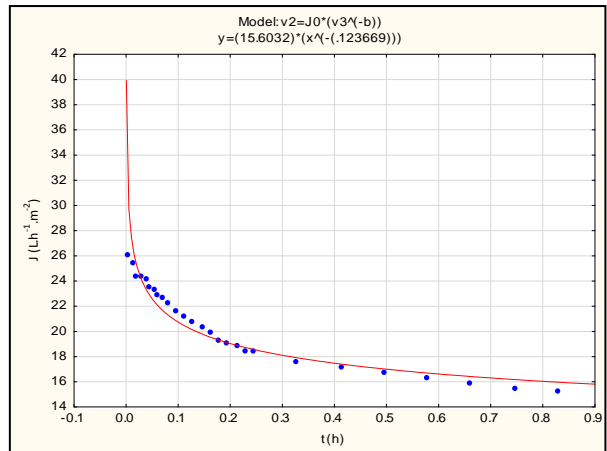
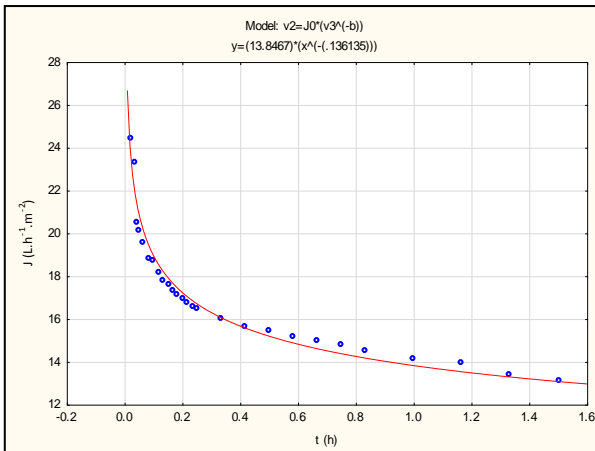
- UF

❖ Constenla e Lozano (1997) – R^2 variando de 92% a 99%



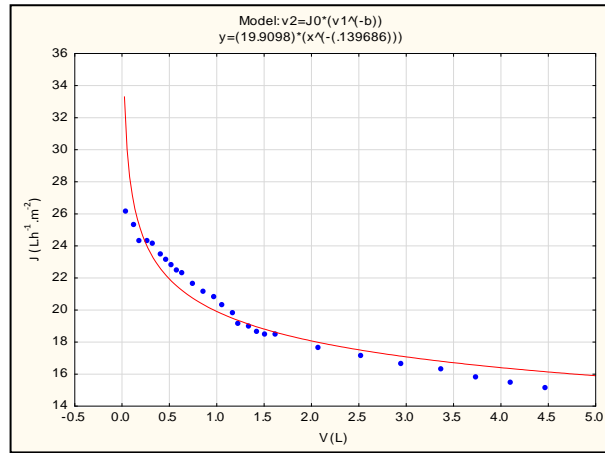
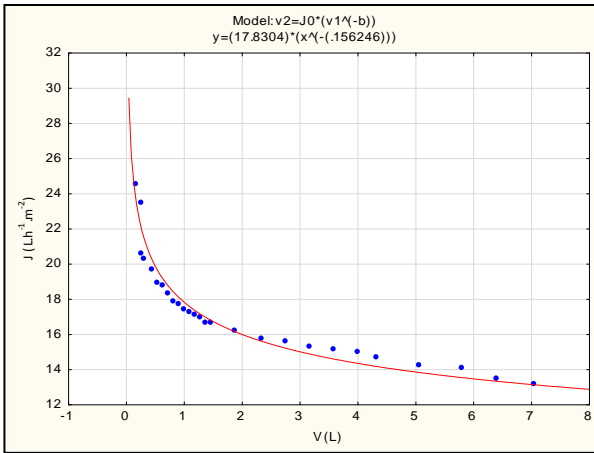
❖ Cheryan (1998)

✓ $J_t = J_0 t^{-b}$ R^2 variando de 94% a 98%

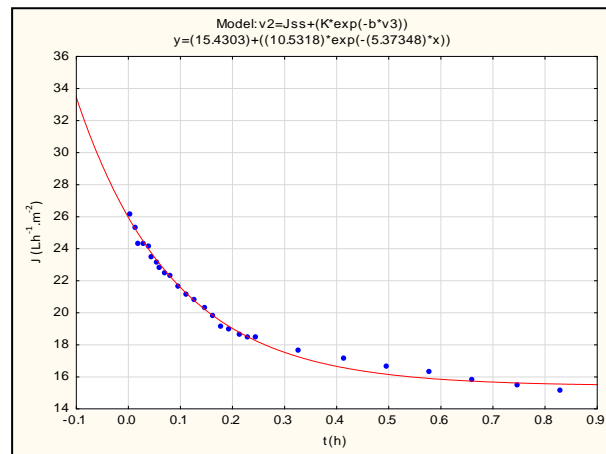
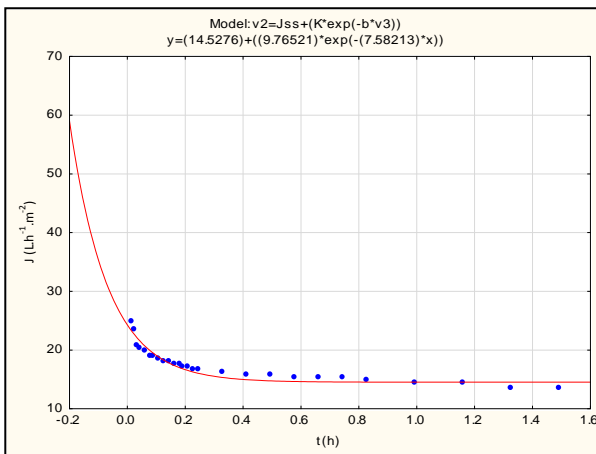


✓ $J_t = J_0 e^{-bt}$ R^2 abaixo de 90%

✓ $J_t = J_0 V^{-b}$ R^2 variando de 92% a 97%



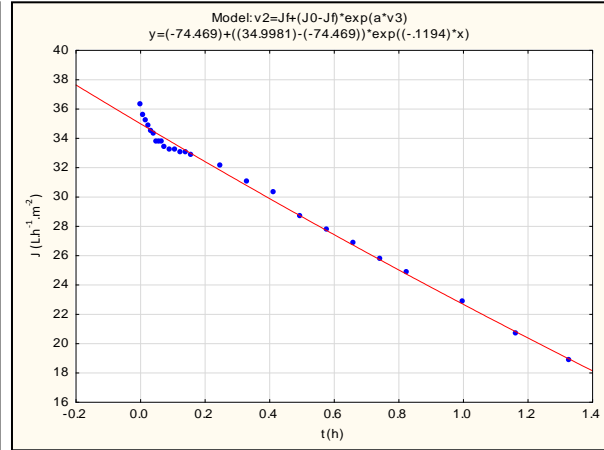
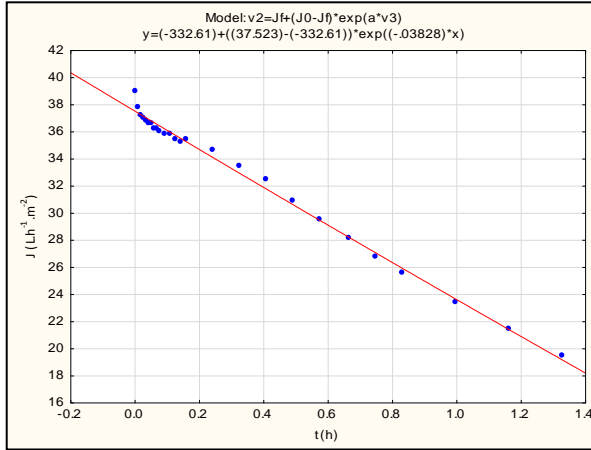
✓ $J_t = J_{ss} + K e^{-bt}$ R^2 variando de 92% a 99%



❖ Wu (1991) - os dados não convergem.

- NF

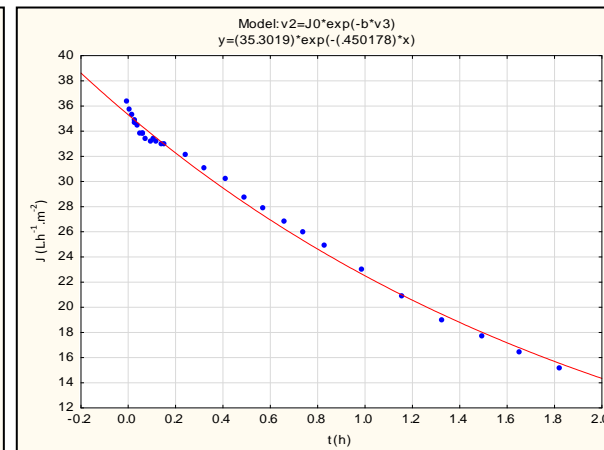
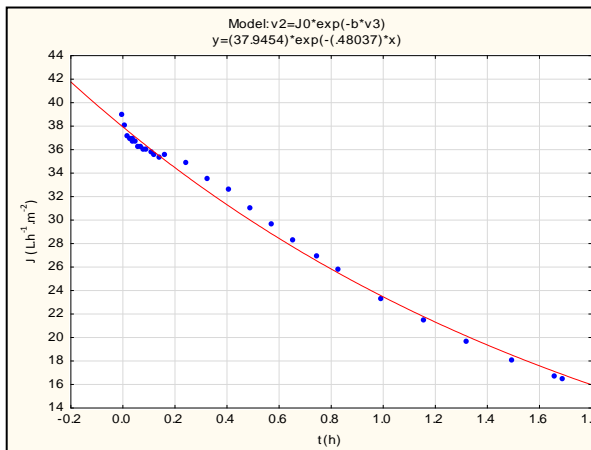
❖ Constenla e Lozano (1997) – R^2 acima de 99%



❖ Cheryan (1998)

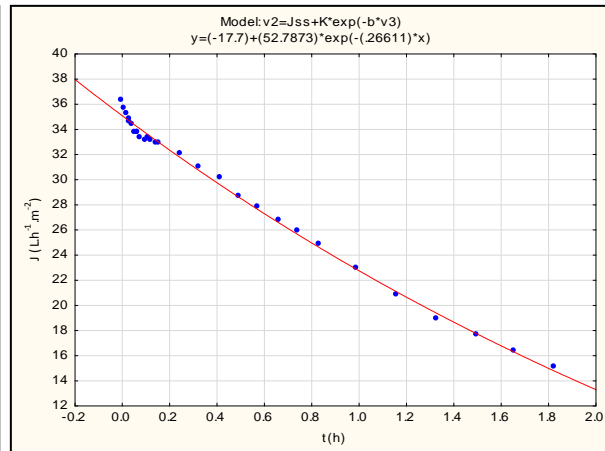
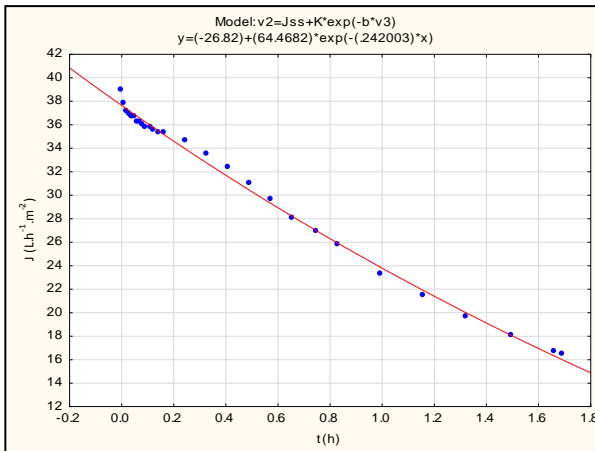
✓ $J_t = J_0 t^{-b}$ R^2 abaixo de 90%

✓ $J_t = J_0 e^{-bt}$ R^2 acima de 99%

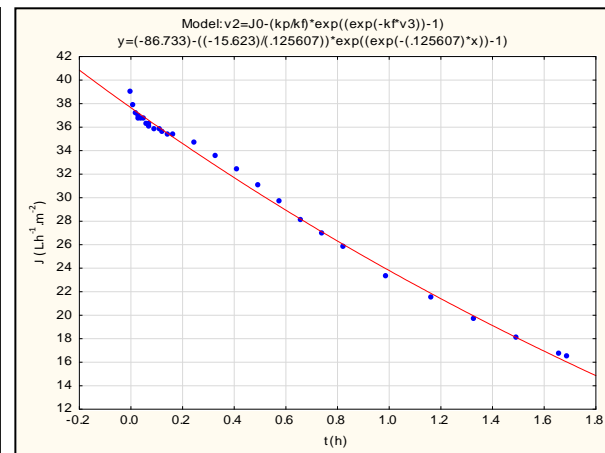
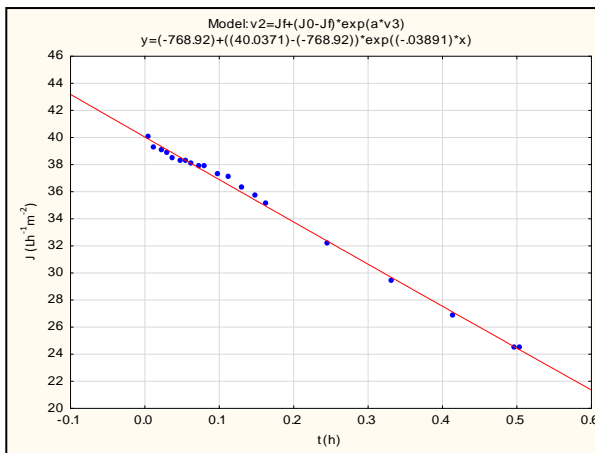


✓ $J_t = J_0 V^{-b}$ R^2 abaixo de 90%

✓ $J_t = J_{ss} + Ke^{-bt}$ R^2 acima de 99%



❖ Wu (1991) - $R^2 = 99\%$ em todos os processos

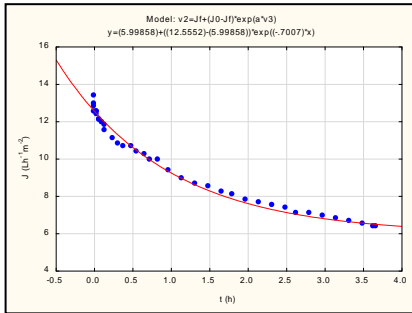


E.2 FLUXOGRAMA 2

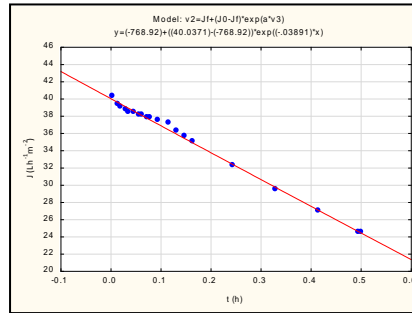
❖ Constenla e Lozano (1997)

✓ Parte A

UF- R² 99%

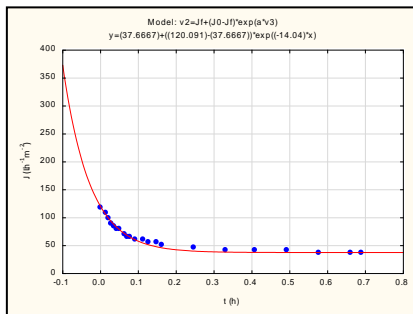


NF- R² 99%

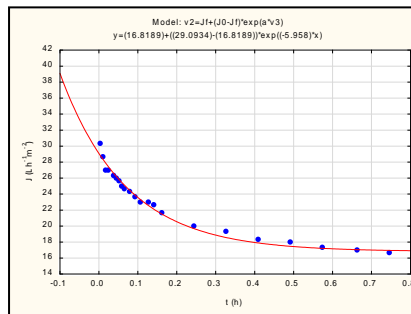


✓ Parte B

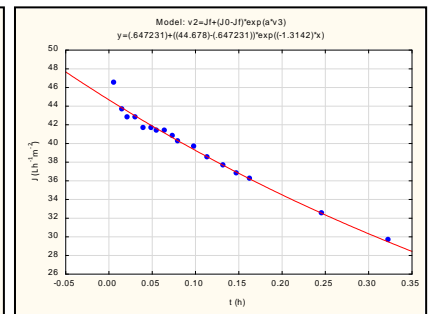
MF- R² 98%



UF- R² 99%

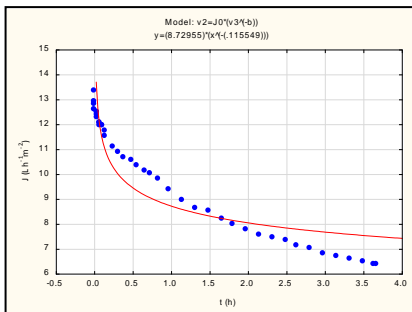


NF- R² 97%

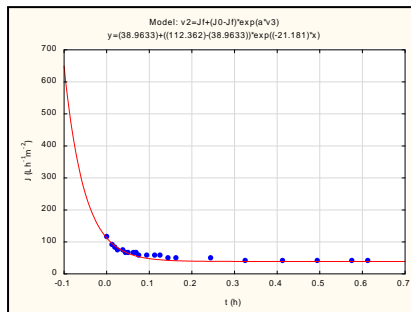


✓ Parte C

MF- R² 93%



NF- R² 99%

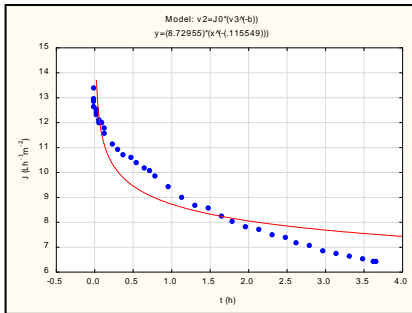


❖ Cheryan (1998)

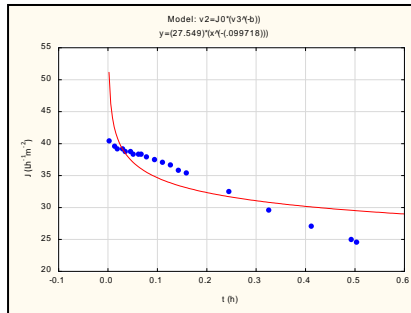
- $J_t = J_0 t^{-b}$

✓ Parte A

UF- R² 88%

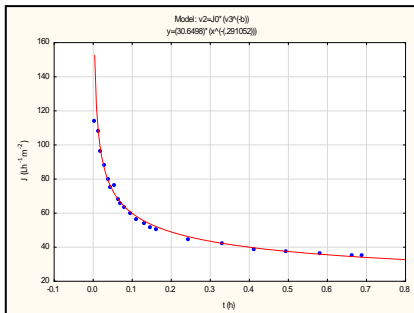


NF- R² 70%

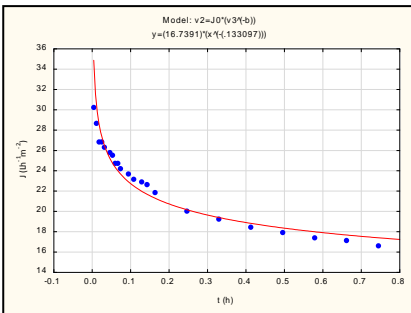


✓ Parte B

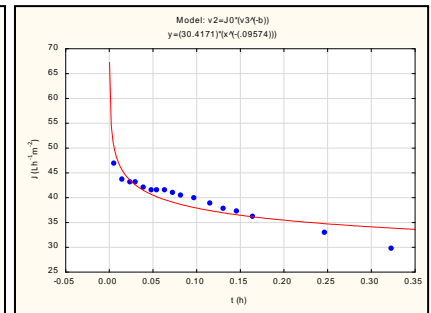
MF- R² 97%



UF- R² 96%

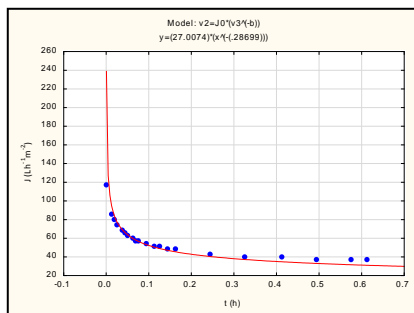


NF- R² 83%

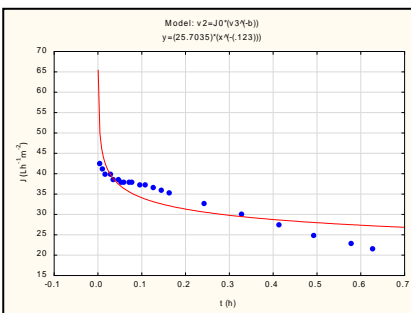


✓ Parte C

MF- R² 98%



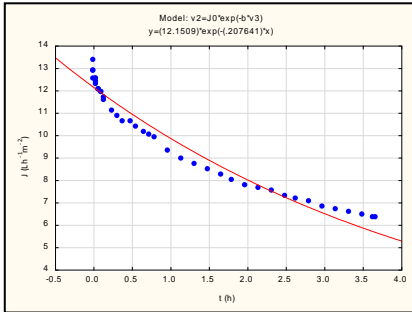
NF- R² 77%



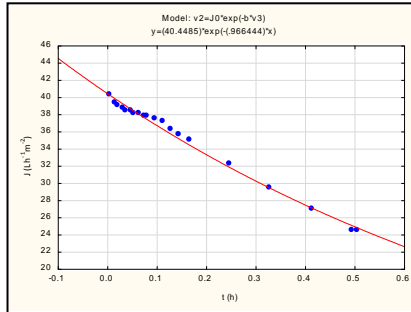
- $J_t = J_0 e^{-bt}$

✓ Parte A

UF- R² 95%

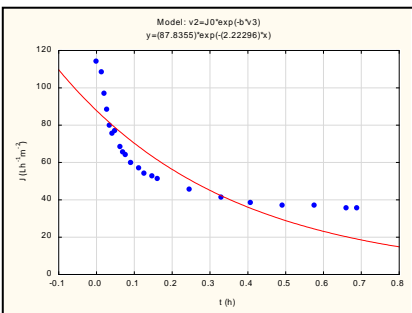


NF- R² 99%

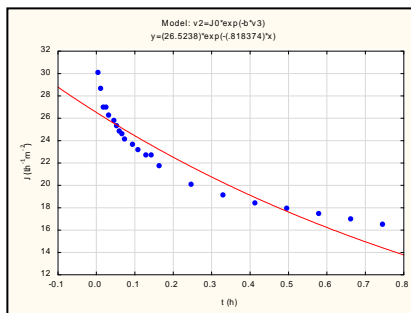


✓ Parte B

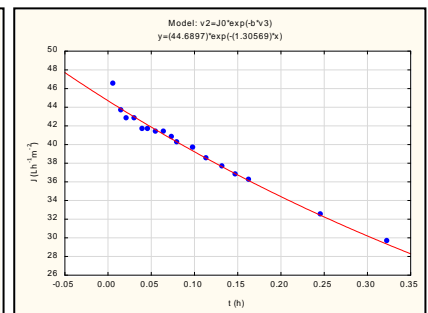
MF-R² 73%



UF-R² 87%

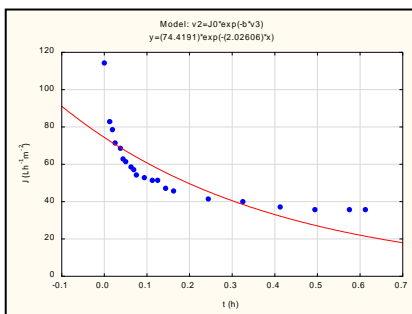


NF-R² 97%

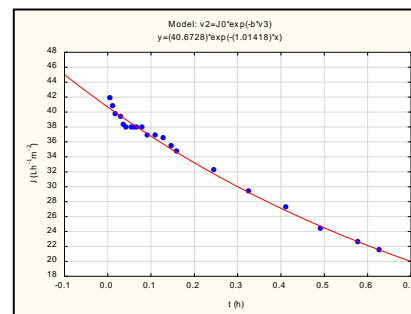


✓ Parte C

MF-R² 62%



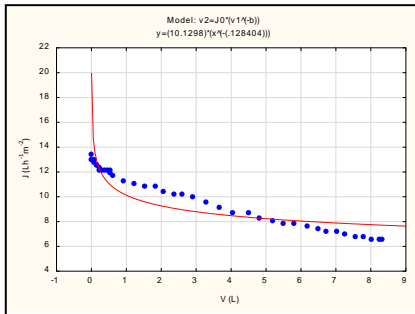
NF-R² 99%



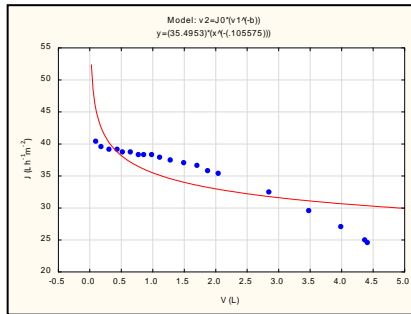
- $J_t = J_0 V^{-b}$

✓ Parte A

UF- R² 84%

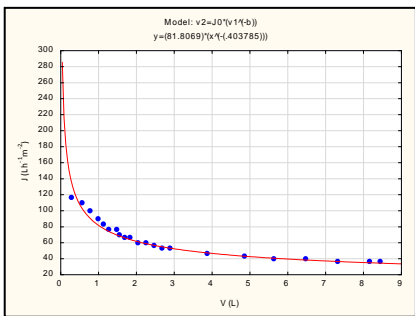


NF- R² 63%

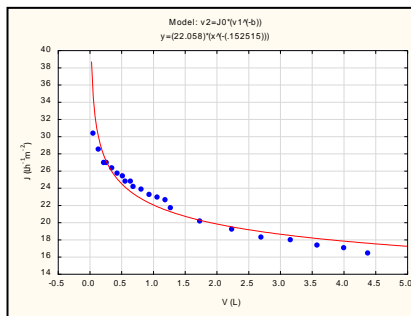


✓ Parte B

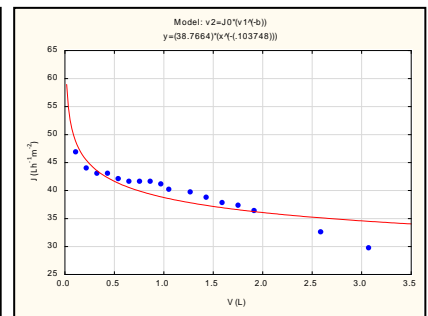
MF-R² 95%



UF-R² 95%

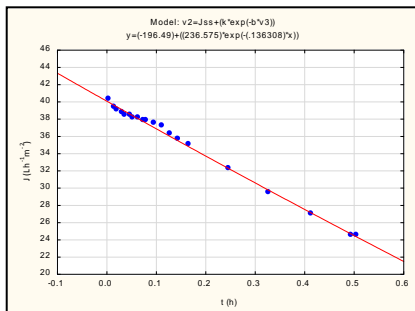


NF-R² 79%

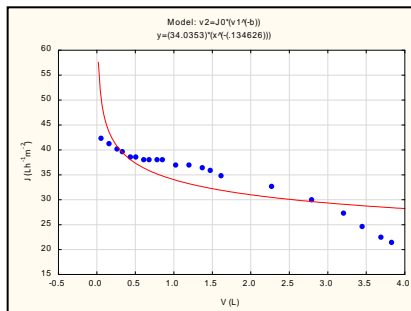


✓ Parte C

MF-R² 97%



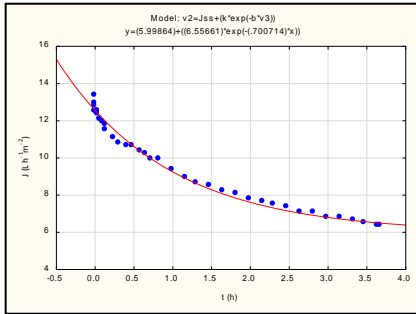
NF-R² 70%



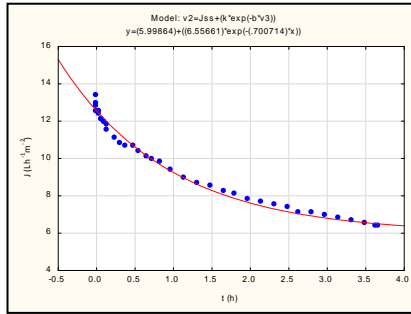
- $J_t = J_{ss} + Ke^{-bt}$

✓ Parte A

UF- R² 99%



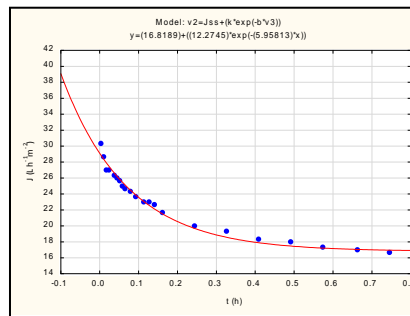
NF- R² 99%



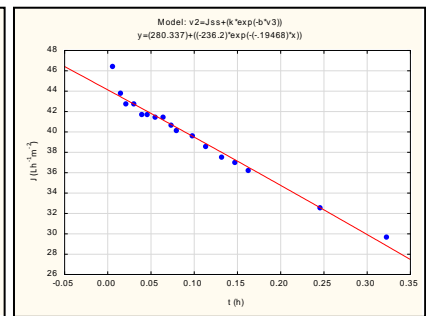
✓ Parte B

MF- não converge

UF-R² 98%

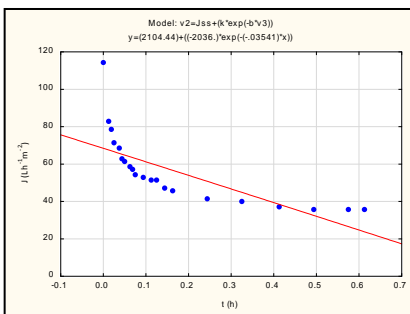


NF-R² 96%

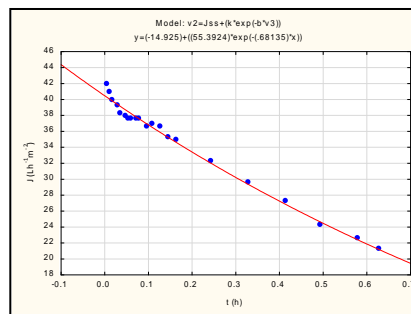


✓ Parte C

MF-R² 53%



NF-R² 99%

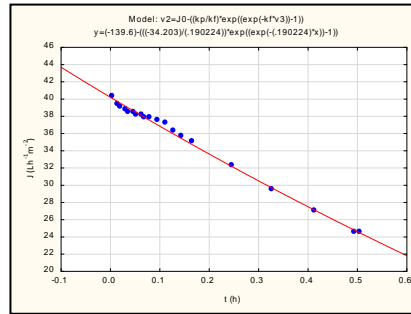


❖ Wu (1991)

✓ Parte A

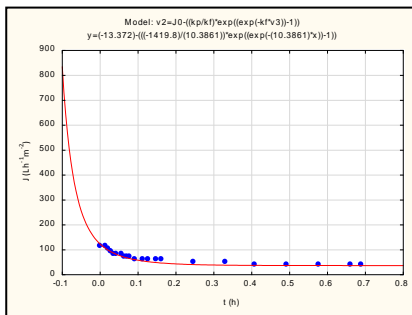
UF- não converge

NF- R^2 99%



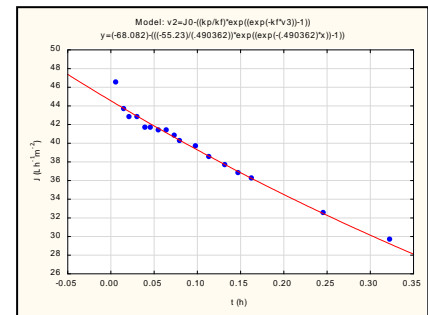
✓ Parte B

MF- R^2 99%



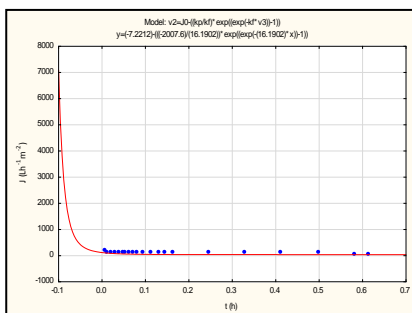
UF - não converge

NF- R^2 97%



✓ Parte C

MF- R^2 94%



NF- R^2 99%

