



UFRRJ

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO POR NANOFILTRAÇÃO DE SUCO DE
AMORA NA COMPOSIÇÃO E BIOACESSIBILIDADE DE ANTOCIANINAS**

TAÍS ANDREZA BATISTA DE JESUS

Rio de Janeiro
2026

TAÍS ANDREZA BATISTA DE JESUS

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO POR NANOFILTRAÇÃO DE SUCO DE
AMORA NA COMPOSIÇÃO E BIOACESSIBILIDADE DE ANTOCIANINAS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos
da Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, como requisito
parcial para a
obtenção do grau de Mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Lourdes Maria Corrêa Cabral

Rio de Janeiro

2026

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

J58a

Jesus, Taís Andreza Batista de, 1993-
Avaliação da Concentração por Nanofiltração de Suco
de Amora na Composição e Bioacessibilidade de
Antocianinas / Taís Andreza Batista de Jesus. - Rio de
Janeiro, 2026.
77 f.

Orientadora: Lourdes Maria Corrêa Cabral.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Ciência e Tecnologia de Alimentos,
2026.

1. Compostos fenólicos. 2. Processos por membranas.
3. Suco de frutas. 4. Estabilidade físico-química. 5.
Digestão in vitro. I. Cabral, Lourdes Maria Corrêa ,
1957-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Ciência e Tecnologia de Alimentos III.
Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



TERMO Nº 122/2026 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.010947/2026-07

Seropédica-RJ, 11 de março de 2026.

TAIS ANDREZA BATISTA DE JESUS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 10/03/2026

LOURDES MARIA CORRÊA CABRAL (Dra) EMBRAPA (orientadora)

ANA CAROLINA SAMPAIO DORIA CHAVES, (Dra) EMBRAPA

MONICA MARQUES PAGANI, UFRRJ (Dra) UFRRJ

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 21:14)

MONICA MARQUES PAGANI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DTA (12.28.01.00.00.00.46)
Matricula: ##078507

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 09:46)

LOURDES MARIA CORREA CABRAL
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.967-##

(Assinado digitalmente em 11/03/2026 09:51)

ANA CAROLINA SAMPAIO DORIA CHAVES
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.428-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 122, ano: 2026, tipo: TERMO, data de emissão: 11/03/2026 e o código de verificação: 483af495b7

A Deus, fonte de toda possibilidade e realização.

*Aos meus pais e à minha família, pelo suporte constante,
compreensão e encorajamento todos os dias da minha vida.
Ao meu esposo Cristiano pelo apoio e incentivo fundamentais à
realização deste trabalho.
E à minha filha Cecília, por transformar a minha vida.
A vocês, com profundo amor, dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em Sua infinita graça, me permitiu alcançar este sonho, iluminando minha mente e fortalecendo meu coração.

À minha orientadora, Lourdes Cabral, por todo o apoio, ensinamentos e atenção dedicados à construção deste projeto, inclusive em um período tão especial quanto a minha gestação, deixo registrado meu profundo agradecimento.

Ao meu coorientador Luiz Filho pelas valiosas contribuições científicas, pela disponibilidade e pelas ajudas nas análises que enriqueceram este trabalho.

Ao Aluno de IC Breno Costa pela colaboração nas análises e pelo comprometimento demonstrado durante o período em que estive de licença maternidade.

Aos Técnicos de Laboratório Luiz Fernando, Agnelli, Érica, Alessandra, Ana Paula e Manuela pelo companheirismo e ajuda nas análises.

Aos Alunos da planta 2 pelas conversas, ajuda e companheirismo nas análises do laboratório.

Aos laboratórios da Planta 1 e 2 da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos pela recepção e estrutura para análises.

À Flávia Gomes, Renata Tonon, Virginia Matta e Daniela de Sá por todo ensinamento, orientação e ajuda durante esse projeto.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos professores do programa pelas orientações e contribuições ao longo do meu projeto.

À Capes, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao meu esposo, por embarcar comigo neste projeto e por assumir, com dedicação e amor, o cuidado da nossa bebê enquanto eu me ausentava para a realização das análises e durante o período de escrita deste trabalho.

À minha mãe, pelo cuidado, pela dedicação e pelo apoio incansável ao longo de toda a minha caminhada acadêmica.

Ao meu pai, pelo incentivo, pelos valores transmitidos e pelo exemplo que sempre me guiou.

À minha família, pela história construída antes de mim e que hoje sustenta esta realização.

“A persistência é o caminho do êxito.”

Charles Chaplin

RESUMO

Blackberry is recognized for its high content of anthocyanins and other phenolic compounds with functional potential, although these compounds are sensitive to processing, storage, and digestion steps. This study aimed to evaluate the efficiency of nanofiltration in concentrating the bioactive compounds of blackberry juice, as well as to investigate the physicochemical stability of the concentrated product, the bioaccessibility of anthocyanins, and the effect of ascorbic acid addition. The juice was previously centrifuged and subjected to the nanofiltration process, and physicochemical parameters, total phenolic content, monomeric anthocyanins, antioxidant activity (ABTS and DPPH), and color parameters (CIELAB) were evaluated in the feed, permeate, and retentate fractions. The results demonstrated that nanofiltration showed high efficiency in concentrating the bioactive compounds of the juice, especially anthocyanins, with a concentration factor close to 2 for most analytes, confirming the performance of this process. The concentrated juice generally exhibited good physicochemical stability during frozen storage, preserving most of its bioactive compounds during the first 60 days, with more noticeable reductions only at the end of 90 days. In the simulated digestion, the presence of ascorbic acid did not promote additional degradation of anthocyanins and may have slightly favored their bioaccessibility. The observed degradation was mainly attributed to the alkaline pH of the intestinal phase and the intrinsic structural instability of anthocyanins. It is concluded that nanofiltration is a promising alternative for the development of functional blackberry-based beverages, with greater color intensity, higher bioactive compound content, and stability throughout storage.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; Processos por membranas; Suco de frutas; Estabilidade físico-química; Digestão *in vitro*.

ABSTRACT

Blackberry is recognized for its high content of anthocyanins and other phenolic compounds with functional potential, although these compounds are sensitive to processing, storage, and digestion steps. This study aimed to evaluate the efficiency of nanofiltration in concentrating the bioactive compounds of blackberry juice, as well as to investigate the physicochemical stability of the concentrated product, the bioaccessibility of anthocyanins, and the effect of ascorbic acid addition. The juice was previously centrifuged and subjected to the nanofiltration process, and physicochemical parameters, total phenolic content, monomeric anthocyanins, antioxidant activity (ABTS and DPPH), and color parameters (CIELAB) were evaluated in the feed, permeate, and retentate fractions. The results demonstrated that nanofiltration showed high efficiency in concentrating the bioactive compounds of the juice, especially anthocyanins, with a concentration factor close to 2 for most analytes, confirming the performance of this process. The concentrated juice generally exhibited good physicochemical stability during frozen storage, preserving most of its bioactive compounds during the first 60 days, with more noticeable reductions only at the end of 90 days. In the simulated digestion, the presence of ascorbic acid did not promote additional degradation of anthocyanins and may have slightly favored their bioaccessibility. The observed degradation was mainly attributed to the alkaline pH of the intestinal phase and the intrinsic structural instability of anthocyanins. It is concluded that nanofiltration is a promising alternative for the development of functional blackberry-based beverages, with greater color intensity, higher bioactive compound content, and stability throughout storage.

Keywords: Phenolic compounds; Membrane processes; Fruit juice; Physicochemical stability; In vitro digestion.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 AMORA	4
3.2 COMPOSIÇÃO E ASPECTOS NUTRICIONAIS.....	5
3.3 ANTOCIANINAS.....	7
3.4 BIOACESSIBILIDADE E BIODISPONIBILIDADE	9
3.5 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS	12
3.5.1 GEOMETRIA ESPIRAL.....	13
3.5.2 NANOFILTRAÇÃO	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 MATÉRIA PRIMA	16
4.2 PROCESSAMENTO DA MATÉRIA PRIMA	16
4.2.1 CENTRIFUGAÇÃO	17
4.2.2 NANOFILTRAÇÃO	17
4.4 FORMULAÇÃO DO SUCO MISTO	19
4.5 ADIÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO.....	20
4.6 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO	20
4.7 ANÁLISE SENSORIAL.....	20
4.8 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	21
4.8.1 DETERMINAÇÃO DE PH	21
4.8.2. ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL	21
4.8.3 SÓLIDOS SOLÚVEIS.....	21

4.8.4 SÓLIDOS TOTAIS	21
4.8.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	21
4.8.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)	22
4.8.7 ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTAIS	23
4.8.8 ANÁLISE COLORIMÉTRICA	23
4.8.9 DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	23
4.8.10 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ANTOCIANINAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	24
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO	24
5.2 FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SUCO MISTO	33
5.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO DO SUCO MISTO	37
5.4 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO DO SUCO MISTO COM ÁCIDO ASCÓRBICO ADICIONADO	40
5.5 ANÁLISE SENSORIAL	45
6 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
APÊNDICES	60

Lista de Figuras

Figura 1. Frutos e hastes da cultivar de amoreira-preta Tupy (Fonte: Embrapa)	4
Figura 2. Estrutura química da cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo	8
Figura 3. Ilustração do processo de digestão in vitro do protocolo INFOGEST®	11
Figura 4. Ilustração do processo de separação utilizando membranas.	12
Figura 5. Configuração da membrana Espiral enrolada	14
Figura 6. Diagrama do processo de obtenção da polpa de amora concentrada.	16
Figura 7. Centrifugação da polpa de amora: (A) – Centrífuga de cestos utilizada no processo de centrifugação; (B) – Polpa centrifugada; (C) – Resíduo obtido após centrifugação	17
Figura 8. Representação esquemática do sistema de nanofiltração.	18
Figura 9. Frações do processo de concentração por nanofiltração em espiral do suco de amora	29
Figura 10. Concentração de Cianidina-3-O-glicosídeo nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão simulada in vitro.	40
Figura 11. Concentração de vitamina C nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão simulada in vitro.	42
Figura 12. Bioacessibilidade da Cianidina-3-O-Glicosídeo	43
Figura 13. Bioacessibilidade da Vitamina C	44
Figura 14. Vitamina C na Formulação F4]	62
Figura 15. Vitamina C na Formulação F5	62
Figura 16. Antocianinas na Formulação F4.	63
Figura 17. Antocianinas na Formulação F5.	64
Figura 18. Escala Hedonica do teste sensorial.	65

1 INTRODUÇÃO

A amora-preta (*Rubus* spp.) é uma das bagas mais amplamente difundidas do gênero, com espécies selvagens e cultivadas distribuídas em diversas regiões do mundo. O gênero *Rubus* constitui um grupo altamente diverso, compreendendo entre 700 e 1000 espécies reconhecidas distribuídas pela América, Europa, África e Ásia, com grande variação genética e morfológica decorrente de frequente hibridização natural e poliploidia (Hummer, Williams & Bushakra, 2019).

Quando os frutos estão maduros sua cor muda de verde para um tom bem escuro de roxo, bem próximo a preto (Bandeira et. al., 2016). É conhecida por possuir compostos com relevante atividade bioativa, como os compostos fenólicos (Schulz & Chim, 2019). Candela et. al. (2021) identificaram seis antocianinas na amora, sendo as principais a cianidina dihexosídeo e a cianidina dioxalilglicosídeo, pelargonidina e a delphinidina.

A amora *in natura* é o principal produto comercial da amoreira e apresentam um perfil nutricional rico em vitaminas (C, A, E, B1, B2, B3, B6 e K), além de possuir ácidos orgânicos (cítrico, málico), ácidos fenólicos (derivados de ácidos cinâmico e benzoico), polifenóis, minerais, açúcares e fibra dietética (Memete et. al., 2023; Lebedev et. al., 2022). Devido à presença desses nutrientes, as bagas são consideradas importantes na dieta e na saúde humana, podendo reduzir a incidência de doenças cardiovasculares, melhorando a resposta à insulina, a regulação da glicose e do metabolismo lipídico, além de possuírem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Nemzer et. al., 2020; Varzaru et. al., 2023). Seus fitonutrientes podem ajudar a reduzir o risco de doenças crônicas e aprimorar seu controle quando consumidos como parte de uma dieta equilibrada (Derrick et. al., 2021).

O impacto que o estresse oxidativo tem na alteração do desempenho fisiológico é um fator relevante no desenvolvimento de distúrbios inflamatórios, cardiovasculares, neurodegenerativos ou metabólicos (Jiménez-Lopez et. al., 2020). Diversas pesquisas indicaram que as antocianinas presentes nas amoras podem representar benefícios para a saúde devido à sua poderosa ação antioxidante, que está associada à capacidade de neutralizar radicais livres e aos mecanismos epigenéticos. Essas substâncias também mostraram capacidade de melhorar indicadores inflamatórios (Del Bo'et. al., 2015).

A capacidade antioxidantes têm sido associados a uma ampla gama de benefícios para a saúde humana, desempenhando um papel preventivo no desenvolvimento de alergias, inflamações, distúrbios metabólicos e doenças relacionadas como diabetes e cardiopatias (Bouyahya et. al., 2022).

Os benefícios para a saúde humana dos fenólicos dependem da sua bioacessibilidade durante a digestão gastrointestinal (Sigurdson & Giusti, 2019). A eficácia das propriedades biológicas dos polifenóis é condicionada à quantidade ou fração liberada da matriz alimentar para absorção no intestino, alcançando a circulação sistêmica e sendo utilizada, caracterizando sua biodisponibilidade (Carbonell-Capella et. al., 2014).

As amoras são frutas perecíveis devido ao alto teor de umidade e baixa resistência a danos físicos. seu aproveitamento na forma de polpa congelada, suco e outros produtos como geleias é uma alternativa para evitar perdas e agregar valor a fruta (Tiwari et al., 2009). Convencionalmente, os sucos de frutas são obtidos por prensagem mecânica a temperatura ambiente, que mantém as propriedades funcionais e sensoriais da fruta. (Renard & Maingonnat, 2012). No entanto, a prensagem proporciona apenas uma transferência parcial dos componentes intracelulares das frutas para os sucos (Wang et. al., 2019).

O uso crescente de antocianinas como corantes, antioxidantes e conservantes naturais, aliado à demanda por aditivos naturais, tem impulsionado o desenvolvimento de novas fontes desse composto. O mercado global de ingredientes alimentares funcionais, avaliado em USD 98,9 bilhões em 2021, deve crescer a uma taxa anual composta de 6,8%, alcançando USD 137,1 bilhões em 2026 (Markets and Markets™, 2024).

A nanofiltração é um processo de separação por membranas semipermeáveis que permite a passagem seletiva de solutos com base na diferença de tamanho entre o soluto os poros da membrana. O processo acontece na fase líquida, e a força motriz para a separação é a diferença de pressão aplicada a membrana. É uma técnica intermediária entre a ultrafiltração e a osmose inversa, caracterizada por membranas com poros menores do que as utilizadas na ultrafiltração, mas maiores do que as da osmose inversa (Shon et. al., 2013).

As membranas de nanofiltração permitem a passagem de íons, compostos orgânicos de baixo peso molecular e solventes como água, enquanto retêm solutos maiores, como moléculas orgânicas de tamanho médio, alguns sais e materiais coloidais. A utilização da nanofiltração para a concentração de sucos e extratos de frutas ou vegetais é economicamente vantajosa, pois consome menos energia em comparação com outras tecnologias de membrana, como osmose inversa e a evaporação osmótica. Estudos documentaram o uso da nanofiltração na concentração de vinho (Banvolgyi et al., 2006), sucos de frutas (Warczok et al. 2004) e extratos de diversos materiais vegetais (Gilewicz-Lukasik et al. 2007; Cissé et al. 2011).

Diante desse cenário de expansão do mercado e da busca por alternativas naturais, surge a necessidade de explorar novas fontes de antocianinas que conciliem disponibilidade, qualidade e viabilidade econômica. Investigar o potencial de frutos ainda pouco estudados torna-se, portanto, uma estratégia relevante para atender às demandas da indústria e do consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência da nanofiltração na concentração de compostos bioativos do suco de amora-preta e caracterizar o desempenho do produto concentrado quanto à estabilidade, bioacessibilidade e aplicação em bebida mista.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Avaliar o processo de nanofiltração para obtenção de suco de amora concentrado em antocianinas;
- II. Avaliar a estabilidade do suco concentrado em relação ao teor de antocianinas ao longo do armazenamento sob congelamento;
- III. Formular um suco misto utilizando o suco de amora concentrado por nanofiltração;
- IV. Avaliar a bioacessibilidade do suco misto;
- V. Avaliar a aceitação sensorial do suco misto.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AMORA

A amora-preta (*Rubus* spp.) está entre as culturas classificadas como "pequenos frutos" sendo comumente incluída na categoria *berries*, termo comumente utilizado para descrever pequenas frutas de cor vermelha, roxa ou negra, de sabor adocicado e formato arredondado (Paredes-López et. al., 2010).

O gênero *Rubus* pertence à família *Rosaceae*, apresenta elevada complexidade taxonômica. Essa diversidade genética resulta em ampla variabilidade morfológica e composicional dos frutos, influenciando características agronômicas, físico-químicas e o conteúdo de compostos bioativos, como antocianinas e outros fenólicos, com frutos que variam em peso e tamanho. Os frutos são delicados, suculentos, saborosos e aromáticos, geralmente apresentando forma arredondada e peso variado (Souza et. al., 2007).

A Tupy é a cultivar mais importante no mundo (Calai, 2019). Ela foi desenvolvida pelo programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado na década de 1990, como resultado do cruzamento das cultivares Uruguai e Comanche. A Tupy possui porte ereto, espinhos nas hastes, frutos com peso entre 8 e 10 gramas e teor de sólidos solúveis que varia de 8 a 10° Brix (Antunes, 2002). Na Figura 1 é mostrada a imagem da amora-preta cultivar Tupy.



Figura 1. Frutos e hastes da cultivar de amoreira-preta Tupy (Fonte: Embrapa)

A amora-preta destaca-se pelo elevado teor de compostos bioativos, incluindo antocianinas, flavonóis, ácidos fenólicos e vitamina C, além de minerais e fibras dietéticas (Reyes-Carmona et. al., 2005). Estudos relatam que esses frutos apresentam alto potencial antioxidante, associado principalmente à elevada concentração de antocianinas derivadas da cianidina, o que contribui para a redução do estresse oxidativo e à modulação de processos inflamatórios (Ferreira et al., 2010)

A composição química e o conteúdo de compostos bioativos da amora-preta são fortemente influenciados pelo estágio de maturação e pelo cultivar. Durante o amadurecimento, observa-se aumento significativo do teor de antocianinas e fenólicos totais, concomitantemente ocorre a redução da acidez titulável e ao aumento dos sólidos solúveis, o que impacta diretamente a qualidade sensorial e funcional do fruto e de seus derivados (Siriwoharn et al., 2004)

Apesar de seu elevado valor nutricional e funcional, a elevada perecibilidade decorrente de sua estrutura frágil, alta atividade respiratória e suscetibilidade a danos mecânicos e microbiológicos, limita vida útil. Dessa forma, o processamento industrial surge como estratégia fundamental para ampliar a vida útil e agregar valor ao fruto, permitindo sua aplicação na forma de sucos, concentrados, polpas e ingredientes funcionais, desde que preservadas suas características sensoriais e bioativas (Celli et al., 2016; Cassano et al., 2017).

Além do interesse científico, a amora-preta apresenta crescente relevância econômica, impulsionada pela demanda por alimentos funcionais e ingredientes naturais. O aumento da área cultivada no Brasil e o desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições climáticas nacionais reforçam o potencial desse fruto para aplicação industrial e inserção em cadeias produtivas de maior valor agregado (Embrapa, 2023).

3.2 COMPOSIÇÃO E ASPECTOS NUTRICIONAIS

Fatores genéticos e ambientais, como o tipo de cultivar, maturidade, exposição à luz UV, condições de crescimento, e métodos de colheita e armazenamento, desempenham um papel crucial na composição química do fruto (Parr e Bolwell, 2000; Siriwoharn et. al., 2004).

Além dos compostos com potencial bioativo, a polpa de amora-preta contém substâncias que desempenham papel fundamental em suas propriedades sensoriais. Entre os principais componentes responsáveis pelo aroma e sabor característicos destacam-se os ácidos orgânicos, os açúcares e os compostos orgânicos voláteis, como ésteres, álcoois, aldeídos e terpenos. A concentração e o perfil desses compostos variam em função do cultivar, do estágio de maturação e das condições de armazenamento, sendo particularmente sensíveis aos processos de oxidação e degradação enzimática, o que justifica a adoção de estratégias tecnológicas que visem à preservação do aroma durante o processamento (Čechovičienė et al., 2024).

O teor de água nestes frutos varia entre 83 e 91%. Os ácidos orgânicos e os açúcares são componentes importantes do sabor e aroma dos frutos. Nas amoras, os principais ácidos são o ácido málico (280 mg/100 g), o lactoisocítrico (293 mg/100 g), o isocítrico (599 mg/100 g), o cítrico (572 mg/100 g), além de pequenas quantidades de ácido ascórbico, ácido fosfórico, ácido fumárico, ácido shiquímico e ácido quínico (Sousa et. al., 2007; Kaume et. al., 2011).

A amora-preta contém os seguintes compostos: folato, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, ácido elágico, ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos polinsaturados (Jacques & Zambiasi, 2011; Kaume et. al., 2011).

Durante o processo de maturação da amora-preta, ocorrem alterações metabólicas significativas, caracterizadas pelo aumento do teor de açúcares redutores e de antocianinas, concomitantemente à redução da acidez titulável e de ácidos orgânicos, especialmente o ácido málico. Essas mudanças afetam diretamente o perfil sensorial, a estabilidade dos compostos bioativos e a aceitabilidade do fruto e de seus derivados, além de influenciarem a eficiência de processos tecnológicos subsequentes (Siriwoharn et al., 2004; Jacques & Zambiasi, 2011).

A acidez total da amora-preta pode variar de 1 a 4%, enquanto o pH varia de 2 a 4. A concentração de sólidos solúveis apresenta uma ampla variação, de 7,5 a 16,1%, e o equilíbrio entre acidez e sólidos solúveis é responsável pelo seu sabor característico (Vizzotto, 2008).

A elevada acidez natural e o baixo pH da amora-preta contribuem para a estabilidade das antocianinas na matriz do fruto; entretanto, fatores como a presença de oxigênio, luz, temperatura e enzimas oxidativas podem comprometer a integridade

desses compostos durante o processamento e armazenamento. Dessa forma, o conhecimento detalhado da composição química da amora-preta é essencial para a escolha de tecnologias de processamento capazes de preservar suas propriedades nutricionais, sensoriais e funcionais (Kaume et al., 2011; Vizzotto, 2008).

A amora-preta apresenta na sua composição compostos bioativos ou compostos do metabolismo secundários. Estas substâncias são produzidas naturalmente pelas plantas para protegê-las contra pragas e doenças, além de ajudá-las a resistir a condições ambientais adversas. Muitos desses compostos atuam como sequestradores de radicais livres, contribuindo na prevenção e combate de doenças crônicas degenerativas, como câncer e doenças cardiovasculares. Dentre os fitoquímicos encontrados na amora-preta destacam-se as antocianinas, variando de vermelha a roxa. Além disso, existem vários outros fitoquímicos, como os ácidos fenólicos, que não possuem cor visível, mas são de grande importância para a saúde (Braga et. al., 2018).

A atividade antioxidante da amora-preta não resulta de um único composto isolado, mas da interação sinérgica entre diferentes classes de fitoquímicos, como antocianinas, ácidos fenólicos, flavonóis e vitamina C. Essas interações podem potencializar a capacidade sequestradora de radicais livres, conferindo maior eficácia biológica ao fruto quando comparado à ação individual de seus constituintes (Parr & Bolwell, 2000; Braga et al., 2018).

3.3 ANTOCIANINAS

As antocianinas (do grego *anthos*, flor e *kianos*, azul), podem ser classificadas como pigmentos solúveis em água. Pertencente o grupo dos compostos fenólicos, especificamente dos flavonoides, e estão presentes em uvas e derivados, como também em diversas fontes vegetais (Francis, 1989)

No reino vegetal, as antocianinas são responsáveis por uma grande variedade de cores, que podem variar em diferentes tonalidades de laranja, vermelho, violeta e azul. Elas podem ser encontradas em algumas folhas, caules e raízes, sendo especialmente abundantes em flores, frutos e pseudofrutos (Wallace, et. al., 2015).

Esses pigmentos são metabólitos secundários das plantas e desempenham diversas funções, como proteger os tecidos contra danos causados pelo estresse oxidativo e radiação solar. Além de suas propriedades antioxidantes e fotoprotetoras, elas também possuem ação antimicrobiana. Além disso, devido à capacidade de conferir

cores intensas e atraentes nas flores e frutos, as antocianinas desempenham um papel crucial na atração de polinizadores e dispersores de sementes (Harborne, 1967; Ongkowitz et. al., 2018).

A amora-preta apresenta um elevado potencial antioxidante, devido principalmente aos altos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides que possuem, com destaque para o alto conteúdo da antocianina cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-O-rutinosídeo (Figura 2) são descritas como as mais representativas no fruto, sendo a primeira a majoritária, correspondendo a aproximadamente 92,7% das antocianinas totais (Ferreira et. al., 2010). As antocianinas apresentam uma estrutura básica formada por dois anéis aromáticos ligados por meio de três carbonos, que geralmente formam um heterociclo oxigenado, denominado cátion flavílio (2-fenilbenzopirílio) (Bravo, 1998).

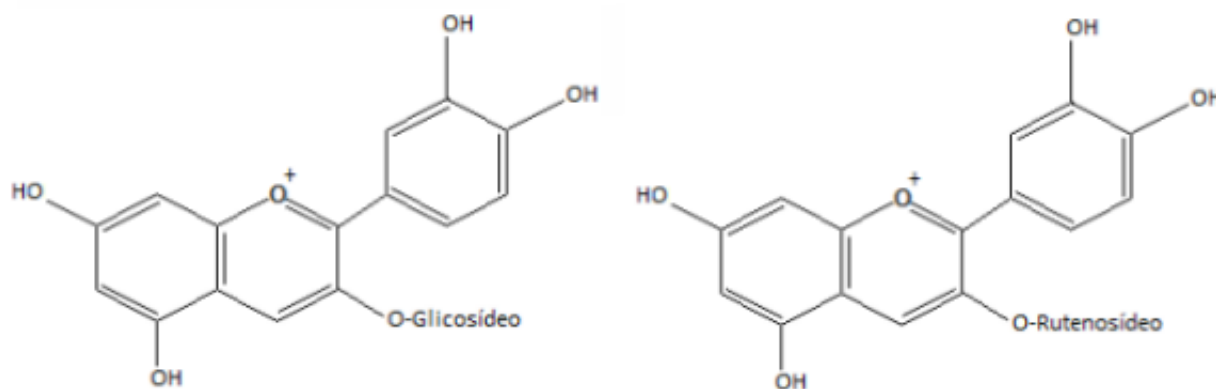


Figura 2. Estrutura química da cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo

Do ponto de vista químico, Francis (1989) define as antocianinas como glicosídeos, que por hidrólise ácida, liberam agliconas denominadas de antocianidinas e estas diferem entre si quanto ao número de grupos funcionais, como as hidroxilas (OH) e metoxilas (OCH₃) presentes no anel. Uma característica notável das antocianinas é sua ação antioxidante, que reduz os danos provocados pelos radicais livres (Patras et al., 2010). Essa capacidade permite atrasar ou impedir o início e a propagação das reações de oxidação em cadeia, responsáveis por danos celulares (Carvalho et al., 2006).

Do ponto de vista estrutural, apresentam comportamento químico altamente dependente do pH do meio. Em condições ácidas (pH < 3), predominam na forma de cátion flavílico, responsável pela coloração vermelha intensa, enquanto em pH mais

elevados ocorre a formação de bases quinoidais, carbinol pseudobase e chalconas, resultando em perda de cor e estabilidade. Além disso, interações de copigmentação com outros compostos fenólicos, ácidos orgânicos, açúcares e metais podem aumentar a intensidade e a estabilidade da cor, fenômeno particularmente relevante em matrizes alimentares complexas, como sucos e bebidas mistas (Francis, 1989; Giusti & Wrolstad, 2003; Castañeda et al., 2009).

A retenção, estabilidade e bioatividade das antocianinas não dependem apenas de sua estrutura química, mas também da matriz alimentar e das condições de processamento. Fatores como temperatura, presença de oxigênio, luz, atividade de água, enzimas oxidativas e interações com macromoléculas podem acelerar a degradação desses pigmentos. Processos como pasteurização, concentração por membranas e tratamentos não térmicos podem afetar de maneira distinta a estabilidade das antocianinas, tornando essencial a avaliação integrada entre composição, processo e matriz do alimento (Patras et al., 2010; Cassano et al., 2017).

As antocianinas têm despertado grande interesse como alternativas naturais aos corantes sintéticos, atendendo à crescente demanda do consumidor por ingredientes de origem natural. Além de conferir coloração atrativa, esses pigmentos podem agregar valor funcional aos alimentos, associando propriedades antioxidantes, antimicrobianas e potenciais efeitos benéficos à saúde. No entanto, sua aplicação industrial ainda é desafiadora devido à limitada estabilidade frente a variações de pH, luz e temperatura, o que tem impulsionado o desenvolvimento de estratégias de estabilização, como encapsulação e uso de matrizes protetoras (Giusti & Wrolstad, 2003; Castañeda et al., 2009; Charcosset, 2006).

3.4 BIOACESSIBILIDADE E BIODISPONIBILIDADE

O conceito de biodisponibilidade foi primeiramente introduzido pela *Food and Drug Administration* (FDA) no campo da farmacologia. Hoje, a ANVISA descreve biodisponibilidade como a quantificação da porção de um medicamento presente em uma formulação farmacêutica que atinge a circulação sistêmica, bem como a rapidez com que isso acontece (ANVISA, 2020).

Desde a década de 1980, o termo biodisponibilidade também passou a ser aplicado a alimentos, pois não basta apenas um nutriente estar presente no alimento, o importante é saber o quanto ele é biodisponível. Compreender os processos individuais

de biodisponibilidade desses compostos e de seus metabólitos é fundamental para entender seu mecanismo de ação e a influência que têm na promoção da saúde (D'Archivio et. al., 2007; Horst & Lajolo, 2009).

Para que um composto químico exerça atividade biológica, ele precisa alcançar o alvo fisiológico em uma concentração mínima eficaz. A bioacessibilidade é definida como a liberação de um constituinte alimentar da matriz do alimento durante a digestão, tornando-o disponível para posterior absorção pelo organismo (Saura-Calixto et. al., 2007).

Resumidamente, bioacessibilidade é a quantidade de um nutriente que se torna disponível para absorção após a digestão e a biodisponibilidade é a quantidade do nutriente que, depois de absorvido, está disponível para ser utilizado pelo corpo. A complexidade da matriz alimentar, a estrutura química do composto e a ingestão com outros alimentos podem influenciar a absorção. Portanto, consumir alimentos ricos em compostos bioativos não garante que eles alcançarão o alvo fisiológico em concentrações eficazes (Oliveira & Bastos, 2011). A primeira etapa para avaliação da biodisponibilidade dos componentes presentes nos alimentos é a digestão gastrointestinal, que gera uma fração bioacessível (Rodríguez-Roque et. al., 2013).

Apesar do elevado potencial antioxidante demonstrado em ensaios *in vitro*, evidências recentes indicam que a biodisponibilidade das antocianinas no organismo humano é relativamente limitada. Durante a digestão gastrointestinal, esses compostos podem sofrer transformações estruturais, degradação parcial e interações com outros constituintes da matriz alimentar, influenciando sua bioacessibilidade. Embora a glicosilação na posição C3 das antocianidinas contribua para maior estabilidade química e solubilidade em meios aquosos, a absorção sistêmica das antocianinas intactas ocorre em baixa extensão. Uma parcela significativa desses compostos alcança o cólon, onde é metabolizada pela microbiota intestinal em ácidos fenólicos e outros metabólitos de menor peso molecular, os quais podem desempenhar papel relevante nos efeitos biológicos atribuídos às antocianinas, indicando que seus benefícios à saúde não dependem exclusivamente da molécula intacta (Wallace & Giusti, 2015).

Nesse contexto, a composição da matriz alimentar, incluindo o teor de açúcares, pode influenciar a liberação e a estabilidade das antocianinas durante a digestão. Estratégias de reformulação com redução de açúcares devem considerar possíveis efeitos sobre interações físico-químicas e mecanismos de proteção da molécula, de

modo a otimizar a estabilidade e a bioacessibilidade desses compostos em alimentos e bebidas funcionais (Ayvaz et al., 2022).

A Figura 3 apresenta uma representação esquemática do processo de digestão *in vitro* segundo o protocolo *INFOGEST*, amplamente utilizado para simular de forma padronizada as condições do trato gastrointestinal humano. O modelo contempla as fases oral, gástrica e intestinal, com a utilização de fluidos simulados e enzimas específicas, além do controle de pH, temperatura e tempo de incubação, assegurando maior reprodutibilidade e comparabilidade dos resultados (Brodkorb et al., 2019).

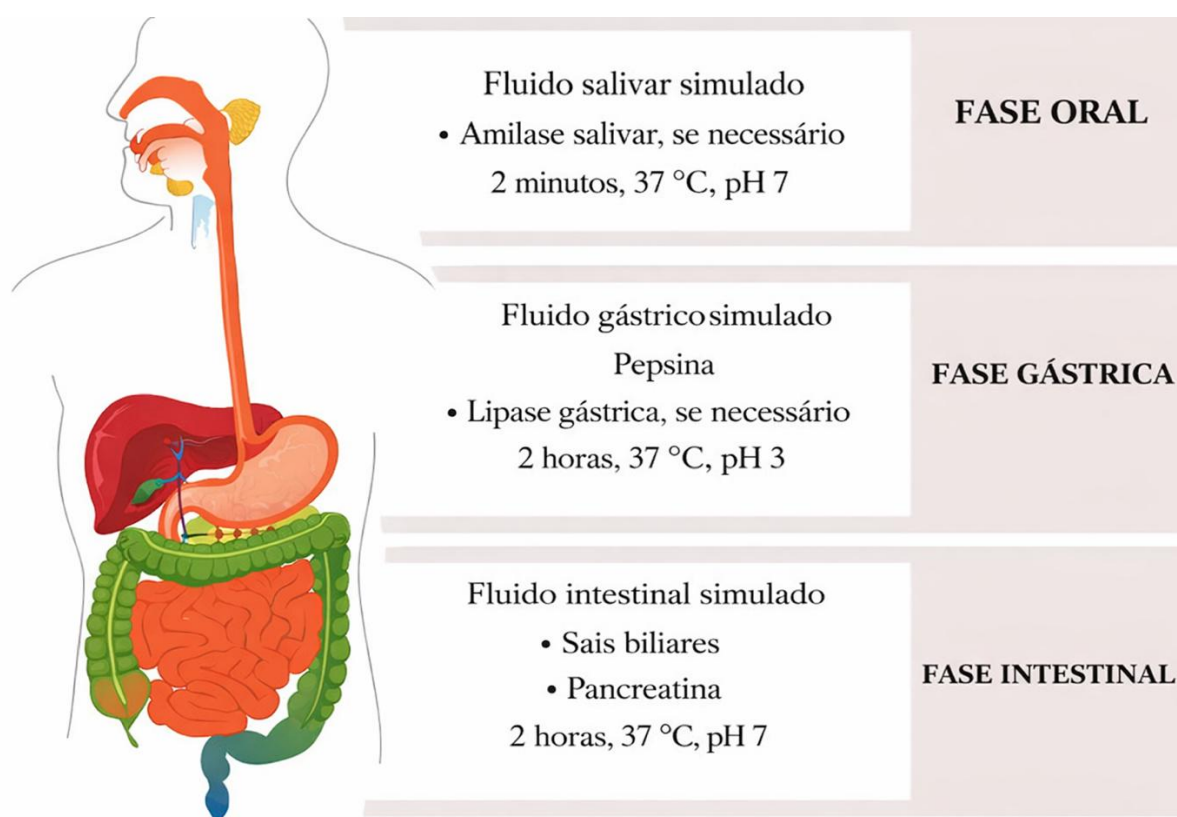


Figura 3. Ilustração do processo de digestão *in vitro* do protocolo *INFOGEST*©

Fonte: Matos et., al., 2024 (Adaptado)

O sistema *INFOGEST*© é um modelo de simulação estático de digestão gastrointestinal *in vitro*. Ele foi desenvolvido para padronizar e harmonizar os protocolos usados em experimentos de digestão *in vitro* para alimentos e ingredientes bioativos reproduzindo as condições do sistema digestivo humano, desde a boca até o

intestino delgado, utilizando enzimas digestivas, pH controlado e outras condições fisiológicas relevantes. Ele é amplamente utilizado na pesquisa em alimentos para estudar a digestão de nutrientes, bioacessibilidade de compostos bioativos e a liberação de ingredientes funcionais durante a digestão (Brodkorb et al., 2019).

Sánchez-Velázquez et al. (2021) investigaram o impacto da digestão gastrointestinal *in vitro* na estabilidade e bioacessibilidade de antocianinas em amoras selvagens e comerciais aplicando o protocolo *INFOGEST* e observaram uma redução superior a 70% no conteúdo de antocianinas após a digestão simulada *in vitro*, o que resultou em uma significativa diminuição na atividade antioxidante celular e na bioacessibilidade desses compostos.

3.5 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

Processos de separação por membranas permitem a transferência de determinados componentes de uma mistura, ao mesmo tempo em que limita ou impede a passagem de outros, em função de propriedades físicas e químicas (Cheryan, 1998). Essa característica possibilita a aplicação de processos por membranas para a concentração, separação fracionada e purificação de diferentes compostos. Tais processos fundamentam-se nos fenômenos de permeação e seletividade diferencial dos solutos através da membrana. Durante a operação, a corrente de alimentação é dividida em duas correntes distintas: o permeado, constituído pelos componentes que atravessam a membrana, e o retido ou concentrado, correspondente à fração que permanece no lado de alimentação (Mulder, 1991), conforme ilustrado na Figura 4.

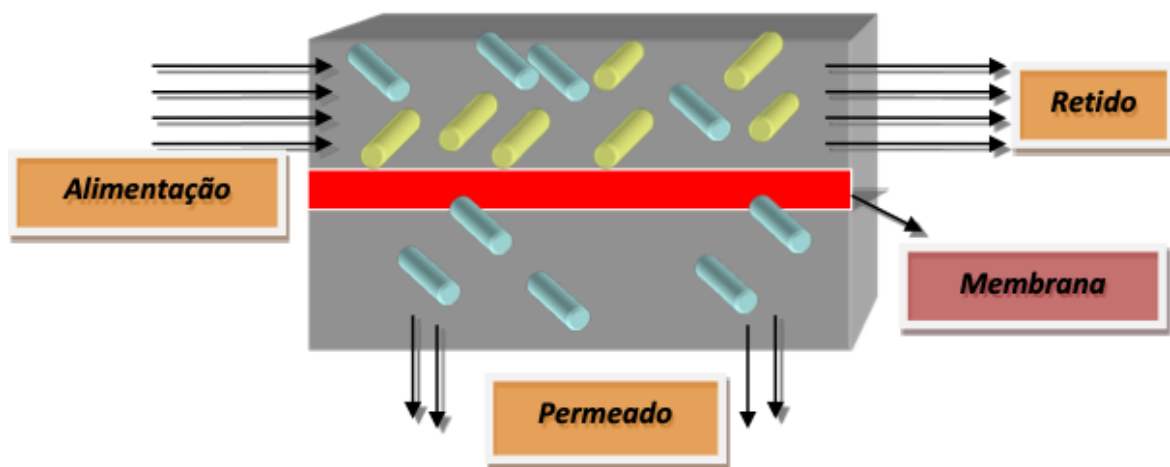


Figura 4. Ilustração do processo de separação utilizando membranas.

Fonte: Habert et. al., 2006

Nesses processos, a força motriz é aplicada à membrana, resultando no transporte de uma espécie através dela. Essa força motriz pode ser um gradiente de potencial químico e/ou elétrico. Em geral, os processos com membranas são atérmicos e, portanto, o gradiente de potencial químico pode ser expresso apenas em termos de pressão e concentração (Habert et. al., 2006).

Dentre os processos de separação por membranas estão a microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose inversa e eletrodialise (Habert et. al., 2006). As principais vantagens dos processos de separação por membranas incluem sua alta seletividade, facilidade de escalonamento, simples condução e a capacidade de serem facilmente integrados com outros sistemas de filtração. Além disso, permitem a obtenção de permeados com características específicas. (Silva e Lira, 2014).

Segundo Wang et al. (2005), as membranas que têm como força motriz o gradiente de pressão, são eficientes em remover substâncias nas seguintes faixas de separação:

- Microfiltração: 0,1 a 10 μm ;
- Ultrafiltração: 0,001 a 0,1 μm ;
- Nanofiltração: moléculas de massa molar média, entre 500 e 2.000 Da;
- Osmose inversa: moléculas solúveis (membrana densa).

Uma ampla variedade de materiais pode ser utilizada na fabricação de membranas. No entanto, a escolha do material deve considerar suas propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas, resistência mecânica, química e térmica, capacidade de esterilização, estabilidade dimensional e custo (Mulder, 1991).

3.5.1 Geometria espiral

A geometria em espiral (*spiral-wound*) é formada pela disposição de membranas compostas em folhas planas, intercaladas por espaçadores de alimentação e de permeado, as quais são enroladas de maneira compacta ao redor de um tubo coletor central. Esse arranjo estrutural resulta em uma elevada área de membrana por unidade de volume, fator que explica o amplo emprego dessa configuração em sistemas comerciais de nanofiltração e osmose inversa (Teow et al., 2025).

O processo de fabricação dos elementos espirais permite padronização dimensional, elevada reprodutibilidade e redução de custos, tornando essa geometria

industrialmente atrativa para aplicações em larga escala. Durante a operação, a alimentação escoa axialmente pelos canais formados pelos espaçadores, enquanto o permeado é transportado radialmente até o tubo central, possibilitando altas taxas de recuperação e eficiência hidráulica. Devido à combinação entre alta produtividade, compactação do módulo e viabilidade econômica, a geometria em espiral permanece como a configuração predominante em processos industriais de nanofiltração (Teow et al., 2025).

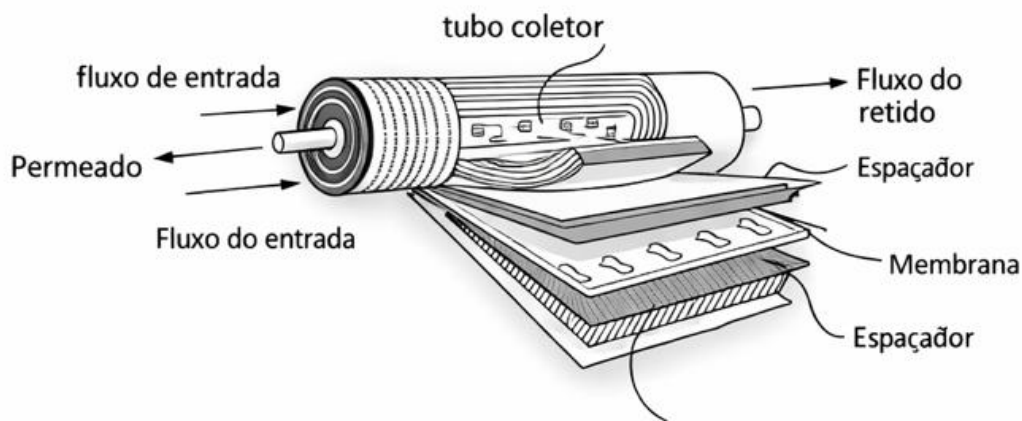


Figura 5. Configuração da membrana Espiral enrolada

Fonte: Adaptado de Sarbatly (2020).

3.5.2 Nanofiltração

A nanofiltração (NF) é um processo de separação por membranas classificada entre a ultrafiltração e a osmose inversa, tipicamente empregada para retenção seletiva de solutos de baixa a média massa molecular. O processo é movido fundamentalmente por um gradiente de pressão através da membrana, o que permite a passagem preferencial de água e de solutos de massa molecular inferior, enquanto solutos maiores e/ou com maior afinidade eletrostática são retidos. Além do efeito de exclusão por tamanho, a seletividade da NF resulta de interações eletrostáticas, de afinidade hidrofóbica/hidrofílica e de fenômenos de adsorção na superfície do polímero da

membrana, fatores que condicionam diretamente rendimento e seletividade na concentração de compostos bioativos. (Hilal et al., 2004).

Em aplicações na indústria de alimentos, a NF tem sido destacada como alternativa de baixa intensidade térmica para a concentração e fracionamento de compostos sensíveis ao calor por exemplo, antocianinas, flavonoides e outros fenólicos, reduzindo as perdas associadas a processos térmicos. A operação em temperaturas amenas e pressões moderadas favorece a preservação estrutural e funcional desses compostos, ao mesmo tempo em que oferece ganhos energéticos e menor impacto sensorial (Castro-Muñoz, 2024).

Estudos aplicados a sucos e extratos ricos em antocianinas como *blueberry*, cenoura preta e amora demonstram que a retenção e o enriquecimento destas moléculas podem ser elevados, mas dependem fortemente da escolha do material, geometria da membrana (*flat-sheet* e *spiral-wound*) e da engenharia do processo. Trabalhos que identificaram as espécies de antocianinas retidas mostram que, além da exclusão por tamanho, a formação de complexos, agregados, interações com polissacarídeos e proteínas na matriz alimentar aumenta a tendência ao entupimento e modifica o perfil de retenção observado experimentalmente. Essas observações evidenciam a necessidade de projetar rotinas de pré-tratamento e limpeza para preservar a seletividade e o fluxo de permeado (Cai et., al., 2021; Roda-Serrat et al. 2021).

Acosta et al. (2015) estudaram a utilização de membranas de nanofiltração de geometria plana para concentrar compostos polifenólicos, como antocianinas e elagitaninos, presentes no suco de amora-preta (*Rubus adenotrichos*). O estudo mostrou que a nanofiltração foi eficiente na retenção de compostos bioativos, com taxas de retenção de até 100% para as antocianinas e elagitaninos. Além disso, o processo se destacou por ser mais econômico em termos de energia quando comparado a evaporação, que pode reduzir a bioatividade dos compostos. A membrana NF270, quando operada a uma pressão de 3 MPa, apresentou os melhores resultados, combinando alta retenção de sólidos solúveis e bom fluxo de permeado, o que indica seu potencial para aplicações industriais, tanto na concentração quanto na desacidificação de sucos. O estudo demonstrou a viabilidade da concentração desses compostos polifenólicos por meio da nanofiltração, destacando a importância de novos processos para melhorar a produção de sucos e extratos de forma segura e econômica, especialmente no contexto dos alimentos funcionais

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA PRIMA

Polpa de amora integral congelada da marca De Marchi© foi utilizada como matéria prima. O suco integral de maçã da marca Natural One e o suco integral de laranja da marca Campo Largo, foram adquiridos no mercado local do Rio de Janeiro. Ácido Ascórbico foi cedido pela Embrapa Agroindústria de Alimentos.

4.2 PROCESSAMENTO DA MATÉRIA PRIMA

A figura 6 representa o diagrama do processo de obtenção da polpa de amora concentrada.

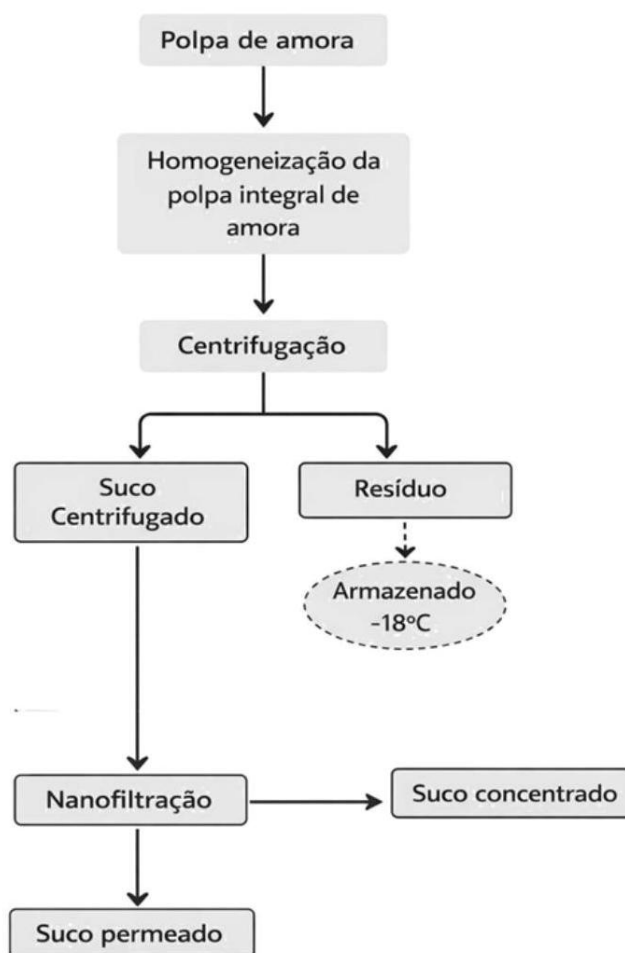


Figura 6. Diagrama do processo de obtenção da polpa de amora concentrada.

4.2.1 Centrifugação

A polpa integral foi descongelada, homogeneizada e centrifugada em uma centrífuga de cestos (Centrifuga IEC - Modelo K 7165, EUA), com malha de nylon de 150 μm (Figura 7A). Este procedimento foi realizado para a redução dos sólidos em suspensão, a fim de facilitar o processo subsequente de filtração por membranas. A polpa centrifugada (Figura 7B) e o resíduo obtido (Figura 7C) foram pesados e acondicionados em embalagens de polietileno, armazenados a -18 °C até a utilização.

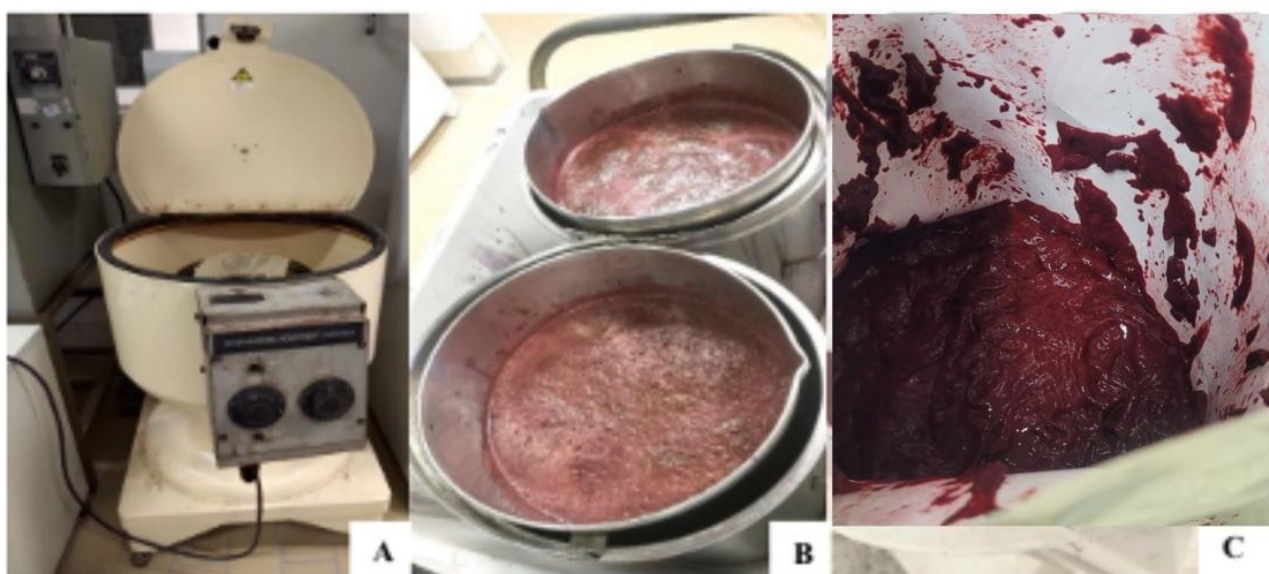


Figura 7. Centrifugação da polpa de amora: (A) – Centrífuga de cestos utilizada no processo de centrifugação; (B) – Polpa centrifugada; (C) – Resíduo obtido após centrifugação

4.2.2 Nanofiltração

O sistema de nanofiltração foi constituído por um tanque de alimentação, uma bomba para impulsionamento do fluido, uma válvula de ajuste de pressão, manômetros para monitoramento das pressões de entrada e de saída, e um módulo de membrana. A alimentação foi bombeada a partir do tanque até o módulo de membrana, passando pela válvula de controle, que permitia o ajuste da pressão de operação do sistema. A pressão de entrada e a pressão de saída e foram monitoradas por meio de manômetros instalados na linha, possibilitando o controle das condições de operação. O permeado coletado na

saída do módulo de membrana, enquanto a corrente retida retornava ao sistema, caracterizando um arranjo em circuito fechado (Figura 8).

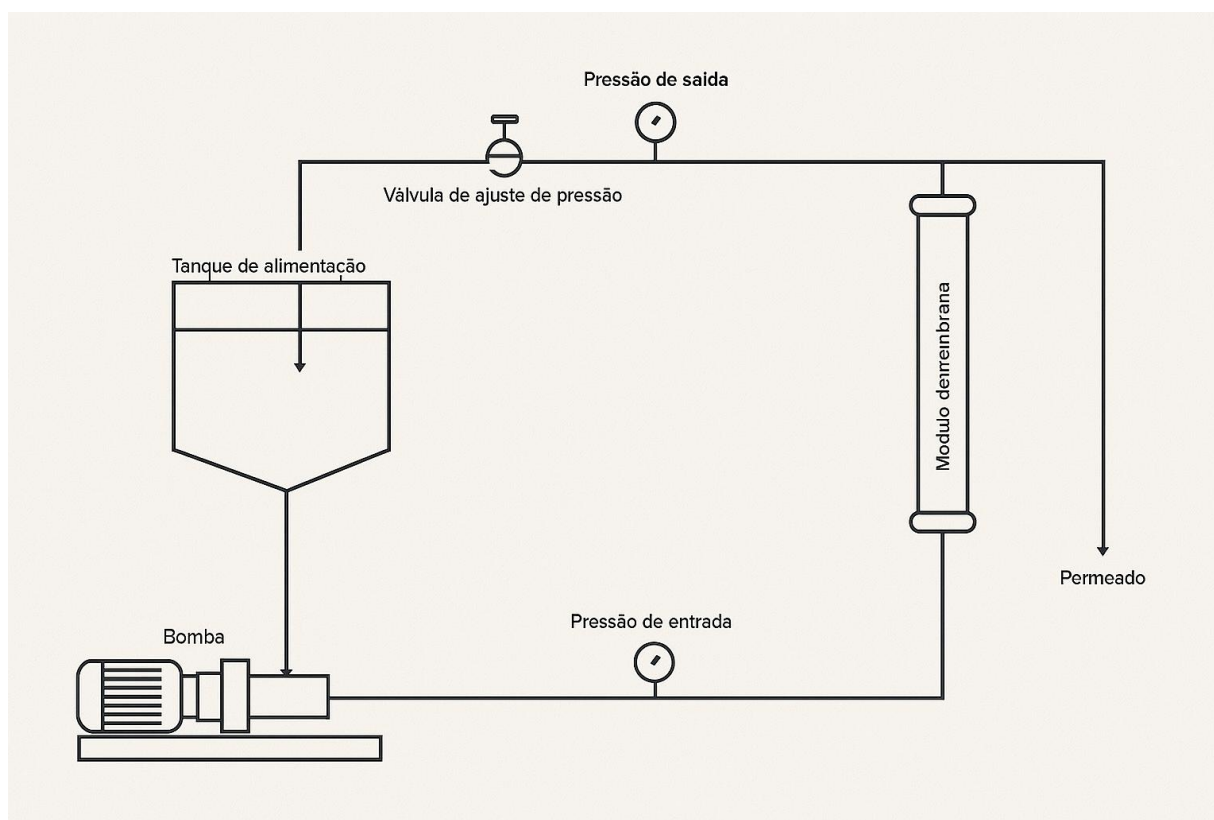


Figura 8. Representação esquemática do sistema de nanofiltração.

Para o processo de nanofiltração foi utilizada uma membrana de nanofiltração comercial (PAM Membranas Seletivas Ltda©, modelo NF90-2540), de geometria em espiral, confeccionada em poliamida, com tamanho de poro de 0,01 μm e área de permeação de 2 m^2 . Inicialmente, o sistema apresentava um valor de sólidos solúveis de 6,1 °Brix e temperatura de 27 °C. O tanque de alimentação possuía capacidade para 10 L, e o processamento foi conduzido com 7.900,4 g de suco inicial.

Antes do início da concentração do suco, foi determinada a permeabilidade hidráulica da membrana em diferentes pressões (5, 10 e 15 bar), à temperatura ambiente. Após a seleção da pressão operacional de 10 bar, a temperatura do processo variou de 27 °C a 54 °C. O fluxo de permeado foi medido nos tempos de 10, 20, 30, 40 e 50 minutos.

O processo foi realizado em modo batelada, com recirculação da corrente não-permeada, enquanto o permeado era coletado continuamente

As amostras para avaliação da atividade antioxidante, teor de fenólicos totais, antocianinas monoméricas, acidez, pH, sólidos solúveis e cor foram coletadas em

diferentes estágios do processo: polpa *in natura* (I), alimentação inicial (A0), alimentação após uma hora de recirculação no sistema (A1), permeado (P) e retido (R).

4.3 ARMAZENAMENTO DO SUCO CONCENTRADO

Para o acompanhamento da estabilidade do suco concentrado de amora, as frações do retido coletadas foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e armazenadas sob congelamento a -18°C para posterior utilização.

4.4 FORMULAÇÃO DO SUCO MISTO

Cinco formulações foram avaliadas, todas contendo 50% de suco de maçã, as proporções de suco de laranja e o suco concentrado de amora estão na tabela 1.

Tabela 1. Proporções do suco misto

Formulação	Suco de maçã (%)	Suco de laranja (%)	Suco concentrado de amora (%)
F1	50	50	0
F2	50	37,5	12,5
F3	50	25	25
F4	50	12,5	37,5
F5	50	0	50

As formulações foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar previamente homogeneizados e submetidas ao processo de pasteurização a 70°C por 25 minutos. Após o processamento térmico, os sucos foram armazenados sob refrigeração até o uso.

A amora concentrada foi incorporada à formulação como principal fonte de compostos bioativos, especialmente antocianinas e outros compostos fenólicos, sendo responsável pela intensificação da coloração, pelo aumento da capacidade antioxidante e pela valorização funcional do suco misto.

A escolha da maçã e da laranja foram devidas as suas contribuições sensoriais, tecnológicas e nutricionais. A maçã atuou como base da formulação, conferindo doçura natural, suavizando a acidez e a adstringência da amora e favorecendo a estabilidade do produto, enquanto a laranja contribuiu para o ajuste do pH, fornecendo notas cítricas ao sabor.

4.5 ADIÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Análises preliminares demonstraram a ausência de vitamina C em concentrações quantificáveis no suco de laranja utilizado como matriz. Diante disso, um novo ensaio foi conduzido empregando as formulações F4 e F5, às quais foram adicionados 250 ppm de ácido ascórbico, com o propósito de padronizar o teor desse composto entre as amostras.

4.6 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

A simulação da digestão gastrointestinal foi realizada segundo o protocolo *INFOGEST*, utilizando uma simulação sequencial em três etapas das fases oral, gástrica e intestinal (Brodkorb et al., 2019). Durante a fase oral, 5 g da amostra foram misturados com fluido salivar simulado (1:1, p/v) contendo amilase (75 U/mL, pH 7,0) e incubados a 37 °C por 2 minutos. Posteriormente, a fase gástrica foi iniciada pela adição de fluido gástrico simulado (1:1, v/v) contendo pepsina (2000 U/mL, pH 3,7), seguida de incubação a 37 °C por 2 h. Para a fase intestinal, adicionou-se fluido intestinal simulado (1:1, v/v) suplementado com sais biliares (6,7 mM) e pancreatina (100 U/mL, pH 7,5), e a mistura foi incubada a 37 °C por 2 h. Ao final do processo de digestão, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 min a 4 °C, e o sobrenadante resultante foi coletado como a fração potencialmente absorvível. Essa fração foi utilizada para a determinação dos teores de vitamina C e antocianinas.

A bioacessibilidade foi calculada como a razão entre a concentração de cada composto na fração digerida (sobrenadante) e sua concentração inicial antes da digestão, com os resultados expressos em porcentagem.

4.7 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi conduzida com um painel de 107 consumidores não treinados, utilizando-se uma escala hedônica de nove pontos para avaliar a aceitação global das diferentes formulações de suco. Cada participante recebeu as amostras codificadas de forma aleatória e monádica, seguindo condições controladas de iluminação e temperatura.

4.8 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físicas e químicas das amostras foram realizadas em triplicata e foram conduzidas nos laboratórios de apoio às plantas-piloto de Operações Unitárias I e II da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

4.8.1 Determinação de pH

Determinação pelo pHmetro Metron, utilizando para a calibração soluções tampão de referência Metron, pH 4,0 e 7,0, por leitura direta a 25 °C em (IAL, 1985).

4.8.2. Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada pelo método potenciométrico, utilizando solução de hidróxido de sódio em titulador automático Metron (AOAC, 2000), sendo expressa em % de ácido cítrico.

4.8.3 Sólidos solúveis

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

4.8.4 Sólidos totais

O teor de sólidos totais foi avaliado por gravimetria, pela determinação do peso seco em estufa à vácuo, mantida à 80 °C, até peso constante, segundo AOAC (2000).

4.8.5 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante das amostras de amora foi determinada pelos métodos ABTS (2,20-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Inicialmente, um extrato foi preparado para cada amostra de amora, utilizando metanol 50% e acetona 70% para ambos os métodos. A atividade antioxidante foi determinada usando Trolox para a curva padrão (100 a 2.000 µmol/L) e os resultados foram expressos em termos de µmol de equivalente de Trolox por grama.

A capacidade antioxidante pelo método ABTS foi medida conforme descrito por Re et al. (1999) e Rufino et al. (2007), com modificações. Foram preparadas duas soluções estoque de ABTS (7 mmol/L) e persulfato de potássio (140 mmol/L). A solução de trabalho foi obtida misturando 2 mL de solução de ABTS com 35,2 µL de solução de persulfato de potássio, mantendo-a no escuro à temperatura ambiente por 12 a 16 horas. A solução de ABTS foi então diluída com etanol a 95% para obter uma absorbância de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm. A reação foi realizada misturando 3.000 µL da solução de ABTS com alíquotas de 30 µL das amostras por 6 minutos, com a absorbância a 734 nm registrada imediatamente.

A capacidade antioxidante pelo método DPPH foi avaliada conforme o procedimento de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações. A solução de DPPH foi preparada em etanol até alcançar 1,1 unidades de absorbância a 515 nm. Em seguida, 0,1 mL dos extratos foram adicionados a 3,9 mL da solução de DPPH. Esta mistura foi homogeneizada e deixada reagir por 40 minutos no escuro. Posteriormente, as amostras foram lidas em um espectrofotômetro a 515 nm. O branco foi preparado com etanol a 95% e usado como controle.

4.8.6 Compostos fenólicos totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu, conforme proposto por Singleton e Rossi (1965) e modificado por Georgé et al. (2005). Os extratos foram preparados pela imersão da amostra em acetona 70% por 30 minutos sob agitação constante. Em resumo, 0,25 mL dos diferentes extratos foram misturados com 1,25 mL da solução de Folin-Ciocalteu a 10%. Após 2 minutos, 1 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% foi adicionado, e os tubos foram imediatamente agitados. A reação ocorreu em banho-maria a 50 °C por 15 minutos, com a absorbância medida a 760 nm, usando etanol a 95% como branco (Shimadzu ® UV-1800, Kyoto, Japão). O CFT foi estimado utilizando uma curva de calibração com ácido gálico, com concentrações variando entre 0 e 100 mg/L. O teor total de fenólicos foi expresso como equivalente de ácido gálico (mg AGE/100g de amostra).

4.8.7 Antocianinas monoméricas totais

Para a análise de antocianinas monoméricas totais foi utilizado o método do pH diferencial que se baseia nas mudanças que as antocianinas sofrem com a variação do pH, ou seja, diferentes estruturas correspondem a diferentes colorações.

A metodologia foi inicialmente proposta por Fuleki e Francis (1968) e modificada por Giusti e Wrolstad (2001). Os extratos aquosos foram devidamente diluídos em dois tampões: cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) e acetato de potássio 0,4 M (pH 4,5). Após 30 minutos de repouso a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), as medidas de absorbância foram realizadas a 517 nm e 700 nm em um espectrofotômetro (Biospectro Modelo SP220), utilizando cubetas.

4.8.8 Análise Colorimétrica

A análise de cor por reflectância foi realizada utilizando um colorímetro com o sistema CIELAB. Os valores de L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) foram obtidos diretamente do colorímetro. A luminosidade (L^*) varia de 0 a 100, onde 0 indica preto e 100 indica branco.

4.8.9 Determinação de vitamina C por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A determinação do teor de vitamina C foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com base na separação cromatográfica em coluna de troca iônica e quantificação por padronização externa, conforme metodologia descrita por Rosa et al. (2007).

As análises foram conduzidas em sistema cromatográfico equipado com bomba, injetor automático, forno de coluna e detector UV. A separação foi realizada em coluna de troca iônica AMINEX HPX-87H (Bio-Rad) ($300 \times 7,8$ mm; 9 μ m), mantida a 30 °C.

A fase móvel consistiu em ácido sulfúrico 0,05 M, operando em modo de eluição isocrático, com fluxo de 0,7 mL/min. O volume de injeção foi de 20 μ L, o tempo total de corrida cromatográfica foi de 10 minutos e a detecção foi realizada a 243,8 nm.

As amostras da fração potencialmente absorvível, obtidas após digestão *in vitro*, foram previamente filtradas em membrana de 0,45 μ m antes da injeção no sistema cromatográfico. A quantificação da vitamina C foi realizada por meio de curva analítica

externa construída com padrão de ácido L-ascórbico, e os resultados foram expressos em mg de vitamina C por 100 mL de amostra.

4.8.10 Determinação do perfil de antocianinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A análise do perfil de antocianinas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme metodologia descrita por Gouvêa et al. (2015). A separação cromatográfica foi efetuada em coluna BDS C18 Thermo (100 × 4,6 mm; 2,4 µm), mantida a 40 °C.

A fase móvel foi composta por solventes acidificados, operando em modo de eluição gradiente, conforme descrito na literatura de referência. O volume de injeção foi de 20 µL, com fluxo de 1,0 mL/min e tempo total de corrida cromatográfica de 20 minutos.

A detecção das antocianinas foi realizada por detector UV-Vis, em comprimento de onda característico para esses compostos. A quantificação foi efetuada por padronização externa, utilizando cianidina-3-glicosídeo como padrão, e os resultados foram expressos em mg de equivalente de cianidina-3-glicosídeo por 100 mL de amostra.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados são expressos como média ± desvio padrão. As diferenças estatísticas entre as médias foram avaliadas por análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste post hoc de Tukey, com nível de significância de $\alpha = 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica (versão 10.0, StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO

Na Tabela 2 podem ser observados os resultados da concentração por nanofiltração com a membrana em espiral foi eficiente na concentração dos principais compostos bioativos do suco de amora-preta. Observou-se aumento no teor de

antocianinas no retido ($54,3 \pm 2,67$ mg C3G/100 mL), correspondente a um fator de concentração de 2,2, também se observou uma elevação significativa dos teores de fenólicos totais e da atividade antioxidante avaliada pelos métodos ABTS e DPPH.

Tabela 2. Caracterização das frações de suco de amora obtidas no processo de nanofiltração

	Polpa de amora	Polpa Centrifugada	Permeado	Retido	FC
Atividade Antioxidante (ABTS) $\mu\text{mol/g}$	$8,28 \pm 0,81^a$	$9,31 \pm 0,46^a$	$1,90 \pm 0,11^b$	$18,04 \pm 0,40^c$	1,9
Atividade Antioxidante (DPPH) $\mu\text{mol/g}$	$4,28 \pm 0,08^a$	$4,76 \pm 0,16^a$	$1,48 \pm 0,07^b$	$8,05 \pm 0,36^c$	1,7
Teor de fenólicos totais mg AGE/100mL	$143,69 \pm 7,33^a$	$171,55 \pm 4,42^b$	$47,15 \pm 1,03^c$	$326,85 \pm 2,97^d$	1,9
Antocianinas mg C3G/100mL	$26,8 \pm 1,93^a$	$25,1 \pm 0,49^a$	$5,8 \pm 0,09^b$	$54,3 \pm 2,67^c$	2,2
pH	$3,50 \pm 0,01^a$	$3,48 \pm 0,01^a$	$3,51 \pm 0,01^a$	$3,40 \pm 0,02^b$	-
Teor de sólidos solúveis °Brix	$5,4 \pm 0,1^a$	$5,5 \pm 0,1^a$	$3,1 \pm 0,0^b$	$10,6 \pm 0,1^c$	1,9

Acidez total titulável g/mL	14,05± 0,40 ^a	13,97± 0,22 ^a	13,65± 1,24 ^a	22,13± 0,67 ^b	1,6
Teor de Sólidos Totais % m/v	4,07± 0,20 ^a	4,35± 0,03 ^a	2,03± 0,07 ^b	8,35± 0,03 ^c	1,9

OBS: FC (fator de concentração) Valores na mesma linha com letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

A polpa de amora integral e a polpa centrifugada demonstram que a centrifugação promove apenas modificações sutis na matriz, preservando o perfil geral da fruta. Embora pH, acidez titulável e teor de antocianinas permanecem estatisticamente semelhante, observa-se aumento significativo na atividade antioxidante e no teor de fenólicos totais na polpa centrifugada. Esse efeito é consistente com a remoção de sólidos insolúveis, que tende a concentrar compostos fenólicos solúveis e a melhorar a disponibilidade na fase líquida, como já descrito para outras frutas ricas em polifenóis (Celli & Brooks, 2017). Assim, a centrifugação não apenas mantém a integridade dos principais fitoquímicos, mas pode potencializar a fração bioativa, alinhando-se a evidências de que processos físicos suaves podem melhorar a acessibilidade de compostos antioxidantes em matrizes vegetais.

A retenção de antocianinas observada na fração retida pode ser atribuída não apenas à massa molar desses pigmentos, mas também à sua associação com outros compostos fenólicos e açúcares, formando agregados de maior massa molar aparente (He & Giusti, 2010). Em meio ácido, as antocianinas encontram-se predominantemente na forma de cátion flavílio, o que pode intensificar interações eletrostáticas e de adsorção com a superfície da membrana, contribuindo para maior rejeição (Cassano et al., 2011; Conidi et al., 2020). Esses mecanismos explicam a expressiva redução do teor de antocianinas no permeado e o consequente aumento da intensidade cromática e da atividade antioxidante no retido.

Resultados semelhantes foram reportados por Ghosh et al. (2018), que utilizaram um módulo de nanofiltração em espiral para a concentração de antocianinas extraídas de *Syzygium cumini*, obtendo concentração de 3,03 mg/mL no retido e fator de concentração próximo de 2,0. Outro trabalho observou um aumento significativo na retenção de antocianinas e intensificação da cor em sucos de frutas vermelhas processados por nanofiltração, associando esse efeito à eficiência hidrodinâmica dos módulos em espiral

(Zhang et al. 2019). Mihaylova et al. (2021) também relataram que processos por membranas favoreceram a concentração seletiva de compostos fenólicos em sucos de *berries*, resultando em maior atividade antioxidante e preservação das características sensoriais.

Estudos com diferentes matrizes, como sucos de morango (Arend et al., 2017) e subprodutos de maçã (Uyttendaele et al., 2018), relatam que módulos espirais permitem elevados fatores de concentração e preservação da cor e da atividade antioxidante. Esses dados reforçam a importância da geometria do módulo e do regime hidrodinâmico na eficiência de separação. Assim, as tendências observadas refletem principalmente as propriedades intrínsecas da membrana (como seu Molecular Weight Cut-Off) e as condições operacionais adotadas e não diferenças estruturais entre módulos.

A concentração do suco de amora por nanofiltração promoveu o aumento do teor de sólidos solúveis e de sólidos totais (FC = 1,9), resultado compatível com o reportado por Morelli et al. (2022) e Gaglianò et al. (2022) em sucos de maçã e frutas vermelhas processados por nanofiltração, nos quais o aumento do teor de sólidos solúveis foi associado à retenção simultânea de açúcares e compostos fenólicos. O aumento da concentração de ácidos orgânicos no suco retido promoveu um pequeno decréscimo no valor do pH, o que contribuiu para a estabilidade das antocianinas e preservação da cor, como relatado por Vilar et al. (2025) em sucos de amora concentrados por osmose inversa.

Na tabela 3 estão apresentados os valores dos parâmetros L*, a* e b* da polpa centrifugada, da fração permeada e do retido.

Tabela 3. Parâmetros de cor (L, a, b) das frações de polpa de amora-preta no processo de nanofiltração.

	L	a	b
Polpa Centrifugada	26,47±0,17 ^c	2,82±0,08 ^b	0,5±0,04 ^b
Permeado	27,27±0,14 ^b	6,23±0,31 ^a	2,6±0,19 ^a
Retido	26,41±0,73 ^b	4,98±0,17 ^b	1,78±0,48 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey (p < 0,05).

O aumento dos valores de L, a e b no permeado indica a passagem de moléculas com baixa contribuição cromática, resultando em uma solução mais clara e com leve deslocamento para tonalidades vermelho-amareladas. Esse comportamento está associado à permeação de fenólicos de baixa massa molar e produtos de degradação de

antocianinas, como ácidos fenólicos e flavonóides, que contribuem de forma menos expressiva para a cor (McDougall et al. 2005). Embora ambas as frações apresentem elevação nos parâmetros a^* e b^* , o retido exhibe valores mais elevados, refletindo a retenção preferencial de antocianinas intactas e complexos copigmentados durante o processo de concentração. Padrões semelhantes foram observados em matrizes pigmentadas submetidas à filtração por membranas, nas quais a seletividade baseada em tamanho e estrutura promove o enriquecimento de pigmentos no retido e a clarificação do permeado, como descrito na nanofiltração de vinhos tintos (Ivić et al. 2021).

Essas diferenças nos parâmetros de cor refletem diretamente a eficiência do processo de separação, especialmente no que diz respeito à capacidade do módulo espiral de reter pigmentos e compostos fenólicos. Os resultados obtidos neste estudo indicam que o uso do módulo em espiral favorece a manutenção da intensidade cromática do produto, possivelmente em função de sua elevada área efetiva de filtração e do melhor controle da polarização por concentração, características que contribuem para a maior retenção de compostos fenólicos e pigmentos no retido (Mulder, 1991; Cassano et al., 2011). Esse comportamento está de acordo com o que é descrito na literatura para processos de separação por membranas aplicados à concentração de sucos e extratos vegetais, nos quais a preservação de compostos bioativos está associada à eficiência do processo de concentração.

De forma consistente, Zhang et al. (2019) e Mihaylova et al. (2021), que avaliaram processos de nanofiltração e outras tecnologias de membranas aplicadas a sucos de frutas vermelhas e *berries*. Esses autores observaram que a intensificação da cor nas frações retidas está diretamente associada à maior concentração de antocianinas e copigmentos, resultado da seletividade da membrana para compostos de maior massa molar e maior capacidade cromática. Além disso, destacam que valores mais elevados de a^* e menores de b^* refletem maior estabilidade cromática e maior potencial antioxidante, uma vez que pigmentos intactos e complexos copigmentados tendem a ser preferencialmente retidos durante o processo de concentração. Assim, os padrões observados neste estudo reforçam o comportamento já descrito para matrizes altamente pigmentadas submetidas à separação por membranas.



Figura 9. Frações do processo de concentração por nanofiltração em espiral do suco de amora

Verificou-se que a nanofiltração proporcionou a retenção e o acúmulo de compostos pigmentados na fração retida, ao mesmo tempo em que originou permeados com maior luminosidade, conforme ilustrado na Figura 9, evidenciando a eficiência do processo na separação e concentração seletiva desses compostos.

O comportamento colorimétrico evidencia a seletividade do sistema em relação às frações pigmentadas da matriz. O aumento simultâneo dos parâmetros L, a e b no permeado indica a passagem preferencial de componentes menos intensamente coloridos ou parcialmente degradados, resultando em uma fração com maior luminosidade e tonalidade levemente deslocada para as regiões vermelho-amareladas, possivelmente em decorrência da remoção de antocianinas menos estáveis ou de menor massa molar.

Por sua vez, a fração retida apresentou aumento nos valores de a e b, característica de maior concentração de pigmentos vermelhos e amarelo-alaranjados, compatível com o acúmulo de antocianinas ao longo do processo de concentração. Esse comportamento é coerente com o descrito na literatura para a nanofiltração de matrizes pigmentadas, nas quais a retenção seletiva promove o enriquecimento da fração retida e a obtenção de permeados mais claros, conforme observado por Ivić et al. (2021) na nanofiltração de vinhos tintos.

Esses resultados demonstram que a nanofiltração é uma técnica adequada para a preservação da cor e da estabilidade funcional dos compostos de interesse nutricional, especialmente em produtos derivados de frutas ricas em antocianinas, como a amora-

preta. A combinação entre eficiência do processo de concentração, a manutenção da atividade antioxidante, estabilidade do pH e a intensificação da cor reforça o potencial desse sistema para aplicações industriais, em particular no desenvolvimento de bebidas funcionais e ingredientes naturais à base de frutas ricas em compostos fenólicos.

Diante das diferenças observadas entre as frações quanto à composição e aos parâmetros de cor, tornou-se relevante acompanhar como essas características evoluem durante o armazenamento. A Tabela 4 apresenta a caracterização química e colorimétrica do suco concentrado por nanofiltração ao longo do congelamento, permitindo avaliar sua estabilidade e a preservação dos atributos funcionais e visuais.

Tabela 4. Caracterização química e da cor do suco concentrado por nanofiltração ao longo do armazenamento sob congelamento.

	0	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias
Antocianinas monoméricas (mg/100 mL)	106,03±1,10 ^a	105,98±3,74 ^a	107,18±2,32 ^a	102,67±2,17 ^b	96,13±2,28 ^c
Compostos fenólicos (mg GAE/100 mL)	398,23±3,52 ^a	403,01±3,12 ^a	373,66±2,12 ^{ab}	344,25±2,48 ^{bc}	329,07±5,70 ^c
Atividade antioxidante TEAC (µmol Trolox/mL)	27,68±2,13 ^b	36,44±1,66 ^a	32,14±2,94 ^{ab}	29,93±1,21 ^b	28,96±1,21 ^b
Atividade antioxidante DPPH	19,40±1,60 ^{ab}	20,22±0,20 ^b	19,45±0,05 ^{ab}	16,70±0,66 ^{bc}	14,82±1,06 ^c

(μmol Trolox/mL)					
pH	3,19 $\pm$ 0,01 ^{bc}	3,26 $\pm$ 0,00 ^a	3,19 $\pm$ 0,01 ^c	3,25 $\pm$ 0,02 ^a	3,24 $\pm$ 0,02 ^{ab}
Acidez total titulável (g ácido cítrico/100 mL)	21,29 $\pm$ 0,16 ^a	20,77 $\pm$ 1,90 ^a	21,38 $\pm$ 0,06 ^a	21,39 $\pm$ 0,68 ^a	21,34 $\pm$ 0,67 ^a
Sólidos solúveis (°Brix)	15,2 $\pm$ 0,05 ^a	14,8 $\pm$ 0,05 ^{ab}	14,4 $\pm$ 0,25 ^{bc}	14,3 $\pm$ 0,15 ^c	14,0 $\pm$ 0,05 ^c
Sólidos Totais (% m/v)	13,60 $\pm$ 0,13 ^a	14,19 $\pm$ 0,09 ^a	13,34 $\pm$ 0,062 ^a	12,76 $\pm$ 3,13 ^a	12,19 $\pm$ 2,62 ^a
L*	29,40 $\pm$ 0,06 ^b	29,51 $\pm$ 0,06 ^b	27,83 $\pm$ 0,18 ^c	27,69 $\pm$ 0,27 ^c	30,90 $\pm$ 0,43 ^a
a*	8,10 $\pm$ 0,03 ^b	7,33 $\pm$ 0,01 ^c	8,28 $\pm$ 0,09 ^a	7,46 $\pm$ 0,06 ^a	8,20 $\pm$ 0,08 ^a
b*	1,99 $\pm$ 0,07 ^b	1,21 $\pm$ 0,03 ^a	3,09 $\pm$ 0,18 ^a	3,05 $\pm$ 0,20 ^a	1,29 $\pm$ 0,09 ^a

Valores na mesma linha com letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

As antocianinas monoméricas apresentaram elevada estabilidade ao longo de 60 dias de armazenamento, não sendo observadas diferenças significativas em relação ao tempo inicial. Ao final de 90 dias foi registrada uma redução de 9,57% na concentração, indicando que, o suco nanofiltrado congelado apresentou estabilidade para esse grupo de pigmentos durante a maior parte do período avaliado. A manutenção dos teores de antocianinas pode estar associada ao pH ácido do produto, bem como à inibição de reações de degradação enzimática sob condições de armazenamento em baixas temperaturas. Patras et al. (2010) destacam que o congelamento é uma das estratégias mais eficazes para a preservação de antocianinas em matrizes alimentares, corroborando os resultados observados neste estudo.

Castro-Muñoz (2024) relatou elevadas taxas de retenção de frações fenólicas (>97%) por nanofiltração, associadas à preservação de compostos termolábeis, o que favorece a manutenção da integridade estrutural desses compostos ao longo do armazenamento. Acosta et al. (2017) também observaram que a concentração de antocianinas e compostos elagitânicos em suco de amora (*Rubus adenotrichos*) por meio

de membranas com tamanho de poros próximo de 200 Da resultou em frações concentradas com boa estabilidade durante o armazenamento sob congelamento, indicando que a retenção seletiva desses compostos, aliada à redução da atividade enzimática e da exposição ao oxigênio, contribui para a preservação da qualidade do produto ao longo do tempo.

O teor de compostos fenólicos permaneceu estável até 30 dias de armazenamento. Aos 60 e 90 dias foram observadas reduções de 13,6 e 17,4%, respectivamente. Ainda assim, os valores permaneceram elevados, reforçando o potencial funcional do suco de amora concentrado mesmo após armazenamento. Estudos sobre estabilidade de compostos fenólicos em produtos à base de frutas vermelhas corroboram o padrão de perdas observado no presente trabalho. Saarniit et al. (2023) demonstraram que, em purês de frutas e *berries*, a degradação de fenólicos ao longo de até 182 dias de armazenamento foi influenciada pela matriz e pelas condições de estocagem. Pineli et al. (2015) relataram alterações na cor e no conteúdo de fenólicos em geleias de morango, durante armazenamento até 120 dias, indicando a sensibilidade desses compostos mesmo em matrizes processadas.

A redução gradual dos sólidos solúveis (°Brix) observada ao longo do armazenamento também acontecem em sucos industrializados. Benjuma et al. (2025) investigaram a estabilidade físico-química de sucos industriais comercializados, armazenados sob refrigeração a 4 °C, nos dias 1, 3 e 7 de armazenamento, e observaram diminuição dos sólidos solúveis ao longo do tempo. Tais alterações têm sido associadas a rearranjos internos da fração solúvel da matriz alimentar, possivelmente relacionados a interações físico-químicas entre açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos durante o armazenamento.

A análise de cor instrumental evidenciou variações nos parâmetros L^* , a^* e b^* ao longo do armazenamento, indicando mudanças na estabilidade cromática do suco concentrado. A redução da luminosidade (L^*) até 60 dias, associada ao aumento dos componentes vermelho (a^*) e amarelo (b^*) entre 30 e 60 dias, sugere instabilidade de cor relacionada principalmente à degradação das antocianinas. Essas alterações podem ser atribuídas a reações de oxidação, polimerização com outros compostos fenólicos, como taninos, e à formação de pigmentos marrons, fenômenos amplamente descritos durante o armazenamento de sucos e néctares de frutas vermelhas (Patras et al., 2010; Xue et al., 2024). A degradação progressiva das antocianinas ao longo do armazenamento está

diretamente relacionada às mudanças nos parâmetros de cor instrumental, especialmente em função do tempo e da temperatura de estocagem, resultando na formação de pigmentos mais estáveis, com coloração alterada (Wagner et al., 2023).

5.2 FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SUCO MISTO

As formulações avaliadas apresentaram diferenças na concentração de compostos bioativos e na capacidade antioxidante, mostrando a influência da composição das misturas sobre o perfil funcional do produto demonstrado na tabela 5.

Tabela 5. Caracterização das cinco formulações de suco misto de maçã, laranja e concentrado de amora ao longo do armazenamento sob refrigeração

	TEAC (μ mol Trolox/mL)	DPPH (μ mol Trolox/mL)	Compostos Fenólicos (mg GAE/100 mL)	Antocianinas monoméricas (mg/100 mL)	L*	a*	b*
T=0							
F1	0,39 $\pm$ 0,05 ^{eAB}	0,42 $\pm$ 0,02 ^{eA}	46,06 $\pm$ 0,44 ^{eA}	-	45,07 $\pm$ 0,07 ^{aB}	0,36 $\pm$ 0,05 ^{cB}	14,24 $\pm$ 0,25 ^{aAB}
F2	2,32 $\pm$ 0,14 ^{dB}	1,07 $\pm$ 0,08 ^{dB}	103,38 $\pm$ 0,75 ^{dA}	10,37 $\pm$ 0,50 ^{dB}	31,37 $\pm$ 0,20 ^{bC}	9,77 $\pm$ 0,06 ^{aB}	2,27 $\pm$ 0,11 ^{dA}
F3	4,45 $\pm$ 0,19 ^{cB}	1,99 $\pm$ 0,06 ^{cA}	140,79 $\pm$ 3,23 ^{cA}	18,27 $\pm$ 1,33 ^{cC}	29,49 $\pm$ 0,37 ^{cC}	9,01 $\pm$ 0,04 ^{aA}	2,66 $\pm$ 0,27 ^{cA}
F4	6,95 $\pm$ 0,58 ^{bB}	3,06 $\pm$ 0,03 ^{bA}	176,21 $\pm$ 0,63 ^{bB}	37,37 $\pm$ 2,79 ^{bAB}	28,13 $\pm$ 0,30 ^{dC}	7,70 $\pm$ 0,21 ^{bB}	3,20 $\pm$ 0,34 ^{bA}
F5	8,04 $\pm$ 0,29 ^{aB}	3,16 $\pm$ 0,19 ^{aB}	245,09 $\pm$ 3,51 ^{aB}	42,20 $\pm$ 3,07 ^{aB}	27,69 $\pm$ 0,27 ^{dC}	7,46 $\pm$ 0,06 ^{bA}	3,05 $\pm$ 0,20 ^{bA}
T = 7 dias							
F1	0,39 $\pm$ 0,04 ^{eB}	0,35 $\pm$ 0,01 ^{eB}	42,98 $\pm$ 3,88 ^{eB}	-	47,23 $\pm$ 0,08 ^{aA}	0,11 $\pm$ 0,01 ^{eA}	14,68 $\pm$ 0,06 ^{aA}
F2	2,50 $\pm$ 0,24 ^{dB}	1,04 $\pm$ 0,02 ^{dB}	104,44 $\pm$ 0,28 ^{dA}	20,69 $\pm$ 2,90 ^{dA}	32,76 $\pm$ 0,08 ^{bA}	9,81 $\pm$ 0,06 ^{aAB}	1,11 $\pm$ 0,02 ^{cB}

F3	4,76 ± 0,45 ^{cAB}	1,53 ± 0,10 ^{cB}	140,11 ± 7,86 ^{cA}	27,62 ± 3,81 ^{cB}	30,91 ± 0,07 ^{cA}	8,79 ± 0,03 ^{bB}	1,29 ± 0,05 ^{dC}
F4	7,75 ± 0,73 ^{bA}	2,83 ± 0,16 ^{bB}	213,62 ± 6,17 ^{bA}	40,47 ± 3,40 ^{bA}	30,08 ± 0,11 ^{dA}	7,84 ± 0,11 ^{cA}	1,44 ± 0,02 ^{cC}
F5	10,25 ± 0,31 ^{aA}	3,87 ± 0,09 ^{aA}	260,75 ± 6,25 ^{aA}	54,03 ± 6,91 ^{aA}	29,68 ± 0,12 ^{cA}	7,36 ± 0,03 ^{dB}	1,55 ± 0,07 ^{bC}
T=15 dias							
F1	0,46 ± 0,04 ^{eA}	0,43 ± 0,02 ^{eA}	30,53 ± 0,66 ^{cC}	-	45,88 ± 0,07 ^{aB}	-0,32 ± 0,04 ^{cB}	13,43 ± 0,11 ^{dA}
F2	3,25 ± 0,31 ^{dA}	1,41 ± 0,14 ^{cA}	87,15 ± 1,15 ^{dB}	20,49 ± 1,38 ^{cA}	32,04 ± 0,05 ^{bB}	9,84 ± 0,01 ^{aA}	1,30 ± 0,08 ^{eB}
F3	5,22 ± 0,12 ^{cA}	1,27 ± 0,09 ^{dC}	124,22 ± 3,08 ^{cB}	34,75 ± 1,45 ^{bA}	30,20 ± 0,26 ^{cB}	8,83 ± 0,07 ^{bB}	1,77 ± 0,06 ^{aB}
F4	6,98 ± 0,08 ^{aB}	3,09 ± 0,25 ^{aA}	135,17 ± 0,69 ^{bC}	34,82 ± 4,23 ^{bB}	29,48 ± 0,07 ^{dB}	7,87 ± 0,05 ^{cA}	1,93 ± 0,07 ^{cB}
F5	6,12 ± 0,21 ^{bC}	3,23 ± 0,31 ^{bB}	206,98 ± 3,83 ^{aC}	43,94 ± 1,95 ^{aB}	28,87 ± 0,15 ^{cB}	7,46 ± 0,07 ^{dA}	1,94 ± 0,06 ^{bB}

ID- Identificação da formulação; F1 – 50% Maçã, 50% Laranja e 0% Amora; F2 – 50% Maçã, 37,5% Laranja e 12,5% Amora; F3 – 50% Maçã, 25% Laranja e 25% Amora; F4 – 50% Maçã, 12,5% Laranja e 37,5% Amora; F5 – 50% Maçã, 0% Laranja e 50% Amora. Valores expressos como média ± desvio-padrão (n = 3) Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05). Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Foi observado um comportamento consistente entre as formulações à medida que a proporção de suco de amora concentrado aumentou. O incremento dessa fruta resultou em elevação significativa da capacidade antioxidante, compostos fenólicos totais e antocianinas, refletindo a elevada densidade de compostos bioativos da amora, conforme amplamente descrito para frutas ricas em polifenóis (Kähkönen et al., 1999). Essa tendência foi evidente tanto no tempo inicial quanto ao longo do armazenamento, indicando que, embora ocorra degradação natural de antocianinas e outros compostos sensíveis (Castañeda-Ovando et al., 2009), a contribuição funcional da amora permanece expressiva durante todo o período estudado, o que está alinhado com Marsol-Vall,

Laaksonen e Yang (2019), que demonstraram que matrizes ricas em antocianinas apresentam maior retenção de compostos bioativos durante o armazenamento.

A partir de F2 e F3, o aumento progressivo da fração de amora promoveu elevações significativas das antocianinas, evidenciando que o acréscimo dessa fruta é o principal responsável pelo fortalecimento do perfil bioativo das amostras. Apesar da redução gradual dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante ao longo do armazenamento, fenômeno esperado devido à degradação oxidativa e térmica (Patras et al., 2010), as formulações com maior proporção de amora (F4 e F5) apresentaram maior estabilidade relativa. Esse comportamento sugere que a matriz rica em antocianinas e polifenóis exerce efeito protetor, reduzindo a taxa de degradação, como já relatado em sistemas alimentares complexos (Oancea; Drăghici, 2013).

A formulação F4 demonstrou desempenho superior em relação às formulações com menor teor de amora, destacando a importância da maior contribuição da matriz pigmentada para o aumento do potencial antioxidante do produto. O aumento simultâneo dos teores de compostos fenólicos e de antocianinas sugere a ocorrência de um possível efeito sinérgico entre as diferentes classes de polifenóis presentes na bebida de fruta, fenômeno amplamente relatado em matrizes de frutas pigmentadas e bebidas funcionais, nas quais as interações entre compostos podem potencializar a capacidade antioxidante global (Tzima et al., 2023; Joshi et al., 2022).

Embora as antocianinas apresentem tendência natural à degradação durante o armazenamento devido à sua sensibilidade à luz, oxigênio e pH (He & Giusti, 2010), as formulações mais pigmentadas mantiveram níveis superiores desses compostos até o final do período, indicando maior resistência à perda de cor e capacidade funcional. Esse comportamento é coerente com estudos que demonstram maior estabilidade de antocianinas em matrizes ricas em pigmentos e compostos fenólicos, como frutas escuras e bebidas funcionais (Wallace & Giusti, 2015).

Os resultados estão alinhados com literatura que evidenciam a influência direta da composição das polpas utilizadas sobre a intensidade e estabilidade funcional de bebidas mistas, demonstrando que formulações com maior proporção de frutas pigmentadas tendem a apresentar maior densidade de compostos bioativos e maior capacidade antioxidante. Resultados semelhantes foram observados por Grobelna et. al. (2019), que verificaram aumento significativo dos teores de compostos fenólicos, antocianinas e da capacidade antioxidante em suco de maçã enriquecido com suco de madressilva azul.

Ao longo do armazenamento, verificou-se que L* e b* apresentaram maior estabilidade relativa, enquanto o parâmetro a* sofreu maior variação, refletindo a degradação gradual das antocianinas pigmentos diretamente responsáveis pela coloração avermelhada. Esse comportamento é amplamente descrito na literatura, que aponta o parâmetro a* como o mais sensível às alterações estruturais das antocianinas (Giusti & Wrolstad, 2003). Ainda assim, as formulações com maior teor de amora mantiveram coloração mais intensa e estável, reforçando maior estabilidade cromática em bebidas com maior concentração de frutas pigmentadas (Cisse et al., 2011).

Observou-se, ainda, elevação dos valores de a*, indicando intensificação da coloração avermelhada característica das antocianinas, acompanhada por uma redução nos valores de b*, que representa a diminuição da tonalidade amarelada e o predomínio de tons arroxeados. Essas variações demonstram que as antocianinas presentes na amora exercem forte influência sobre a coloração final dos sucos mistos, atuando como pigmentos dominantes capazes de mascarar os tons mais claros provenientes das outras frutas da formulação. Resultados semelhantes foram relatados por Lugo-Zárate et al. (2024), que observaram, em sucos mistos e fermentados de amora, uma relação direta entre o aumento do teor de amora a estabilidade e intensidade da cor durante o armazenamento.

A Tabela 6 apresenta o perfil das antocianinas identificadas no suco misto das diferentes formulações, evidenciando a influência da proporção de amora na composição e no teor desses compostos bioativos.

Tabela 6. Perfil das antocianinas identificadas no suco misto das diferentes formulações.

ID	Cianidina-3-O- Glicosídeo (mg/100 mL)	Cianidina-3-O- Rutinosídeo (mg/100 mL)	Antocianina não identificada (mg/100 mL)	Antocianina não identificada (mg/100 mL)	Antocianinas Totais (mg/100 mL)
F2	1,36 ± 0,29 ^d	0,11 ± 0,02 ^d	0,06 ± 0,01 ^d	0,05 ± 0,01 ^d	1,56 ± 0,33 ^d
F3	2,66 ± 0,01 ^c	0,17 ± 0,01 ^c	0,08 ± 0,00 ^c	0,08 ± 0,00 ^c	2,99 ± 0,01 ^c
F4	10,22 ± 0,33 ^b	0,85 ± 0,01 ^b	0,38 ± 0,03 ^b	0,40 ± 0,03 ^b	11,84 ± 0,28 ^b
F5	15,34 ± 0,93 ^a	1,29 ± 0,03 ^a	0,47 ± 0,01 ^a	0,54 ± 0,01 ^a	17,63 ± 0,94 ^a

ID – Identificação das amostras; F2 – 50% Maçã, 37,5% Laranja e 12,5% Amora; F3 – 50% Maçã, 25% Laranja e 25% Amora; F4 – 50% Maçã, 12,5% Laranja e 37,5% Amora; F5 – 50% Maçã, 0% Laranja e 50% Amora. Valores expressos como média ± desvio-padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Observou-se aumento progressivo das concentrações de cianidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-rutinosídeo e das antocianinas não identificadas à medida que a proporção de amora aumentou nas formulações F2 para F5. Esse comportamento está de acordo com a literatura, que descreve a amora como uma das principais fontes de antocianinas. Entre esses compostos, a cianidina-3-O-glicosídeo é amplamente reconhecida como a antocianina predominante em frutos do gênero *Rubus*, sendo também a principal responsável pela atividade antioxidante associada a esses produtos (Sadowska-Bartosz et al., 2024).

O aumento significativo do teor de antocianinas totais com a substituição gradual do suco de laranja por suco de amora confirma que essa estratégia promoveu o enriquecimento funcional do suco misto. Estudos recentes envolvendo sucos e extratos de frutas vermelhas demonstram que formulações com maior participação de amora apresentam não apenas maior concentração, mas também maior diversidade de antocianinas, resultando em intensificação da coloração e maior potencial antioxidante (Mohammadi et al., 2024). Os maiores valores observados nas formulações F4 e F5 estão em consonância com dados da literatura, que apontam a composição da matriz vegetal como fator determinante do perfil fenólico final do produto.

A estabilidade das antocianinas em bebidas à base de frutas é influenciada pela composição da matriz, proporção dos ingredientes e condições de armazenamento. Lv et al. (2022) demonstraram que variações no teor de antocianinas e na capacidade antioxidante podem estar associadas a uma liberação inicial de compostos fenólicos ou à formação de complexos com maior reatividade antioxidante, seguida por degradação oxidativa em períodos mais prolongados. Esses mecanismos ajudam a interpretar os resultados observados neste estudo, especialmente quando associados aos dados de armazenamento.

5.3 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO* DO SUCO MISTO

A Tabela 7 apresenta os valores de cianidina-3-O-glicosídeo na fração digerida e sua respectiva bioacessibilidade nas diferentes formulações de suco misto, permitindo avaliar o efeito da composição da matriz sobre a liberação desse composto após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Tabela 7. Bioacessibilidade das Cianidina-3-O-Glicosídeo nas formulações do suco misto

ID	Cianidina-3-O-Glicosídeo	
	Digerido (mg/100mL)	Bioacessibilidade (%)
F2	NQ	-
F3	0,57 ± 0,05 ^c	18,93 ± 4,27 ^{ab}
F4	1,43 ± 0,14 ^b	14,67 ± 1,50 ^b
F5	3,52 ± 0,01 ^a	22,98 ± 0,08 ^a

ID – Identificação das amostras; F2 – 50% Maçã, 37,5% Laranja e 12,5% Amora; F3 – 50% Maçã, 25% Laranja e 25% Amora; F4 – 50% Maçã, 12,5% Laranja e 37,5% Amora; F5 – 50% Maçã, 0% Laranja e 50% Amora. Valores expressos como média ± desvio-padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A bioacessibilidade da cianidina-3-O-glicosídeo variou entre as formulações avaliadas, evidenciando a influência combinada da concentração inicial e da composição da matriz alimentar sobre a fração efetivamente liberada após a digestão gastrointestinal simulada. A formulação F2 apresentou valores abaixo do limite de quantificação, o que pode ser atribuído ao baixo teor inicial de antocianinas e à possível complexação com componentes da matriz, dificultando sua liberação durante a digestão (McDougall et al., 2005; Brodkorb et al., 2019). Em contraste, as formulações F3, F4 e F5 apresentaram concentrações mensuráveis no fluido digerido.

Para as formulações com teor detectável, a concentração de cianidina-3-O-glicosídeo na fração digerida variou de 0,57 a 3,52 mg/100 mL, correspondendo a valores de bioacessibilidade entre 14,67% e 22,98%. Observou-se uma redução expressiva do teor do composto após a digestão, consistente com estudos prévios que demonstram que a cianidina-3-O-glicosídeo, especialmente em sistemas líquidos, é altamente suscetível às condições da fase intestinal simulada. Essa perda é atribuída principalmente à hidratação do cátion flavílio, à conversão em formas estruturais menos estáveis e à degradação catalisada pelo pH próximo à neutralidade (Yang et al., 2018). Resultados semelhantes têm sido reportados para outras matrizes líquidas complexas, como vinhos tintos, nos quais perdas significativas de antocianinas são frequentemente relatadas após a digestão gastrointestinal simulada (Yang et al., 2018). Além disso, a maior perda observada em formulações mais pigmentadas, como F4, sugere que o aumento da concentração inicial

não garante proporcional aumento da fração bioacessível, possivelmente devido à formação de complexos de copigmentação ou interações com outros fenólicos que reduzem a solubilidade e a liberação durante a digestão (Bouayed et al., 2011).

Além disso, a estabilidade das antocianinas em bebidas à base de frutas é modulada por fatores como composição da matriz, proporção dos ingredientes e condições de armazenamento, os quais podem influenciar tanto a liberação inicial quanto a degradação progressiva desses compostos ao longo do processo digestivo (Lv et al., 2022). Componentes como pectinas, açúcares redutores, ácidos orgânicos e outros polifenóis podem atuar como copigmentos, estabilizando as antocianinas antes da digestão, mas também podem formar complexos que dificultam sua liberação no ambiente intestinal (Rein, 2005). A viscosidade da matriz e a presença de fibras solúveis também podem modular a difusão e a solubilização das antocianinas, afetando diretamente a bioacessibilidade (Kamiloglu et al., 2014).

Em estudo com diferentes sucos de frutas, incluindo sucos de amora e de uva preta, Mihaylova et al. (2021) observaram reduções acentuadas na bioacessibilidade de antocianinas após a digestão gastrointestinal. Os autores atribuíram esses comportamentos à elevada instabilidade estrutural das antocianinas em condições próximas à neutralidade, destacando que esses compostos são mais suscetíveis à degradação quando comparados a outras classes de fitoquímicos, como ácidos fenólicos e flavonoides não antociânicos.

Esse comportamento reforça que a bioacessibilidade não depende apenas da concentração inicial, mas também da estrutura química específica antocianinas glicosiladas, como a cianidina-3-O-glicosídeo, são particularmente vulneráveis à hidrólise e rearranjos estruturais durante a digestão (Castañeda-Ovando et al., 2009; He & Giusti, 2010). Adicionalmente, os autores evidenciaram que, mesmo em matrizes líquidas homogêneas, a bioacessibilidade dos compostos bioativos não depende exclusivamente da concentração inicial, mas é fortemente modulada por interações com componentes da matriz, como açúcares, ácidos orgânicos e outros fenólicos, os quais podem afetar tanto a liberação quanto a estabilidade durante o processo digestivo.

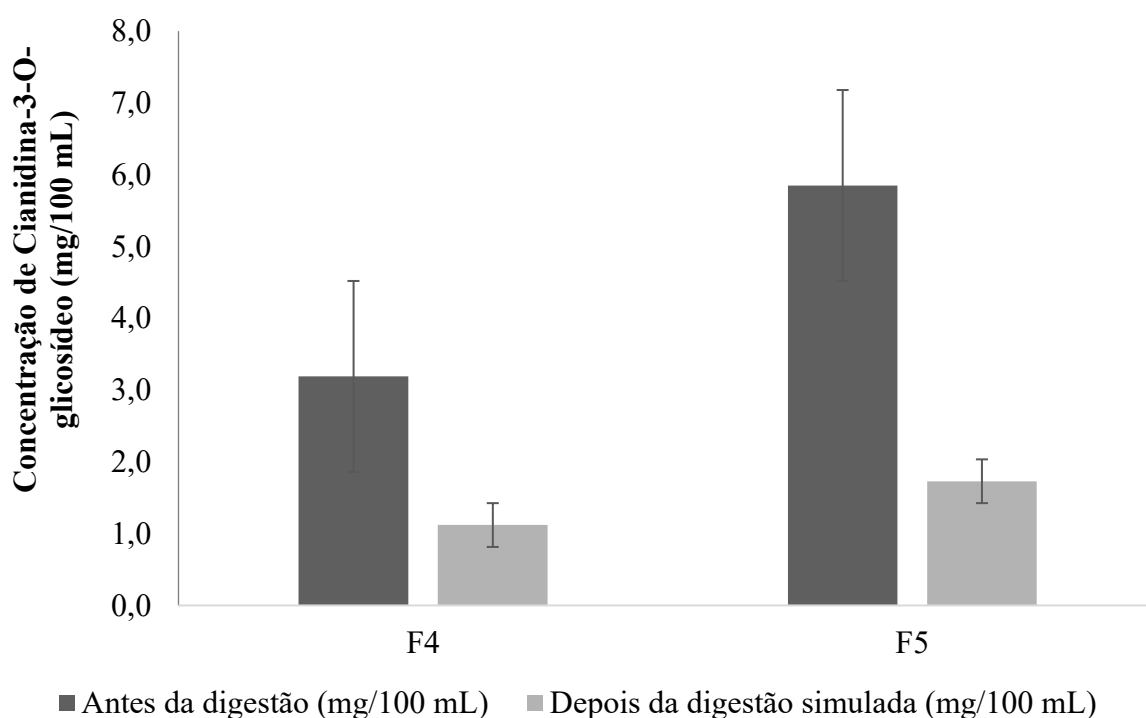
As evidências encontradas também sugerem que a baixa bioacessibilidade não implica necessariamente baixa atividade biológica, uma vez que metabólitos gerados durante a digestão como ácidos fenólicos derivados da degradação das antocianinas

podem apresentar elevada atividade antioxidante e contribuir para efeitos benéficos no organismo (Aura, 2008; Victoria-Campos et al. 2024).

5.4 DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO* DO SUCO MISTO COM ÁCIDO ASCÓRBICO ADICIONADO

A suplementação com ácido ascórbico teve como finalidade avaliar sua influência sobre a estabilidade e a bioacessibilidade das antocianinas ao longo da digestão gastrointestinal *in vitro*. Evidências da literatura indicam que o ácido ascórbico pode atuar como agente pró-oxidante em sistemas contendo antocianinas, acelerando sua degradação por mecanismos redox. Esse processo resulta em diminuição da absorbância, alterações cromáticas e redução da estabilidade do pigmento, especialmente em matrizes acidificadas submetidas a condições de estocagem (Chung et al., 2015; Gamarra-Castillo et al., 2025). A Figura 10 apresenta as concentrações de cianidina-3-O-glicosídeo nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, correspondentes à fração bioacessível.

Figura 10. Concentração de Cianidina-3-O-glicosídeo nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão simulada *in vitro*.



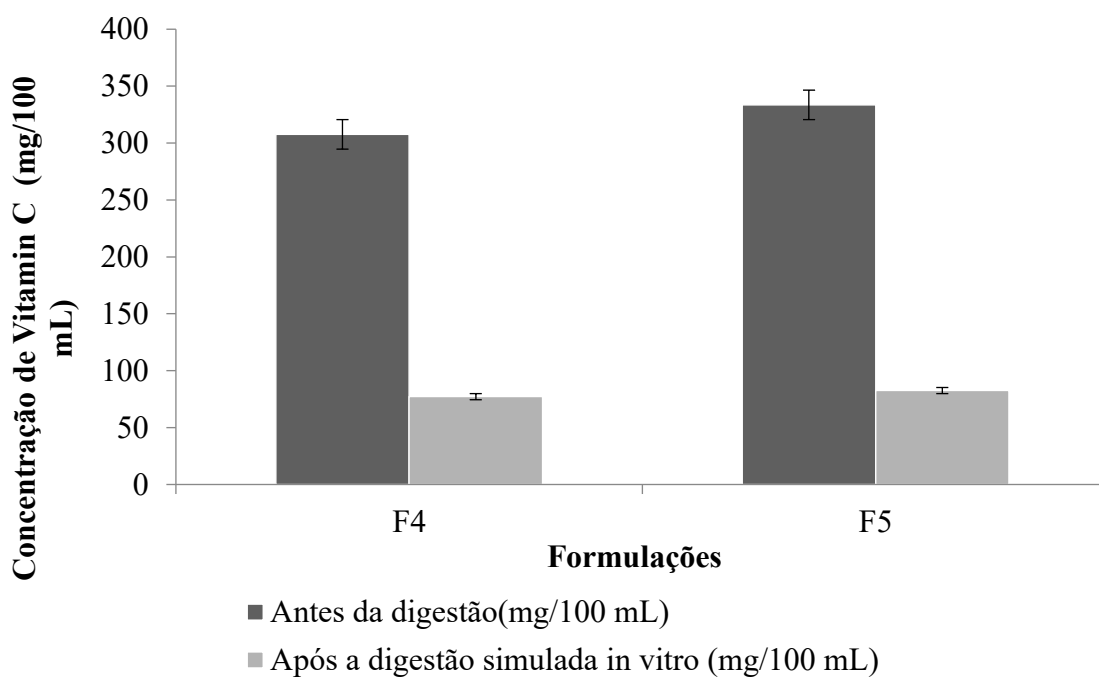
De modo geral, observou-se redução expressiva da concentração de cianidina-3-O-glicosídeo após a digestão, independentemente da formulação avaliada. García-Viguera et al. (1999) demonstraram que antocianinas e ácido ascórbico podem sofrer um processo de degradação em sistemas aquosos, especialmente sob condições de estocagem e exposição prolongada ao oxigênio. Esses resultados sustentam a interpretação de que, em matrizes armazenadas e relativamente estáticas, a interação entre ácido ascórbico e antocianinas tende a ser deletéria.

Estudos que utilizaram o protocolo INFOGEST demonstram de maneira consistente que a fase intestinal constitui o principal obstáculo para a estabilidade das antocianinas, independentemente da matriz alimentar avaliada. Sánchez-Velázquez et al. (2021), ao investigarem amoras silvestres e comerciais, observaram que, embora parte das antocianinas seja liberada e parcialmente preservada durante as fases oral e gástrica, ocorre degradação acentuada na etapa intestinal, com perdas superiores a 70%, atribuídas principalmente ao aumento do pH e à consequente instabilidade estrutural desses compostos. Isso indica que, durante a simulação da fase intestinal, os mecanismos de instabilidade das antocianinas são predominantemente governados pela estrutura química, sendo o pH o fator determinante do seu destino, mais do que a composição específica da matriz ou a presença de outros antioxidantes.

Nesse contexto, a ausência de degradação adicional da cianidina-3-O-glicosídeo após a adição de ácido ascórbico não contradiz a literatura, mas está relacionada às condições específicas do sistema avaliado. Estudos de armazenamento, realizados em sistemas aquosos relativamente estáticos e com exposição prolongada ao oxigênio, indicaram a interação entre antocianinas e ácido ascórbico tende a favorecer reações oxidativas, resultando em maior degradação dos pigmentos (García-Viguera et al., 1999). No presente estudo, entretanto, a digestão gastrointestinal simulada representa um ambiente dinâmico e de curta duração, no qual o principal fator de instabilidade das antocianinas é a variação de pH ao longo das fases digestivas. Nessas condições, os mecanismos associados às reações redox envolvendo o ácido ascórbico tornam-se secundários, o que explica a ausência de efeito degradativo adicional sobre as antocianinas observada nas formulações avaliadas.

A Figura 11 apresenta as concentrações de vitamina C nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Figura 11. Concentração de vitamina C nas formulações F4 e F5 antes e após a digestão simulada *in vitro*.



Os resultados apresentados na Figura 11 demonstram uma redução pronunciada da concentração de vitamina C após a digestão. Mihaylova et al. (2021), ao avaliarem a digestão *in vitro* de diferentes sucos de frutas, observaram comportamento semelhante para sucos cítricos, como suco de laranja (*Citrus × sinensis*) e suco de toranja (*Citrus × paradisi*), nos quais a vitamina C apresentou redução acentuada após a fase intestinal. Os autores relataram que, apesar dos elevados teores iniciais de vitamina C nessas matrizes, a fração bioacessível foi significativamente reduzida durante a digestão, evidenciando a elevada instabilidade desse composto sob condições digestivas simuladas.

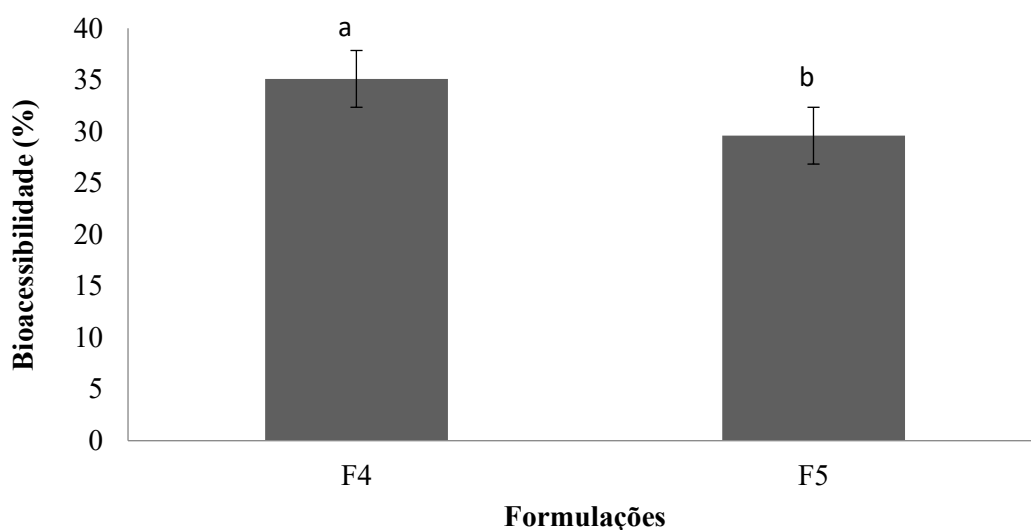
Esses resultados reforçam que a degradação da vitamina C durante a digestão *in vitro* é um fenômeno recorrente em matrizes líquidas à base de frutas, sendo predominantemente governado por fatores intrínsecos ao ambiente digestivo, como pH, oxidação e dinâmica do sistema, mais do que pela composição específica da matriz alimentar.

De forma integrada, as figuras 10 e 11 indicam que tanto a cianidina-3-O-glicosídeo quanto a vitamina C sofrem reduções substanciais após a digestão *in vitro*, sem

evidencia degradação adicional das antocianinas associada à presença do ácido ascórbico. Esse comportamento está de acordo com estudos que mostram que, durante a digestão gastrointestinal simulada, a vitamina C e as antocianinas se degradam por mecanismos distintos e não necessariamente interdependentes (Mihaylova et al., 2021).

A Figura 12 apresenta as bioacessibilidade da cianidina-3-O-Glicosídeo nas formulações F4 e F5.

Figura 12. Bioacessibilidade da Cianidina-3-O-Glicosídeo



Valores expressam a bioacessibilidade média (%) $\pm$ erro-padrão ($n = 3$) da Cianidina-3-O-Glicosídeo após digestão *in vitro*. A ANOVA seguida de teste de Tukey indicou diferença significativa entre as formulações ($p < 0,05$).

A formulação F5, que contém apenas maçã e amora, tendo assim um teor maior inicial de antocianinas, apresenta menor bioacessibilidade relativa e pode estar associada a fenômenos de agregação molecular e copigmentação entre antocianinas, que são mais prováveis em sistemas com elevada concentração desses compostos. A literatura descreve que, em concentrações mais elevadas, antocianinas tendem a formar complexos intermoleculares e interagir mais intensamente com outros constituintes da matriz, o que pode reduzir sua solubilidade e dificultar a liberação durante a digestão gastrointestinal (Brouillard; Delaporte, 1977; Yang et al., 2018).

Esse resultado sugere que existe um intervalo ótimo de enriquecimento em antocianinas no qual a estabilidade digestiva e a liberação no fluido intestinal são favorecidas. A maior bioacessibilidade da cianidina-3-O-glicosídeo observada na

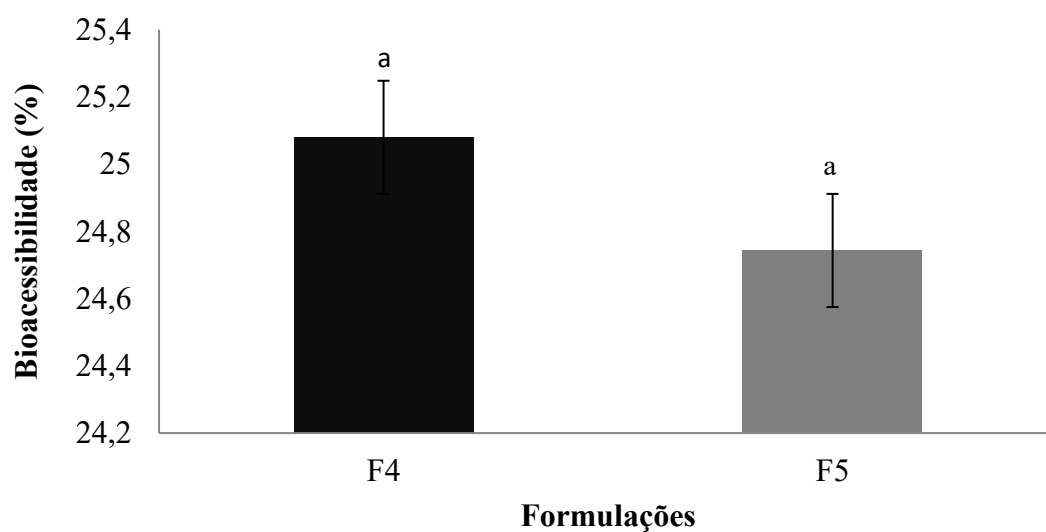
formulação F4 encontra respaldo em estudos que demonstram que a liberação e a estabilidade digestiva de antocianinas não aumentam linearmente com a concentração inicial do composto. Patras et al. (2010) relataram que sistemas com teores moderados de antocianinas podem apresentar maior retenção após processamento e digestão, em comparação com matrizes mais concentradas, em função de menor agregação molecular e menor suscetibilidade às transformações estruturais irreversíveis.

Estudos com sucos e matrizes líquidas demonstram que a composição da matriz exerce papel determinante na liberação e na estabilidade transitória de antocianinas no fluido intestinal, favorecendo fração bioacessível mais elevada quando comparada à sistemas altamente concentrados ou à extratos isolados (Sánchez-Velázquez et al., 2021; Mihaylova et al., 2021).

Revisões recentes apontam que efeitos de matriz, incluindo interações com outros fitoquímicos, podem atenuar a velocidade de degradação das antocianinas durante a fase intestinal, resultando em maior retenção da fração solúvel, mesmo sob condições quimicamente desfavoráveis (Prado et al., 2022; Nascimento et al., 2023). Esses achados reforçam que a bioacessibilidade das antocianinas não depende exclusivamente do teor inicial do composto, mas do equilíbrio entre concentração e organização da matriz alimentar, o que pode explicar o comportamento observado para a formulação F4.

A Figura 13 apresenta as bioacessibilidade da Vitamina C nas formulações F4 e F5.

Figura 13. Bioacessibilidade da Vitamina C



Valores representam a bioacessibilidade média da vitamina C (%) das formulações F4 e F5 (n = 3). As análises estatísticas (ANOVA seguida de teste de Tukey, $p > 0,05$) indicaram ausência de diferença significativa entre as formulações.

A bioacessibilidade da vitamina C nas formulações F4 e F5 manteve-se em torno de 25%, sem diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p > 0,05$). Esse resultado indica que, apesar das diferenças na composição das formulações e no teor inicial de vitamina C, a fração efetivamente disponível após a digestão gastrointestinal simulada foi semelhante.

Estudos com digestão gastrointestinal simulada demonstraram que a bioacessibilidade da vitamina C varia amplamente em função da matriz alimentar e das condições digestivas, com valores reportados entre aproximadamente 2% e 90% para diferentes frutas e vegetais, refletindo a elevada instabilidade desse composto durante o processo digestivo (Öztürk et al., 2022).

Entre os fatores determinantes, destaca-se a transição da fase gástrica para a intestinal, na qual o aumento do pH para valores próximos à neutralidade favorece a oxidação do ácido ascórbico a deidroascórbico e subseqüentes reações irreversíveis, tornando a vitamina C um dos compostos mais suscetíveis à degradação durante a digestão *in vitro*. Em matrizes líquidas naturalmente ricas em vitamina C, como sucos de laranja (*Citrus × sinensis*) e toranja (*Citrus × paradisi*), estudos mostram que a bioacessibilidade do ácido ascórbico é consistentemente limitada e pouco sensível a variações moderadas na composição da matriz, com valores tipicamente situados entre 20% e 40% após a digestão simulada (MIHAYLOVA et al., 2021). Esse comportamento reforça que a estabilidade da vitamina C é intrinsecamente baixa sob condições intestinais simuladas, independentemente da formulação. Assim, os valores observados no presente estudo estão em consonância com dados previamente reportados para bebidas à base de frutas, indicando que a digestão gastrointestinal representa um ponto crítico para a preservação da vitamina C e constitui um fator limitante dominante para sua bioacessibilidade.

5.5 ANÁLISE SENSORIAL

A Tabela 9 apresenta as médias das notas de impressão global das formulações. Não foram observadas diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$), e os valores obtidos indicam boa aceitação sensorial pelos consumidores.

Tabela 9. Médias das notas de impressão global das formulações avaliadas por consumidores

Amostra	Média ± DP
F2	6,53 ± 2,02 ^a
F3	6,85 ± 2,01 ^a
F4	6,68 ± 2,01 ^a
F5	6,88 ± 2,01 ^a

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os resultados indicaram que não houve diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$), evidenciando que as formulações apresentaram níveis semelhantes de aceitação. As médias alcançadas refletem um padrão de aceitação positiva, evidenciando que, independentemente da proporção de amora, os sucos foram percebidos como agradáveis pelos consumidores. Resultados semelhantes foram relatados por Nascimento et al. (2024), que observaram elevada aceitação sensorial em sucos mistos avaliados por consumidores de diferentes regiões brasileiras, mesmo diante de variações na composição das formulações. Esses resultados reforçam que bebidas mistas tendem a apresentar boa aceitação global, confirmando a viabilidade sensorial do produto desenvolvido.

Além disso, Mihaylova et al. (2021) reforçam que bebidas à base de frutas vermelhas tendem a manter boa aceitação global, sugerindo que a aceitabilidade sensorial do produto não depende exclusivamente da fruta escolhida, mas também do equilíbrio sensorial proporcionado pela matriz.

6 CONCLUSÃO

A nanofiltração constitui uma alternativa tecnológica eficiente para a obtenção de suco de amora-preta concentrado em antocianinas, atendendo plenamente ao primeiro objetivo proposto. O processo permitiu elevar significativamente o teor de compostos bioativos, resultando em um produto com maior intensidade cromática e potencial para aplicação no desenvolvimento de bebidas funcionais.

Quanto à estabilidade do suco concentrado, verificou-se que o armazenamento sob congelamento por 60 dias preservou satisfatoriamente os compostos fenólicos, antocianinas e a capacidade antioxidante, evidenciando que o concentrado obtido por nanofiltração apresentou boa estabilidade físico-química ao longo do tempo. Esses achados confirmam o atendimento do segundo objetivo específico e reforçam a viabilidade tecnológica do processo.

A partir do concentrado obtido, foi possível formular um suco misto com diferentes proporções de amora, maçã e laranja, cumprindo o terceiro objetivo. As formulações apresentaram características físico-químicas e funcionais coerentes com a composição da matriz, demonstrando que o concentrado pode ser incorporado de forma eficiente em sistemas alimentares líquidos.

No que se refere à bioacessibilidade, observou-se que a cianidina-3-O-glicosídeo manteve-se detectável após a digestão gastrointestinal simulada, e que a presença de ácido ascórbico não promoveu degradação adicional das antocianinas. Esses resultados reforçam que o comportamento das antocianinas é fortemente dependente do contexto químico e físico da matriz, indicando que a vitamina C pode atuar como modulador da estabilidade antioxidante em formulações complexas. Assim, o quarto objetivo específico foi plenamente atendido.

Por fim, a aceitabilidade sensorial do suco misto foi confirmada por meio de avaliação com 107 consumidores, que atribuíram notas relativamente altas às formulações, sem diferenças significativas entre elas ($p > 0,05$). Esses resultados demonstram que, independentemente da proporção de amora, o produto apresenta boa aceitação global, atendendo ao quinto objetivo e confirmando sua aceitação sensorial e potencial de mercado.

Considerando o conjunto dos resultados, observa-se que a nanofiltração contribui não só para a concentração e manutenção de compostos bioativos, mas também para o desenvolvimento de bebidas mistas estáveis, bioacessíveis e sensorialmente bem avaliadas, contribuindo para o avanço científico e tecnológico na área de bebidas funcionais à base de frutas vermelhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). *Official methods of analysis*. 17. ed. Washington, D.C.: AOAC, 2000.

ACOSTA, Ó. G.; VAILLANT, F.; PÉREZ, A.; DORNIER, M. Concentration of polyphenolic compounds in blackberry (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) juice by nanofiltration. *Journal of Food Process Engineering*, v. 40, 2017. DOI: 10.1111/jfpe.12343.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Conceitos e definições – medicamentos. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/medicamentos/conceitos-e-definicoes>. Acesso em: 17 dez. 2023.

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, jan./fev. 2002. DOI: 10.1590/S0103-84782002000100026.

AREND, G. D.; ADORNO, W. T.; REZZADORI, K.; DI LUCCIO, M.; CHAVES, V. C.; REGINATTO, F. H.; PETRUS, J. C. C. Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) juice by nanofiltration membrane. *Journal of Food Engineering*, v. 201, p. 36-41, 2017. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.01.014.

AURA, A. M. Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochemistry Reviews*, v. 7, p. 407–429, 2008.

AYVAZ, H.; CABAROGLU, T.; AKYILDIZ, A.; PALA, C. U.; TEMIZKAN, R.; AĞÇAM, E.; AYVAZ, Z.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; DIREITO, R.; DIACONEASA, Z. Anthocyanins: metabolic digestion, bioavailability, therapeutic effects, current pharmaceutical/industrial use, and innovation potential. *Antioxidants*, v. 12, n. 1, p. 48, 2022. DOI: 10.3390/antiox12010048.

BANDEIRA REIDEL, R. V.; MELAI, B.; CIONI, P.; FLAMINI, G.; PISTELLI, L. Aroma profile of *Rubus ulmifolius* flowers and fruits during different ontogenetic phases. *Chemistry & Biodiversity*, v. 13, n. 12, p. 1776-1784, 2016. DOI: 10.1002/cbdv.201600170.

BANVÖLGYI, S.; KISS, I.; BEKÁSSY-MOLNÁR, E.; VATAI, G. Concentration of red wine by nanofiltration. *Desalination*, v. 198, p. 8–15, 2006.

BOUAYED, J.; HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties. *Food Chemistry*, v. 128, p. 14–21, 2011.

BOUYAHYA, A.; OMARI, N. EL; EL HACHLAFI, N.; JEMLY, M. EL; HAKKOUR, M.; BALAHBIB, A.; EL MENYIY, N.; BAKRIM, S.; NACEIRI MRABTI, H.; KHOUCHLAA, A.; MAHOMOODALLY, M. F.; CATAURO, M.; MONTESANO, D.; ZENGİN, G. Chemical compounds of berry-derived polyphenols and their effects on gut microbiota, inflammation, and cancer. *Molecules*, v. 27, n. 10, p. 3286, 2022. DOI: 10.3390/molecules27103286.

BRAGA, A. R. C.; DE SOUZA MESQUITA, L. M.; MARTINS, P. L. G.; HABU, S.; DE ROSSO, V. V. Lactobacillus fermentation of juçara pulp leads to the enzymatic conversion of anthocyanins increasing antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 69, p. 162-170, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BRODKORB, A.; EGGER, L.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; ASSUNÇÃO, R.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, v. 14, n. 4, p. 991-1014, 2019. DOI: 10.1038/s41596-018-0119-1.

CAI, M.; XIE, C.; ZHONG, H.; TIAN, B.; YANG, K. Identification of anthocyanins and their fouling mechanisms during non-thermal nanofiltration of blueberry aqueous extracts. *Membranes*, v. 11, n. 3, p. 200, 2021. DOI: 10.3390/membranes11030200.

CALAI, F. A. Produção e qualidade de frutos de amoreira-preta submetidas a diferentes intensidades de podas. 2019. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis) — Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2019. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/3591/1/CALAI.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2025.

CANDELA, R. G.; LAZZARA, G.; PIACENTE, S.; BRUNO, M.; CAVALLARO, G.; BADALAMENTI, N. Conversion of organic dyes into pigments: extraction of flavonoids from blackberries (*Rubus ulmifolius*) and stabilization. *Molecules*, v. 26, n. 20, p. 6278, 2021. DOI: 10.3390/molecules26206278.

CARBONELL-CAPELLA, J. M.; BUNIOWSKA, M.; BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 13, n. 2, p. 155-171, 2014. DOI: 10.1111/1541-4337.12049.

CARVALHO, P. G. B.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. *Horticultura Brasileira*, v. 24, n. 4, 2006.

CASSANO, A.; CONIDI, C.; DRIOLI, E. Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) using membrane processes. *Journal of Food Engineering*, v. 107, n. 3-4, p. 366–373, 2011. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.07.021.

CASTRO-MUÑOZ, R. Nanofiltration-assisted concentration processes of phenolic fractions and carotenoids from natural food matrices. *Separations*, v. 11, p. 64, 2024. DOI: 10.3390/separations11020064.

ČECHOVIČIENĖ, I.; VIŠKELIS, J.; VIŠKELIS, P.; HALLMANN, E.; KRUK, M.; TARASEVIČIENĖ, Ž. Bioactive and sensory compounds in by-products of

blackberry cultivars (*Rubus fruticosus* L.). *Horticulturae*, v. 10, p. 862, 2024. DOI: 10.3390/horticulturae10080862.

CELLI, G. B.; BROOKS, M. S. Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison with anthocyanins: a current review. *Food Research International*, v. 100, p. 501-509, 2017. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.08.034.

CELLI, G. B.; DIBAZAR, R.; GHANEM, A.; BROOKS, M. S. L. Degradation kinetics of anthocyanins in freeze-dried microencapsulates from lowbush blueberries (*Vaccinium angustifolium* Aiton). *Drying Technology*, v. 34, n. 10, p. 1175-1184, 2016.

CHARCOSSET, C. Membrane processes in biotechnology: an overview. *Biotechnology Advances*, v. 24, n. 5, p. 482-492, 2006. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.03.002.

CHERYAN, M. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1998.

CISSÉ, M.; VAILLANT, F.; PALLET, D.; DORNIER, M. Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, v. 44, p. 2607-2614, 2011. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.04.046.

CONIDI, C.; DRIOLI, E.; CASSANO, A. Perspective of membrane technology in pomegranate juice processing: a review. *Foods*, v. 9, n. 7, p. 889, 2020. DOI: 10.3390/foods9070889.

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols: dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, v. 43, n. 4, p. 348-361, 2007.

DERRICK, S. A.; KRISTO, A. S.; REAVES, S. K.; SIKALIDIS, A. K. Effects of dietary red raspberry consumption on pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus parameters. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 17, p. 9364, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18179364.

EMBRAPA. Pesquisadores desenvolvem amora-preta para produção de geleias e sucos. Disponível em: <https://www.embrapa.gov.br>. Acesso em: 5 ago. 2024.

EMBRAPA. Sistema de produção da amoreira-preta. Pelotas: Embrapa, 2023. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1155983>. Acesso em: 5 fev. 2026.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos e perfil de antocianinas em amora-preta (*Rubus* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2, p. 464-472, 2010.

FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. Food colorants: anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989. DOI: 10.1080/10408398909527503.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. *Journal of Food Science*, v. 33, n. 1, p. 72–77, 1968. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1968.tb00887.x.

GAGLIANÒ, M.; CONIDI, C.; DE LUCA, G.; CASSANO, A. Partial removal of sugar from apple juice by nanofiltration and discontinuous diafiltration. *Membranes*, v. 12, p. 712, 2022. DOI: 10.3390/membranes12070712.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 5, p. 1370-1373, 2005.

GILEWICZ-LUKASIK, B.; KOTER, S.; KURZAWA, J. Concentration of anthocyanins by membrane filtration. *Separation and Purification Technology*, v. 57, p. 418–424, 2007.

GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, v. 14, p. 217-225, 2003. DOI: 10.1016/S1369-703X(02)00221-8.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by ultraviolet-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, p. F1.2.1–F1.2.13, 2001.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NÓBREGA, R. *Processos de separação com membranas*. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ, 2006.

HARBORNE, J. B. *Comparative biochemistry of the flavonoids*. London: Academic Press, 1967.

HE, J.; GIUSTI, M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 1, p. 163-187, 2010. DOI: 10.1146/annurev.food.080708.100754.

HILAL, N.; AL-ZOUBI, H.; DARWISH, N. A.; MOHAMMAD, A. W.; ARABI, M. A comprehensive review of nanofiltration membranes: treatment, pretreatment, modelling, and atomic force microscopy. *Desalination*, v. 170, p. 281-308, 2004.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S. M. F. *Biodisponibilidade de nutrientes*. São Paulo: Manole, 2009. p. 772-807.

HUMMER, K. E.; WILLIAMS, K. A.; BUSHAKRA, J. North American crop wild relatives of temperate berries (*Fragaria* L., *Ribes* L., *Rubus* L., and *Vaccinium* L.). In: GREENE, S.; WILLIAMS, K.; KHOURY, C.; KANTAR, M.; MAREK, L. *North American crop wild relatives*. Cham: Springer, 2019. p. 283-327. DOI: 10.1007/978-3-319-97121-6_9.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp.). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 32, n. 1, p. 245-260, 2011. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32n1p245.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, p. 3954–3962, 1999.

KAMILOGLU, S.; CAPIANOGLU, E.; OZKAN, M.; APAYDIN, E.; ÖZKAYA, B.; ŞANLIER, N. Anthocyanin absorption and metabolism by human intestinal Caco-2 cells: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, p. 21555–21574, 2014.

KAUME, L.; HOWARD, L. R.; DEVAREDDY, L. The blackberry fruit: composition, chemistry, metabolism, bioavailability, and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 23, p. 5716–5727, 2011.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York: Chapman & Hall, 1998.

LEBEDEV, V. G.; LEBEDEVA, T. N.; VIDYAGINA, E. O.; SOROKOPUDOV, V. N.; POPOVA, A. A.; SHESTIBRATOV, K. A. Relationship between phenolic compounds and antioxidant activity in berries and leaves of raspberry genotypes. *Antioxidants*, v. 11, p. 1961, 2022. DOI: 10.3390/antiox11101961.

MARKETSANDMARKETS. Functional food ingredients market. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com>. Acesso em: 17 set. 2024.

MARSOL VALL, A.; LAAKSONEN, O.; YANG, B. Effects of processing and storage on phenolic compounds and anthocyanins in berry juices. *Food Chemistry*, v. 283, p. 279–286, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.04.076.

MATOS, F. M.; RASERA, G. B.; CASTRO, R. J. S. Insects as a sustainable source of proteins and bioactive compounds: an updated review. *Sustainable Food Technology*, v. 2, p. 19–31, 2024. DOI: 10.1039/d3fb00097d.

MCDUGALL, G. J.; SHAPIRO, F.; DOBSON, P.; SMITH, P.; BLAIR, J.; STEWART, D. Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 5896–5904, 2005.

MEMETE, A. R.; SĂRAC, I.; TEUSDEA, A. C.; BUDĂU, R.; BEI, M.; VICAS, S. I. Bioactive compounds and antioxidant capacity of blackberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Horticulturae*, v. 9, p. 556, 2023. DOI: 10.3390/horticulturae9050556.

MIHAYLOVA, D.; DESSEVA, I.; STOYANOVA, M.; PETKOVA, N.; TERZYISKA, M.; LANTE, A. Impact of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phytochemicals. *Molecules*, v. 26, n. 4, p. 1187, 2021. DOI: 10.3390/molecules26041187.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food: an international consensus. *Food & Function*, v. 5, p. 1113–1124, 2014.

MORELLI, R.; CONIDI, C.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; D'AVELLA, M.; TIMPONE, R.; CASSANO, A. Production of high-quality red fruit juices by athermal membrane processes. *Molecules*, v. 27, p. 7435, 2022. DOI: 10.3390/molecules27217435.

MULDER, M. *Basic principles of membrane technology*. 2. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991.

NEMZER, B. V.; KALITA, D.; YASHIN, A. Y.; YASHIN, Y. I. Bioactive compounds, antioxidant activities, and health benefits of selected commercial berry fruits: a review. *Journal of Food Research*, v. 9, p. 78–101, 2020.

OANCEA, S.; DRĂGHICI, O. Anthocyanins: from biosynthesis in plants to human health benefits. *Acta Universitatis Cibiniensis*, v. 17, p. 3–16, 2013.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Química Nova*, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

ONGKOWIJOYO, P.; LUNA-VITAL, D. A.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: an update. *Food Chemistry*, v. 250, p. 113-126, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.055.

PAREDES-LÓPEZ, O.; CERVANTES-CEJA, M. L.; VIGNA-PÉREZ, M.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T. Berries: improving human health and healthy aging and promoting quality of life: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 65, n. 3, p. 299-308, 2010. DOI: 10.1007/s11130-010-0177-1.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man: the potential for nutritional enhancement. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, n. 7, p. 985-1012, 2000.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods. *Trends in Food Science & Technology*, v. 21, p. 3-11, 2010.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

REIN, M. *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins*. 2005. Tese (Doutorado) — University of Helsinki, Helsinki, 2005.

RENARD, C.; MAINGONNAT, J. F. Thermal processing of fruits and fruit juices. In: _____. *Thermal processing of fruits and fruit juices*. Boca Raton: CRC Press, 2012. DOI: 10.1201/b12112-19.

REYES-CARMONA, J.; YOUSEF, G. G.; MARTÍNEZ-PENICHE, R. A.; LILA, M. A. Antioxidant capacity of blackberry (*Rubus* sp.) extracts produced in different climatic regions. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 7, p. 497-503, 2005.

RODA-SERRAT, M. C.; SCHYTT-NIELSEN, J. F.; BRAEKEVELT, S.; DZHANZEFOVA, T.; JØRNSGAARD, B.; NORDDAHL, B.; ERRICO, M. Processing of black carrot juice by nanofiltration and forward osmosis. *Chemical Engineering Transactions*, v. 87, p. 547-552, 2021. DOI: 10.3303/CET2187092.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J.; ROJAS-GRAÜ, M. A.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Soymilk phenolic compounds and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, v. 136, n. 1, p. 206-212, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.115.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Determinação da atividade

antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

SÁNCHEZ-VELÁZQUEZ, O. A.; MULERO, M.; CUEVAS-RODRÍGUEZ, E. O.; MONDOR, M.; ARCAND, Y.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J. *In vitro* gastrointestinal digestion impact on stability and bioaccessibility of polyphenols. *Food & Function*, v. 12, n. 14, p. 7358-7378, 2021. DOI: 10.1039/d1fo00986a.

SARBATLY, R. H. J. *Membrane technology for water and wastewater treatment in rural regions*. Hershey: IGI Global, 2020.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, v. 101, p. 492-501, 2007.

SCHULZ, M.; CHIM, J. F. Nutritional and bioactive value of *Rubus* berries. *Food Bioscience*, v. 31, p. 100438, 2019. DOI: 10.1016/j.fbio.2019.100438.

SHON, H. K.; PHUNTSHO, S.; CHAUDHARY, D. S.; VIGNESWARAN, S.; CHO, J. Nanofiltration for water and wastewater treatment: a mini review. *Drinking Water Engineering and Science*, v. 6, p. 47–53, 2013. DOI: 10.5194/dwes-6-47-2013.

SIGURDSON, G. T.; GIUSTI, M. M. The stability and absorption of anthocyanins in the mouth. In: BROOKS, M. S.-L.; CELLI, G. B. *Anthocyanins from natural sources: exploiting targeted delivery for improved health*. London: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 186–215.

SILVA, R. S.; LIRA, H. L. Obtenção de membranas cerâmicas de carbetto de silício e alumina para aplicação em processos de separação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, 11., 2014, Campina Grande. *Anais [...]*. Campina Grande: UFCG, 2014.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E.; PEREIRA, C. B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus* L. hybrids) anthocyanins and

antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 26, p. 8021-8030, 2004. DOI: 10.1021/jf048619y.

SOUSA, M. B.; CURADO, T.; NEGRÃO E VASCONCELLOS, F.; TRIGO, M. J. Amora — qualidade pós-colheita. Lisboa: Instituto Nacional de Recursos Biológicos, 2007. Disponível em: https://www.inia.pt/images/publicacoes/livros-manuais/amora_qualidade_pos_colheita.pdf. Acesso em: 12 ago. 2025.

TEOW, Y.; CHONG, W.; LAU, W. J.; XIE, M. Manufacturing spiral wound element of thin film composite membrane: contemporary methods and sustainable approaches. *Current Opinion in Chemical Engineering*, v. 47, p. 101082, 2025. DOI: 10.1016/j.coche.2024.101082.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, v. 93, n. 2, p. 166-171, 2009. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2009.01.027.

UYTTEBROEK, M.; VANDEZANDE, P.; VAN DAEL, M.; VERBERCKMOES, A.; DEPAEPE, J.; VAN DER BRUGGEN, B. Concentration of phenolic compounds from apple pomace extracts by nanofiltration. *Journal of Food Process Engineering*, v. 41, e12629, 2018. DOI: 10.1111/jfpe.12629.

VARZARU, I.; OANCEA, A. G.; VLAICU, P. A.; SARACILA, M.; UNTEA, A. E. Exploring the antioxidant potential of blackberry and raspberry leaves. *Antioxidants*, v. 12, p. 2125, 2023. DOI: 10.3390/antiox12122125.

VICTORIA-CAMPOS, C. I.; ORNELAS-PAZ, J. D. J.; RIOS-VELASCO, C.; RUIZ-CRUZ, S.; ORNELAS-PAZ, J.; DEL TORO-SÁNCHEZ, C. L.; MÁRQUEZ-RÍOS, E.; CALDERÓN-LOERA, R. Relevance of anthocyanin metabolites generated during digestion. *Foods*, v. 13, p. 4066, 2024. DOI: 10.3390/foods13244066.

VILAR, J.; MONTEIRO, F.; CORRÊA-FILHO, L.; GOMES, F.; TONON, R.; FREITAS-SÁ, D.; FREITAS, S.; CABRAL, L. Chemical and sensory evaluation of blackberry (*Rubus* sp.) juice concentrated by membrane processes. *Membranes*, v. 15, p. 10, 2025. DOI: 10.3390/membranes15010010.

VIZZOTTO, M. Sistema de produção da amoreira-preta. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 23 jul. 2024.

WAGNER, A.; DUSSLING, S.; NOWAK, A.; KUNZ, B.; SCHMITT, M.; SCHERER, R. Stability of anthocyanins in model solutions and blackcurrant juices. *European Food Research and Technology*, v. 249, p. 1771–1784, 2023. DOI: 10.1007/s00217-023-04252-7.

WALLACE, T. C.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins. *Advances in Nutrition*, v. 6, n. 5, p. 620-622, 2015. DOI: 10.3945/an.115.009233.

WANG, J.; YE, J.; VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice. *Food Control*, v. 96, p. 128-136, 2019.

WANG, Y. H.; ZHU, J. L.; ZHAO, C. G.; ZHANG, J. C. Removal of trace organic compounds from wastewater by ultrasonic enhancement. *Desalination*, v. 186, n. 1-3, p. 89–96, 2005. DOI: 10.1016/j.desal.2005.04.058.

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.

APÊNDICES

Figura 14. Perfil Cromatográfico das Antocianinas na Formulação F2

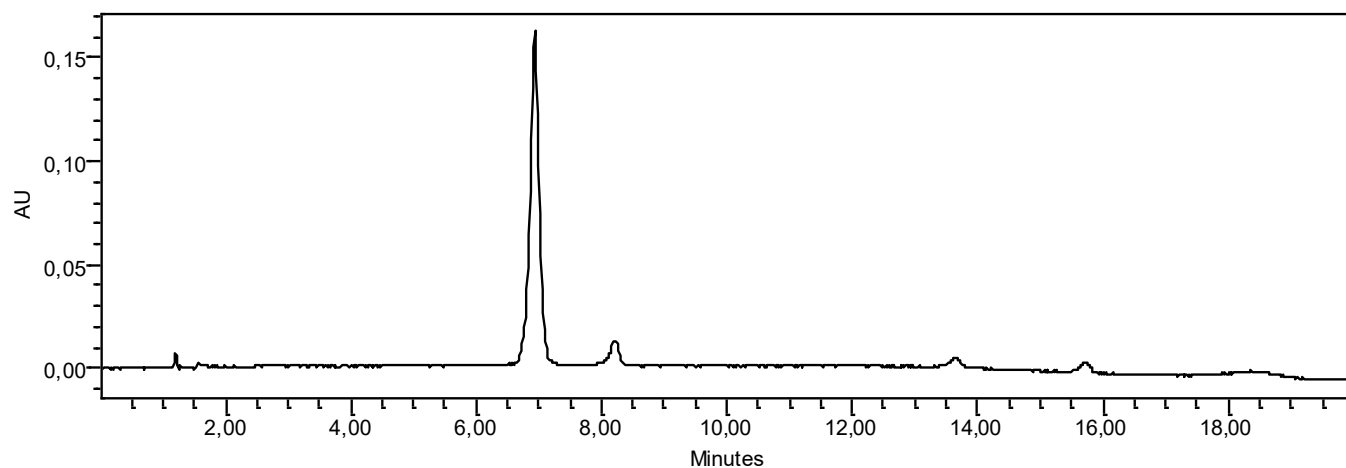


Figura 15. Perfil Cromatográfico das Antocianinas na Formulação F3

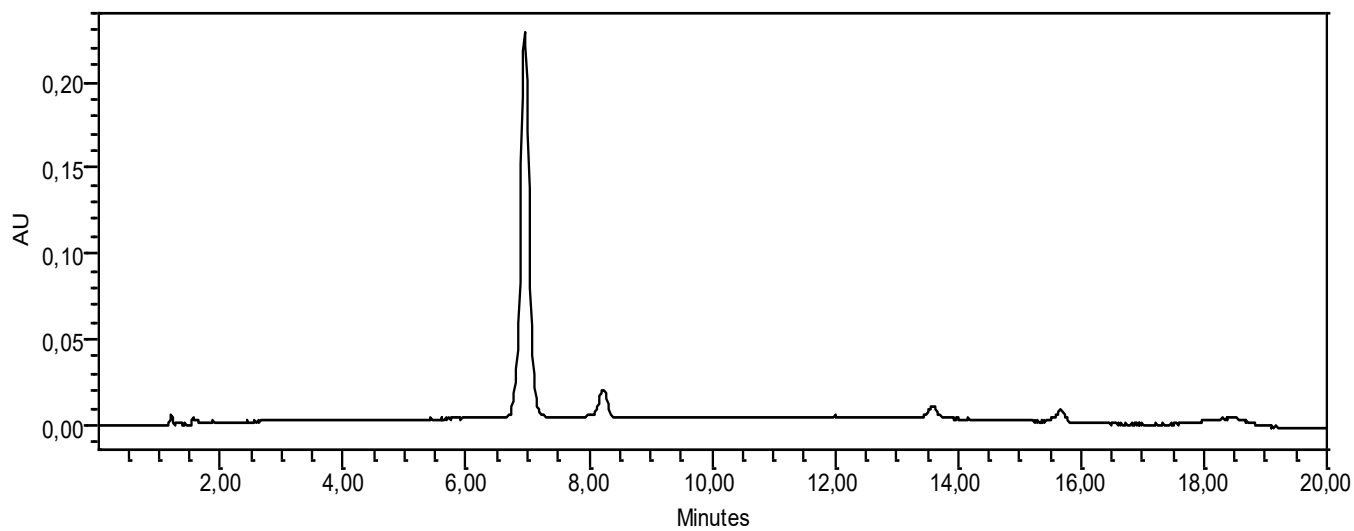


Figura 16. Perfil Cromatográfico das Antocianinas na Formulação F4

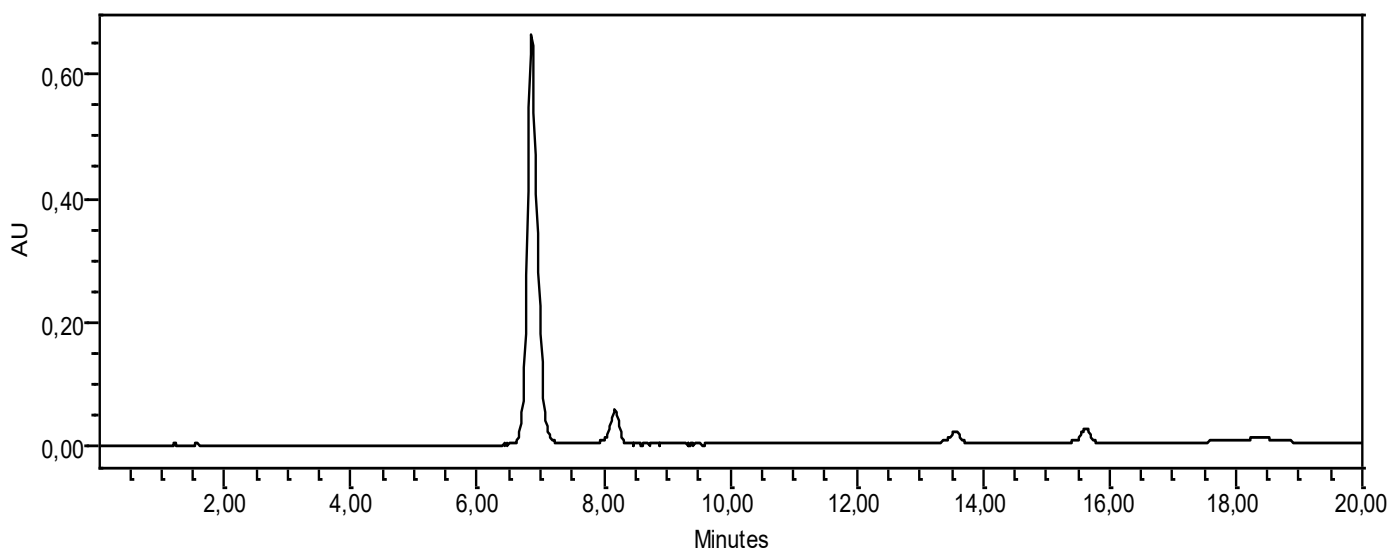


Figura 17. Perfil Cromatográfico das Antocianinas na Formulação F5

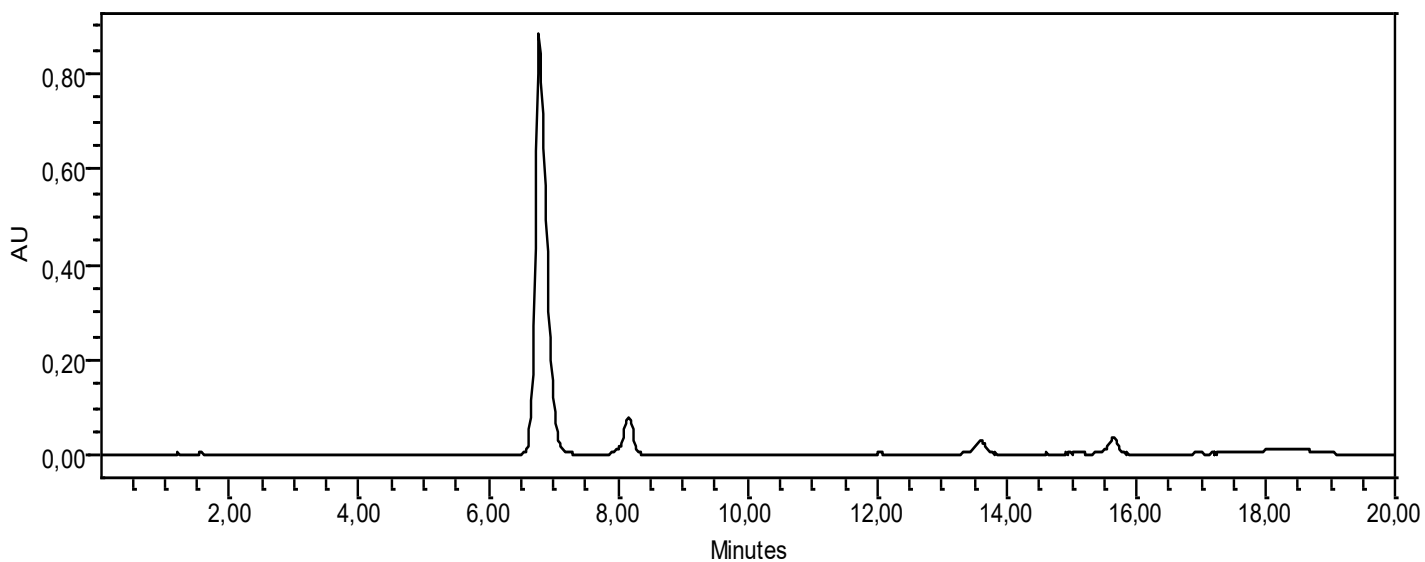


Figura 18. Vitamina C na Formulação F4

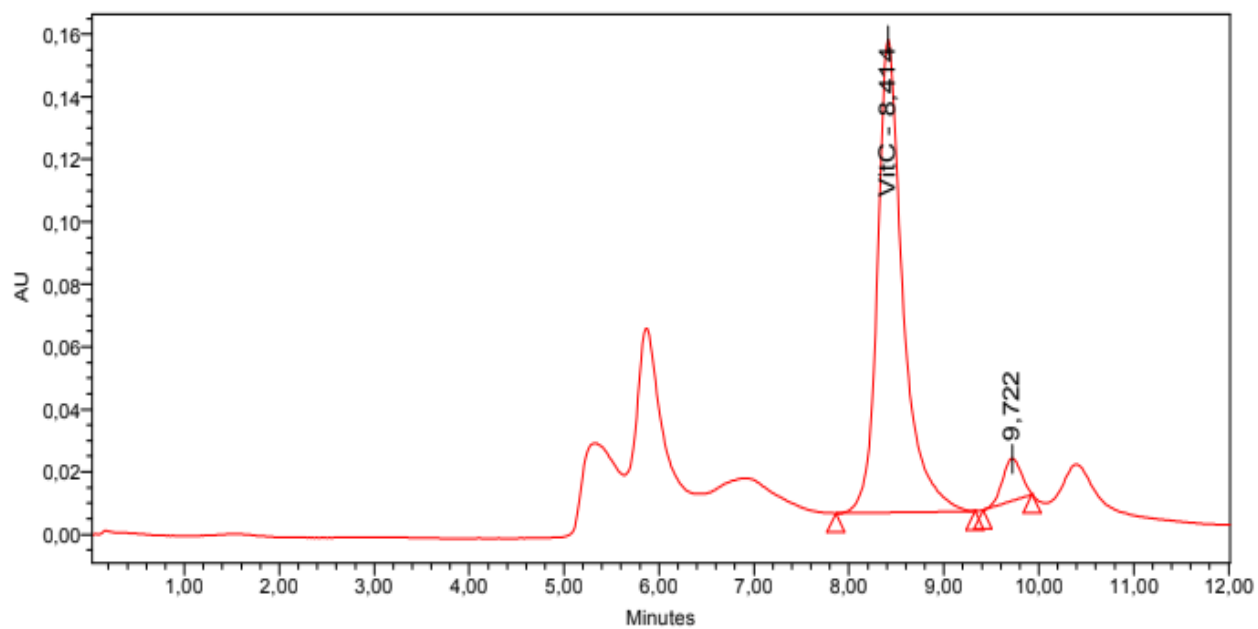


Figura 19. Vitamina C na Formulação F5

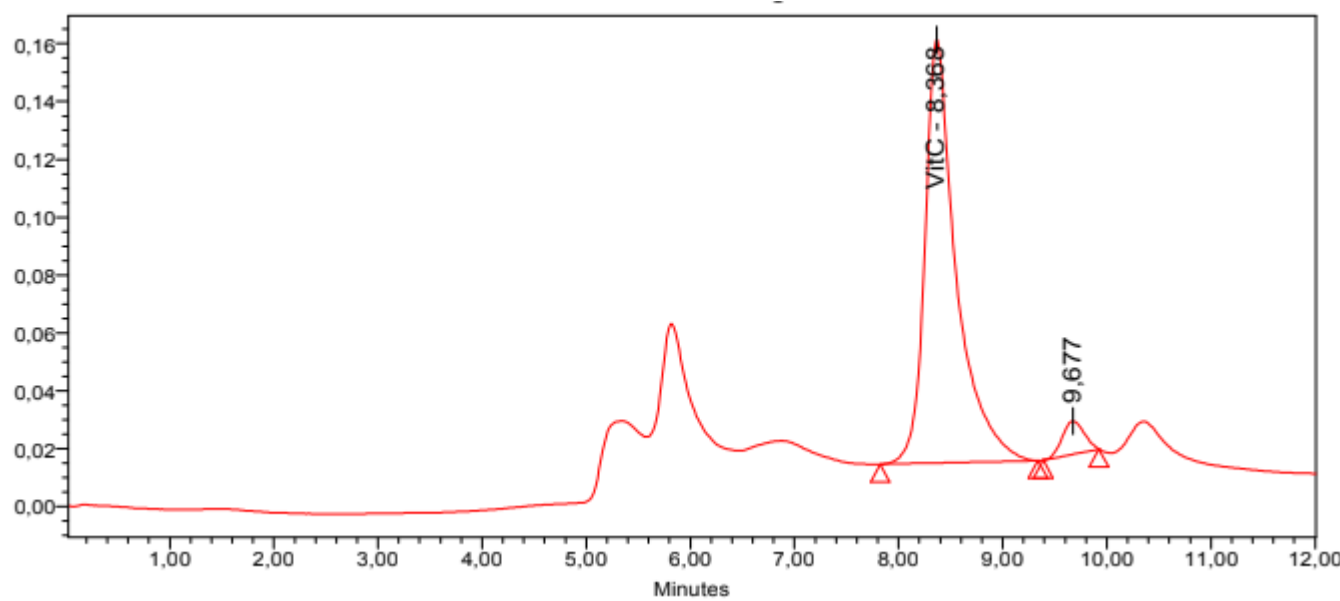
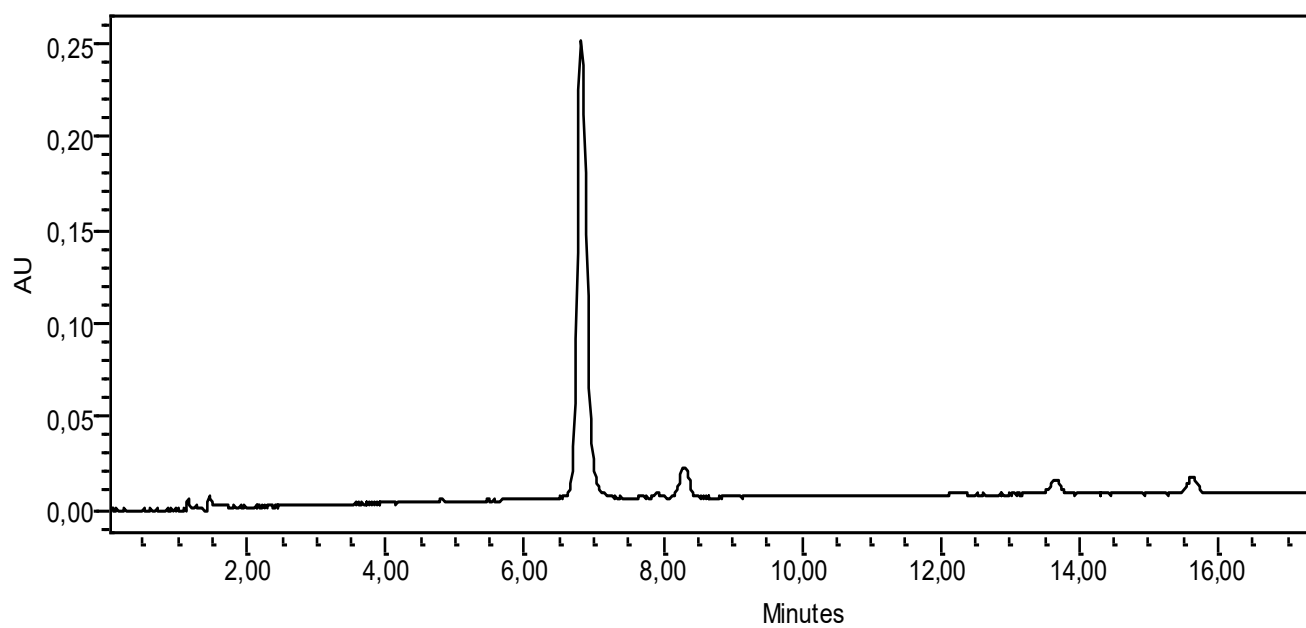


Figura 20. Antocianinas na Formulação F4



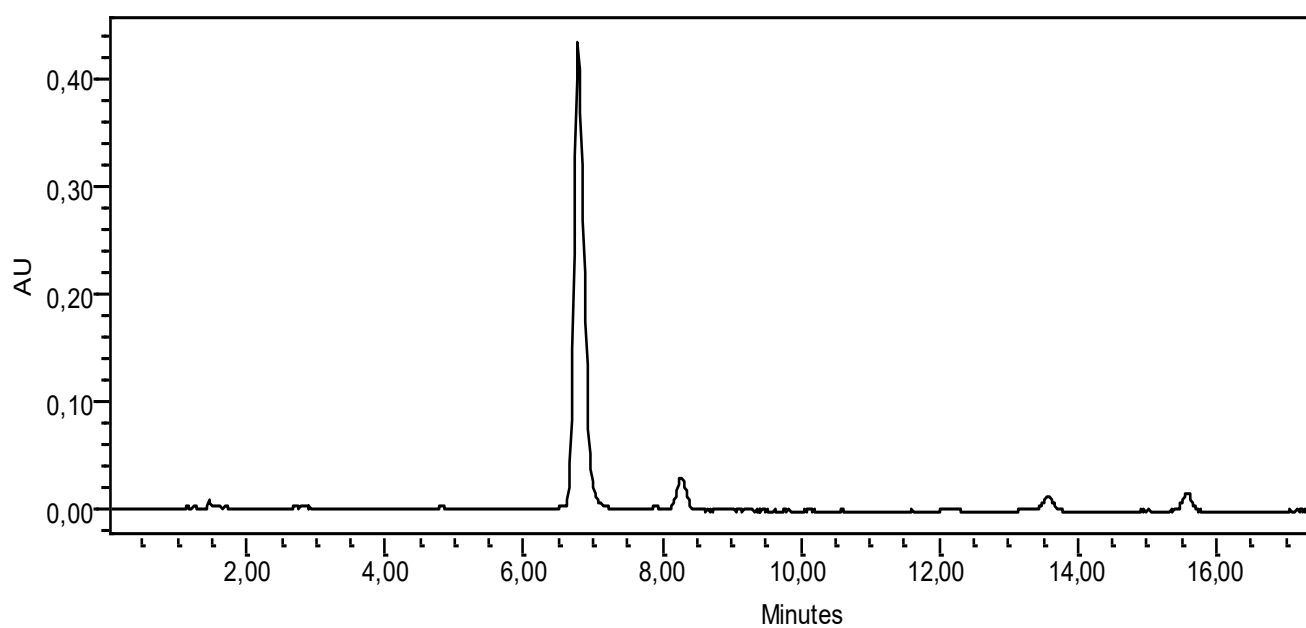
Pico 1: cianidina-3-glicosídeo (6,8 min)

Pico 2: cianidina-3-rutenosídeo (8,2 min)

Pico 3: antocianina não identificada (13,6 min)

Pico 4: antocianina não identificada (15,6 min)

Figura 21. Antocianinas na Formulação F5



Pico 1: cianidina-3-glicosídeo (6,8 min)

Pico 2: cianidina-3-rutenosídeo (8,2 min)

Pico 3: antocianina não identificada (13,6 min)

Pico 4: antocianina não identificada (15,6 min)

Figura 22. *Escala Hedonica do teste sensorial*

