

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

TESE DE DOUTORADO

**CONCENTRAÇÃO DE SUCO DE AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA MART.*) POR
NANOFILTRAÇÃO**

Daniel Simões Couto

2012



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

CONCENTRAÇÃO DE SUCO DE AÇAI (*EUTERPE OLERACEA MART.*) POR
NANOFILTRAÇÃO

Daniel Simões Couto

Sob a Orientação de
Lourdes M. C. Cabral

E co-orientação de
Suely Pereira Freitas

Tese submetida como requisito para obtenção do título de doutor em ciências em **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ.
Abril de 2012

664.8

C871c

T

Couto, Daniel Simões, 1980-

Concentração de suco de açaí (*Euterpe oleracea* mart.) por nanofiltração / Daniel Simões Couto - 2012.

114 f.: il.

Orientador: Lourdes M. C. Cabral.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 76-84.

1. Açaí - Processamento - Teses. 2. Filtração por membranas - Teses. 3. Suco de frutas concentrado - Teses. 4. Tecnologia de alimentos - Teses. 5. Antocianinas - Teses. I. Cabral, Lourdes Maria Corrêa, 1957-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

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

DANIEL SIMÕES COUTO

Tese submetida como requisito para obtenção de título de doutor em **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Lourdes M. C. Cabral. Dra.
EMBRAPA Agroindústria de Alimentos
Orientador

Suely Pereira Freitas. Dra.
UFRJ/EQ
Co-orientador

Ana Lúcia Vendramini. Dra.
UFRJ/EQ
Membro externo (Titular)

Kátia Gomes Lima Araújo. Dra.
UFF/FF
Membro externo (Titular)

Virgínia Martins da Matta. Dra.
EMBRAPA Agroindústria de Alimentos
Membro externo (Titular)

Ronoel Godoy. Dr.
EMBRAPA Agroindústria de Alimentos
Membro interno (Titular)

Ângela Furtado. Dra.
EMBRAPA Agroindústria de Alimentos
Membro interno (suplente)

Regina Nogueira. Dra.
EMBRAPA Agroindústria de Alimentos
Membro externo (suplente)

"Não é possível refazer este país, democratizá-lo, humanizá-lo, torná-lo sério, com adolescentes brincando de matar gente, ofendendo a vida, destruindo o sonho, inviabilizando o amor. Se a educação sozinha não transformar a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda."

(Paulo Freire)

A aquela que me deu forças nos quatro anos desta etapa da minha vida e me proporcionou a maior felicidade do mundo: ser pai. Dedico este trabalho à minha mulher Aline e à minha filha Lívia, as mulheres da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A minha mulher e companheira Aline Bravo Barbosa Couto, que conheci durante o curso de mestrado, pela paciência, carinho, compreensão, amor e ajuda durante mais este percurso da minha vida. Esteve sempre ao meu lado para me apoiar e dizer quando eu estava errado. Especialmente por me dar o melhor presente do mundo, nossa filha Livia que nasceu no final desta jornada, dia 05 de Março de 2012, o dia mais feliz da minha vida. Fez parecer até final de novela, onde tudo acontece ao mesmo tempo.

Aos meus pais Ivano Couto e Beatriz Simões e minha avó Adélia Simões, pelo carinho e apoio emocional e financeiro. A Ana Cristina Lourenço e Aristóteles Mello por estarem ao lado do meu pai e minha mãe, respectivamente.

A minha orientadora, amiga e madrinha de casamento, Lourdes Cabral por me orientar e aturar minha hiperatividade e impulsividade por mais este período.

A minha co-orientadora Suely Pereira Freitas por aceitar participar deste trabalho e enriquecê-lo com toda sua experiência.

Aos pesquisadores da Embrapa Agroindústria de alimentos, Virgínia Matta, Ângela Furtado, Edmar, João Oiano e Murilo Freire pela ajuda e amizade.

A pesquisadora da Embrapa Agroindústria de alimentos, Renata Tonon pela amizade e grande ajuda nos experimentos e análises de microencapsulação, além de disponibilizar seu parte de seu tempo para correção deste trabalho.

Aos professores que ainda durante a graduação me deram incentivo para seguir na carreira acadêmica: Carlos Magno Barros, Alexandre Gonçalves Soares, Ana Maria Florentino e Regina Noronha.

Aos funcionários da Planta 2 da EMBRAPA Agroindústria de alimentos, Sérgio Pontes (Filé) pela alegria, amizade e auxílio nos momentos pesados de processamentos de matéria-prima, William Júnior (Aspone) pela amizade e auxílio nas análises, Luis Fernando (Chorão) pela amizade e colaboração nos processos, análises de laboratório e interpretação de resultados e Flávia dos Santos Gomes (agora pesquisadora da Físico-química) pela ajuda e amizade.

Aos amigos que fiz na planta 2 da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Alan Oliveira, Alcilúcia, Alfredo Júnior, Ana Paula Gil Cruz, André, André Dutra, Bia, Cássia

Oliveira, Débora, Fernanda Shinagawa, Flávia Pingo, Gabrielly Dantas, Henrique, Isabella Candeia, Isabelle Santana, Izabela Bouhid, Juliana Ju, Leandro Alves (Didú), Lucas Assad, Marlon, Tatiana Candeia.

Ao casal Flávio e Mônica Pagani pela amizade, carinho, companheirismo e por nos tornar parte de suas famílias ao nos dar de presente a Luiza, nossa filhada linda e a linda sobrinha Mariana. Moniquinha, obrigado pela ajuda e pelos conselhos, sem eles talvez eu tivesse explodido em diversos momentos, principalmente pela minha falta de filtro na hora de falar o que penso.

Ao pessoal do laboratório de cromatografia líquida, especialmente a analista Manuela Santiago e a aluna Ana Cristina “minha filha!!!” Gouvêa.

A Adriana Paula do laboratório de cereais da pelo auxílio nas análises de reologia.

A Andressa e Marcelly Santos do laboratório de óleos essenciais pelo carinho e amizade.

Ao Cirad, especialmente aos pesquisadores Dr. Manuel Dornier, Dr. Dominique Pallet e Dr. Max Reynes por aceitarem minha ida a instituição e pela orientação recebida.

Ao técnico de laboratório do Cirad, Daniel Dijoux (*in memoriam*) pelo auxílio nas análises e em diversos momentos.

As secretárias do Cirad, Nadine Lopez e Jocelyne Renda pelo auxílio na adaptação a instituição.

Aos pesquisadores e técnicos da Halle Technologie do Cirad por toda ajuda ao longo do trabalho.

Aos amigos que fiz no Cirad, BenHur Mattiuz, Cláudia Mattiuz, Ricardo e Nádia Uclés, Fernando Abreu e “sua flauta” da EMBRAPA/CNPAT, Sandra Lauton e Helen pela grande amizade e pelo carinho com que me trataram na França e cuja amizade permanece.

Ao Centro Universitário IBMR especialmente representado pela coordenadora do curso de nutrição Adriana Ribeiro, pela oportunidade de exercer a profissão da minha escolha e aos meus alunos com quem aprendo todos os dias.

Aos membros da banca Ronoel Godoy, Kátia Lima, Virgínia Matta, Ana Lúcia Vendramini, Ângela Furtado e Regina Nogueira por disponibilizarem uma parte de seus tempos para tornar este trabalho mais importante.

Ao projeto Pavuc Inco Dev, bolsa de doutorado recebida em parte do curso.

A CAPES pela bolsa de doutorado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Açai	3
2.2. Compostos fenólicos	5
2.3. Antocianinas	7
2.4. Compostos bioativos do açai	9
2.5. Processos de separação por membranas	11
2.5.1. Tipos de membranas.....	11
2.5.2. Métodos de filtração.....	13
2.5.3. Tipos de processos.....	14
2.5.3.1. Microfiltração.....	15
2.5.3.2. Nanofiltração.....	16
2.5.4. Problemas potenciais.....	17
2.5.5. Parâmetros de avaliação do desempenho.....	19
2.6. Microencapsulação	20
2.6.1. Agentes carreadores.....	21
2.6.2. Maltodextrina.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Material	25
3.1.1. Matéria prima.....	25
3.1.2. Membranas.....	26
3.1.3. Agente encapsulante.....	26
3.2. Métodos	27
3.2.1. Seleção da membrana de nanofiltração.....	27
3.2.1.1. Filtração do suco de açai.....	27
3.2.1.2. Clarificação do suco de açai filtrado.....	27
3.2.1.3. Ensaios de nanofiltração.....	29
3.2.2. Concentração do suco de açai por nanofiltração.....	31
3.2.2.1. Centrifugação do suco de açai.....	31
3.2.2.2. Clarificação do suco de açai centrifugado.....	31
3.2.2.3. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de microfiltração.....	33
3.2.2.4. Concentração do suco de açai clarificado.....	34
3.2.2.5. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração.....	34
3.2.3. Microencapsulação de suco de açai concentrado.....	36

3.2.4. Métodos analíticos.....	37
3.2.4.1. pH.....	37
3.2.4.2. Acidez total titulável.....	37
3.2.4.3. Teor de sólidos totais.....	37
3.2.4.4. Teor de sólidos solúveis.....	37
3.2.4.5. Compostos fenólicos totais.....	38
3.2.4.6. Teor de antocianinas totais pelo método pH diferencial.....	38
3.2.4.7. Atividade antioxidante pelo método ABTS.....	39
3.2.4.8. Atividade enzimática.....	40
3.2.4.9. Composição centesimal.....	40
3.2.4.10. Avaliação reológica.....	41
3.2.4.11. Higroscopicidade.....	42
3.2.4.12. Análise estatística.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1. Avaliação do comportamento de membranas comerciais de nanofiltração de diferentes fabricantes.....	43
4.1.1. Avaliação da matéria-prima.....	43
4.1.2. Clarificação por microfiltração do suco de açaí filtrado.....	44
4.1.3. Avaliação das membranas de nanofiltração.....	46
4.1.3.1. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração.....	46
4.1.3.2. Comportamento das membranas comerciais de nanofiltração ao processamento de suco de açaí clarificado.....	47
4.1.3.3. Avaliação das características da fração de permeado obtida nos ensaios de nanofiltração.....	48
4.1.3.4. Avaliação dos coeficientes de retenção das membranas de nanofiltração para antocianinas.....	49
4.1.3.5. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração após os ensaios e estimativa de incrustação.....	50
4.2. Concentração de suco de açaí clarificado por nanofiltração,.....	53
4.2.1. Avaliação da matéria-prima e das frações obtidas nas etapas de pré-tratamento do suco de açaí.....	53
4.2.1.1. Avaliação das características da matéria prima utilizada e do produto da centrifugação.....	53
4.2.1.2. Ensaio de microfiltração.....	57
4.2.2. Concentração do suco de açaí.....	63
4.2.2.1. Avaliação da permeabilidade hidráulica.....	63
4.2.2.2. Ensaio de nanofiltração.....	64
4.3. Microencapsulação do suco de açaí concentrado por nanofiltração.....	67
5. CONCLUSÃO.....	73
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
8. ANEXO 1	
Avaliação da permeabilidade de suco de açaí em diferentes condições de pressão aplicada à membrana.....	85
9. ANEXO 2	
COUTO, D. S.; DORNIER, M; PALLET, D.; REYNES, M.; DIJOUX, D.; FREITAS, S. P.; CABRAL, L. M. C.. <i>Evaluation of nanofiltration membranes for the retention of anthocyanins of açaí (Euterpe oleracea Mart.) juice. Desalination and Water Treatment</i> .n° 27, pp. 108 – 113, 2011.....	89

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Membranas comerciais de nanofiltração.....	26
Tabela 1. Composição química da polpa de açaí.....	5
Tabela 2. Espécies retidas em diferentes processos com membranas.....	14
Tabela 3. Avaliação do suco de açaí integral e das frações obtidas após a filtração.....	43
Tabela 4. Caracterização do processo de clarificação de suco de açaí por microfiltração..	45
Tabela 5. Resultados das análises de permeados obtidos nos testes de membranas de nanofiltração.....	48
Tabela 6. Coeficiente de retenção para antocianinas das 6 membranas utilizadas no estudo.....	49
Tabela 7. Parâmetros físico-químicos avaliados da polpa integral e centrifugada.....	53
Tabela 8. Avaliação centesimal de suco integral e centrifugado.....	54
Tabela 9. Viscosidade do suco de açaí integral e centrifugado.....	57
Tabela 10. Resultado das análises do processo de clarificação de suco de açaí por microfiltração.....	58
Tabela 11. Composição centesimal de suco de açaí no processo de microfiltração.....	59
Tabela 12. Viscosidade das frações de suco centrifugado, clarificado e retido da microfiltração	62
Tabela 13. Resultado das análises do processo de concentração de suco de açaí por nanofiltração..	65
Tabela 14. Viscosidade das frações de suco clarificado e concentrado da nanofiltração....	67
Tabela 15. Avaliação dos compostos bioativos ao longo do estudo de concentração de suco de açaí	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Açazeiro.....	3
Figura 2. Representação da estrutura básica dos flavonóides e o sistema usado para numeração dos carbonos.....	7
Figura 3. Estrutura básica das antocianidinas.....	8
Figura 4. Tipos de filtração.....	13
Figura 5. Esquema da etapa de escolha da membrana de nanofiltração.....	24
Figura 6. Esquema da obtenção de suco de açaí concentrado e microencapsulado.....	25
Figura 7. Equipamento de microfiltração com membranas cerâmicas (CIRAD-Montpellier).....	28
Figura 8. Diagrama esquemático do equipamento de microfiltração com membranas cerâmicas (CIRAD-Montpellier).....	28
Figura 9. Esquema utilizado na avaliação de membranas de nanofiltração.....	29
Figura 10. Equipamento de nanofiltração configuração quadro e placas (CIRAD-Montpellier).....	30
Figura 11. Diagrama representativo do equipamento de nanofiltração configuração quadro e placa (CIRAD-Montpellier).....	31
Figura 12. Equipamento de microfiltração por membranas cerâmicas (Embrapa Agroindústria de Alimentos).....	32
Figura 13. Diagrama esquemático do equipamento de microfiltração com membranas tubulares cerâmicas (Embrapa Agroindústria de Alimentos).....	33
Figura 14. Equipamento de nanofiltração (Embrapa Agroindústria de alimentos).....	34
Figura 15. Mini spray dryer BUCHI B-190 utilizado nos ensaios de microencapsulação....	36
Figura 16. Comportamento do fluxo de permeado dos processos de microfiltração.....	44
Figura 17. Permeabilidade hidráulica das 6 membranas utilizadas, antes dos ensaios.....	46
Figura 18. Comportamento de fluxo de permeado de diferentes membranas comerciais sob diferentes condições de pressão. * Médias de 3 ensaios.....	47

Figura 19. Permeabilidade hidráulica das 6 membranas utilizadas, após os ensaios.....	50
Figura 20. Permeabilidade hidráulica antes e após os ensaios de nanofiltração para as membranas que apresentaram maior e menor efeito da incrustação.....	51
Figura 21. Avaliação da incrustação nas membranas de nanofiltração avaliadas.*médias de 3 ensaios.....	52
Figura 22. Avaliação reológica de suco de açaí integral e suco de açaí centrifugado	56
Figura 23. Avaliação de fluxo de permeado dos processos e microfiltração.....	58
Figura 24. Atividade enzimática das correntes de suco de açaí no processo de microfiltração.....	60
Figura 25. Avaliação reológica de suco de açaí centrifugado e suco de açaí clarificado.....	61
Figura 26. Avaliação reológica de suco de açaí integral e suco de açaí retido da microfiltração.....	62
Figura 27. Permeabilidade hidráulica da membrana de nanofiltração NF270.....	63
Figura 28. Comportamento do suco de açaí clarificado ao longo do processo de nanofiltração.....	64
Figura 29. Avaliação reológica de suco de açaí clarificado e suco de açaí concentrado por nanofiltração.....	66
Figura 30. Avaliação da higroscopicidade dos produtos obtidos na microencapsulação.....	68
Figura 31. Atividade antioxidante do suco de açaí microencapsulado. Amostra A = 1:1; Amostra B = 2:1. Expresso em mmol de trolox por grama de matéria seca de suco.....	69
Figura 32. Teor de cianidina-3-O-rutinosídeo no suco de açaí microencapsulado. Amostra A = 1:1; Amostra B = 2:1.....	70

RESUMO

COUTO, Daniel Simões. **Concentração de suco de açaí (*Euterpe oleracea mart.*) por nanofiltração**. P. 105. 2012 p.. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O açaí é uma importante fonte de antocianinas, composto conhecido por sua capacidade antioxidante e que também pode ser utilizado como corante natural na indústria de alimentos e de cosméticos. O presente trabalho teve como objetivo a concentração de suco de açaí por nanofiltração, previamente clarificado pelo processo de microfiltração, e posterior microencapsulação por atomização. Para isso, os sucos utilizados nas duas etapas do trabalho foram previamente tratados por microfiltração em módulos de membranas tubulares cerâmicas e posteriormente utilizados como alimentação para os ensaios de nanofiltração. Na primeira etapa foram testadas seis membranas comerciais de nanofiltração: MPF36, NP010, UTC60, DK, DL e NF270 em módulo de configuração quadro e placas com área total de permeação de 0,015 m², sendo utilizadas pressões aplicadas à membrana de 10, 15,20 e 30 bar em temperatura de 35°C. Estas membranas foram avaliadas em função da retenção de antocianinas e fluxo de permeado em diferentes condições de pressão aplicada à membrana e então a membrana que apresentou as melhores características foi utilizada para a efetiva concentração do suco em um módulo de configuração espiral com área total de permeação de 2,5 m², sendo os ensaios conduzidos a 10 bar de pressão e temperatura de 35°C. Após a concentração do suco de açaí, o produto obtido da concentração foi submetido ao processo de microencapsulação por atomização, utilizando Maltodextrina 10 DE como agente encapsulante em proporções de 1:1 e 2:1 (maltodextrina:sólidos de suco), com objetivo de concentrar e aumentar a estabilidade dos compostos bioativos presentes no suco de açaí. A membrana NF270, uma membrana composta sintetizada com um suporte microporoso de polisulfona recoberto por uma camada de poliamida, apresentou maiores valores de permeabilidade hidráulica antes e após os ensaios de nanofiltração e também a maior permeabilidade ao suco de açaí clarificado, em todas as faixas de pressão aplicada à membrana. Esta membrana apresentou uma retenção para as antocianinas do açaí de 99% e um efeito de incrustação de aproximadamente 28%. Após a escolha da membrana o suco de açaí clarificado foi concentrado através de três ensaios em condições semelhantes. O fluxo

inicial médio foi de $38 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, com estabilização do fluxo de permeado após 20 minutos de ensaio com fator de redução volumétrico de 7. Após as análises verificou-se a concentração efetiva dos compostos bioativos e também a capacidade da membrana em reter estes compostos, visto que não houve a permeação dos mesmos através da membrana. Após a microencapsulação do suco concentrado verificou-se que a amostra com proporção de duas partes de maltodextrina para uma parte de suco apresentou menor higroscopicidade e uma maior retenção dos compostos bioativos se comparados à amostra com proporção de uma parte de Maltodextrina para uma parte de suco. O processo de nanofiltração, com a utilização da membrana NF270, apresentou-se eficiente na retenção e concentração de compostos bioativos presentes em suco de açaí e o processo de microencapsulação através de atomização com a proporção de duas partes de maltodextrina para uma parte de suco manteve os compostos bioativos do açaí estáveis pelo período de 28 dias.

Palavras-chave: concentração, membranas, sucos de frutas, antocianinas.

ABSTRACT

COUTO, Daniel Simões. **Concentration of açai (*Euterpe oleracea mart.*) juice by nanofiltration**. P. 105. 2012. Doctoral thesis in Food Science and Technology. Institute of Technology, Department of Food Technology, Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Açai is an important source of anthocyanins, compound known for its antioxidant capacity and can also be used as natural colorant in food industry and cosmetics. This study aimed the concentration of açai juice by nanofiltration, previously clarified by microfiltration and subsequent microencapsulation by spray drying. The juices used as feed of nanofiltration assays in both steps of the study have been previously clarified by microfiltration in a module with tubular membranes made by ceramic material. In the first stage six commercial nanofiltration membranes were tested: MPF36, NP010, UTC60, DK, DL and NF270 in a module with plate and frame configuration with total permeation area of 0,015m² and transmembrane pressure of 10, 15, 20 and 30 bar at 35°C. These membranes were evaluated by the anthocyanins retention and permeate flux under different conditions of transmembrane pressure and the membrane that showed the best characteristics was used for juice concentration in a module with a spiral wound configuration with total permeation area of 2,5 m², and testes conducted at 10 bar and 35°C. After the nanofiltration assays, the concentrated juice was encapsulated by spray drying using maltodextrin 10 DE as carrier agent in proportions of 1;1 and 2:1, in order to concentrate and increase the shelf life of bioactive compounds in açai juice. The membrane NF270, a composite membrane composed by a polyamide top layer and a polysulphone microporous support presented higher hydraulic permeability values before and after assays and the highest juice permeability in all ranges of transmembrane pressures. This membrane was able to retain 99% of anthocyanins and a estimated fouling effect of 28%. After choose the membrane, the clarified açai juice was concentrated in three assays under the same conditions. The permeate flux in the beginning of assays was 38 L h⁻¹ m⁻², and after 20 minutes the flux stabilized reaching a volume reduction factor of 7. Analysis realized after the assays presented an effective concentration of bioactive compounds and the ability of the membrane to retain these compounds since there was no permeation through the membrane. After the microencapsulation of concentrated juice the sample with two parts of maltodextrin and one part of juice presented less hygroscopicity and

greater retention of the bioactive compounds than the sample with one part of maltodextrin and one part of juice. The nanofiltration process, using the NF270 membrane, was effective in retaining and concentrating bioactive compounds in acai juice and the microencapsulation by spray drying with two parts of maltodextrin and one part of juice was able to retain and increase the bioactive compounds and to guarantee the shelf life of these compounds for 28 days.

Key words: concentration, membrane separation, fruit juice, anthocyanins

1 Introdução

A demanda por açaí aumentou bastante, e as agroindústrias passaram a intensificar a produção de polpa da fruta e a exportá-la na forma congelada ou pasteurizada. Além disso, diversos países do mundo têm se interessado pela compra do açaí para elaboração de produtos, como sorvetes, cosméticos, dentre outros.

No norte do país, os frutos do açaizeiro eram destinados, principalmente, para o consumo interno da região Amazônica, devido ao hábito da população de consumir o vinho do açaí, que se constitui como importante componente da alimentação básica (ROGEZ, 2000). Atualmente, o açaí é consumido em larga escala nas regiões sudeste e sul, por pessoas de diferentes faixas etárias e classes econômicas, fazendo com que a venda de frutos de açaí para os mercados locais e indústrias beneficiadoras represente uma alternativa comercial rentável.

Além de ser altamente energético, o açaí também apresenta propriedades funcionais, devido a sua alta capacidade antioxidante, relacionada principalmente a compostos como as antocianinas presentes na sua composição (COISSON *et al.*, 2005; POZO-INSFRAN *et al.*, 2004). As antocianinas são pigmentos instáveis ao processamento e a estocagem, portanto, a indústria de alimentos busca constantemente novas fontes deste pigmento que sejam mais estáveis e economicamente mais vantajosas (COISSON *et al.*, 2002).

O açaí é uma fruta muito perecível, o que resulta em uma vida de prateleira pequena, e conseqüentemente, curto tempo de comercialização após sua colheita. O processamento térmico é uma opção para garantir a segurança dos consumidores da polpa de açaí, no entanto, promove alterações significativas com prejuízo da qualidade sensorial do produto, visto que estas características são conferidas por compostos voláteis, na maioria das vezes termossensíveis.

Os processos de concentração por membranas surgem como alternativas aos processos tradicionais de concentração. Por serem conduzidos à temperatura ambiente, apresentam como vantagens a manutenção das características químicas e sensoriais dos produtos além de menor consumo de energia (HABERT, BORGES E NÓBREGA, 2006).

A nanofiltração é um processo de separação por membranas, no qual compostos de baixa massa molar são concentrados pela aplicação de pressões inferiores a outros processos de concentração por membranas como a osmose inversa, o que gera um menor gasto

energético ao longo do processo e por isso vem sendo estudada para a concentração de sucos de frutas (FERRARINI *et al.*, 2001).

Para aumentar a concentração e estabilidade dos compostos bioativos em sucos de frutas, o processo de microencapsulação por atomização vem sendo avaliado por diversos autores (TONON, 2009; PAGANI, 2010). Com a utilização de materiais encapsulantes, como alguns polissacarídeos, por exemplo, cria-se um invólucro em torno destes compostos, que pode levar a um aumento de sua vida de prateleira.

O açaí tem se mostrado uma alternativa altamente viável da fruticultura brasileira, o que justifica novas pesquisas visando o desenvolvimento de diferentes produtos a partir desta matéria-prima (CRUZ, 2008; TONON, 2009; GOUVÊA, 2010).

De acordo com o exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar a concentração de suco de açaí por nanofiltração e posterior microencapsulação por atomização. E especificamente:

- Obtenção de suco de açaí clarificado por microfiltração.
- Avaliação de diferentes membranas de nanofiltração para a concentração de suco de açaí clarificado.
- Concentração, por nanofiltração, do suco de açaí clarificado com foco na concentração de antocianinas.
- Microencapsulação do suco de açaí concentrado por microencapsulação
- Avaliação da qualidade físico-química e a concentração de antocianinas e compostos fenólicos, bem como, a atividade antioxidante das diferentes frações do processo.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Açaí

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é nativo da Amazônia brasileira sendo uma palmeira abundante no estuário do Rio Amazonas, em terrenos de várzeas, igapós e terra firme de toda a região. Destaca-se entre os diversos recursos vegetais, pela sua abundância e por gerar um alimento importante, pois de seus frutos pode-se extrair, com auxílio de água, uma polpa de coloração violácea e comestível, amplamente utilizada na alimentação da população regional e caracterizada pelo alto valor energético e nutricional (NOGUEIRA, 2006; FRANKE *et al.*, 2001).



Figura 1. Açaizeiro.

A palmeira de açaí apresenta uma produtividade bastante elevada, sendo 80% da produção realizada em três meses. A safra vai de agosto a dezembro em Belém do Pará, sendo no verão a época em que os frutos se apresentam com melhor qualidade sensorial (ROGEZ, 2000).

Em 2010, a produção de açaí chegou a 124.421 toneladas. Com isso o açaí destaca-se como o maior produto do extrativismo vegetal não madeireiro gerando uma renda de aproximadamente 180 milhões de reais. A região norte é responsável pela maior parte desta

produção, com aproximadamente 113 mil toneladas, enquanto a região nordeste produz o restante, 11 mil toneladas (IBGE, 2010).

Mesmo com a derrubada de áreas produtivas para implantação de pastagens em alguns municípios e a expansão do manejo em áreas de produção no Pará, principal estado produtor, a produção de açaí apresentou um aumento de 7,3% em relação ao ano de 2009. Com uma produção de 106.562 toneladas de um total de 124.421 toneladas, o Pará (com 85,6% da produção nacional) e o Maranhão (com 8,8%) foram os únicos estados a registrar aumento da produção deste fruto. A instalação de indústrias de beneficiamento da polpa de açaí, as condições climáticas favoráveis, a valorização do produto em alguns municípios e a redução da exploração do palmito foram os motivos que levaram ao aumento registrado. Dos 20 maiores municípios produtores de frutos de açaizeiros nativos do País, apenas dois (Luís Domingues e Carutapera, no Maranhão) não são do Pará. Destaque para Limoeiro do Ajuru, Ponta de Pedras, Oeiras do Pará, Muaná, São Sebastião da Boa Vista e Igarapé-Mirim, que concentraram 51,3% da produção nacional (IBGE, 2010).

O suco de açaí apresenta coloração roxa escura, com elevada concentração de compostos fenólicos e antocianinas (MUÑIZ-MIRET *et al.*,1996). O suco é obtido por prensagem a frio, retirando-se a parte polposa da semente que representa aproximadamente 80% do volume do fruto (ROGEZ, 2000).

De acordo com os padrões de identidade e qualidade fixados para o açaí pelo Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000), a polpa de açaí e o açaí são definidos como produto extraído da parte comestível do fruto do açaizeiro, através de processos tecnológicos adequados.

Sendo assim, segundo o MAPA, os produtos de açaí podem ser classificados como polpa de açaí, onde há extração da polpa do açaí, sem adição de água, por meios mecânicos e sem filtração, podendo ser submetido a processo físico de conservação; açaí grosso ou especial (tipo A), onde o despulpamento do açaí é realizado com auxílio de água filtrada mantendo o teor de sólidos totais superior a 14%; açaí médio ou regular (tipo B), sendo o despulpamento do açaí com auxílio de água filtrada mantendo o teor de sólidos totais entre 11% e 14% e açaí fino ou popular (tipo C), cujo despulpamento é feito com auxílio de água filtrada mantendo o teor de sólidos totais entre 8% e 11% (BRASIL, 2000).

O açaí é considerado uma das mais nutritivas frutas da Amazônia. A polpa de açaí é um alimento que possui alto valor calórico, por seu elevado percentual lipídico, e nutricional,

por ser rico em proteínas e minerais (COHEN & ALVES, 2006). Sua composição foi avaliada por alguns autores conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química da polpa de açaí.

Constituintes	(ROGEZ, 2000)	(ALEXANDRE, CUNHA E HURBINGER, 2004)	(FREGONESI <i>et al.</i> , 2010)
Matéria seca (%)	15,26	-	10,50
Proteínas*	10,05	10,69	8,48
Lipídeos totais*	52,64	48,24	50,77
Açúcares totais*	2,96	3,55	2,35
Açúcares redutores*	2,91	-	-
Fibras*	25,22	31,67	-
Cinzas*	3,09	3,04	0,24

* g/100g de matéria seca.

Devido à diferença nas matérias-primas utilizadas há uma diferença nos valores encontrados entre os parâmetros avaliados, no entanto, estes valores são próximos.

Em relação ao seu conteúdo de ácidos graxos, o açaí apresenta o ácido oleico como o mais abundante (54,9%), seguido dos ácidos palmítico (25,9%) e linoleico (ROGEZ, 2000), no entanto, apresenta reduzido teor em ácido linolênico. A polpa de açaí liofilizada possui uma fração desses ácidos graxos bastante próxima do próprio fruto, no qual o C18:1, ácido graxo de valor essencial apresenta concentrações consideravelmente altas (52,7g/100g de açaí liofilizado), comparado ao insaturado linoleico, também de caráter essencial a alimentação humana, com apenas 0,95% (SABAA-SRUR *et al.*, 2004). O alto teor de ácidos graxos mono e poli-insaturados implica, certamente, na sua fácil oxidação, o que contribui para a rancificação rápida da bebida.

2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas sintetizados em resposta a condições de estresse. Estas moléculas estão divididas em duas classes, chamadas flavonoides e não-flavonóides e estas divididas em diversas subclasses em relação ao padrão de substituição e das estruturas químicas (SHAHIDI & NACZK, 1995).

Dentre as funções dos compostos fenólicos, pode-se citar sua ação como fitoalexinas, como atrativo para polinização, por contribuírem para a pigmentação do vegetal, como antioxidantes e, similarmente ao sistema imunológico humano, protegendo a planta de raios ultravioleta e de patógenos, dentre outros. Sua importância em alimentos se caracteriza por

influenciar as características sensoriais, como adstringência, amargor e aroma, além da estabilidade oxidativa dos produtos derivados de vegetais. Estes compostos possuem substâncias como taninos que diminuem o valor nutricional de proteínas e podem inibir a atividade de enzimas digestivas, sendo então associados, por muito tempo, como compostos indesejáveis (SHAHIDI & NACZK, 1995).

Estudos já demonstraram seus efeitos plurifarmacológicos (bactericida, antiviral, antialérgico, antitrombótico, anti-inflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, vasodilatador), despertando grande interesse principalmente por sua alta prevalência nas dietas já que são compostos onipresentes nos vegetais (CHEYNIER, 2005; NACZK & SHAHIDI, 2004; SOBRATTEE *et al.*, 2005). Os compostos fenólicos são derivados metabólicos da fenilalanina e tirosina, produzidos em células vegetais. No entanto, não se apresentam uniformemente distribuídos no vegetal, ocorrendo variações das classes e subclasses destes compostos, bem como das suas concentrações, em função da localização no vegetal. A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a enzima chave na regulação da via metabólica de fenilpropanóides, convertendo a L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico e iniciando a biossíntese de fenólicos. Fatores genéticos irão determinar quais classes e subclasses desses compostos serão sintetizadas (NACZK & SHAHIDI, 2004).

A classe dos não-flavonóides não apresenta uma estrutura básica em comum e, portanto, é uma classe muito heterogênea, sendo composta ácido benzóico, ácido hidróxicinâmico e seus derivados, ligninas, lignanas, suberinas, estilbenos e taninos hidrolisáveis (CHEYNIER, 2005).

Os flavonóides caracterizam-se por apresentar uma estrutura comum composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um heterociclo oxigenado (Figura 2). O grau de oxidação e o padrão de substituição do anel C, heterociclo, definem as classes de flavonóides e dentro destas o padrão de substituição nos anéis A e B determinam os compostos específicos (RHODES, 1996).

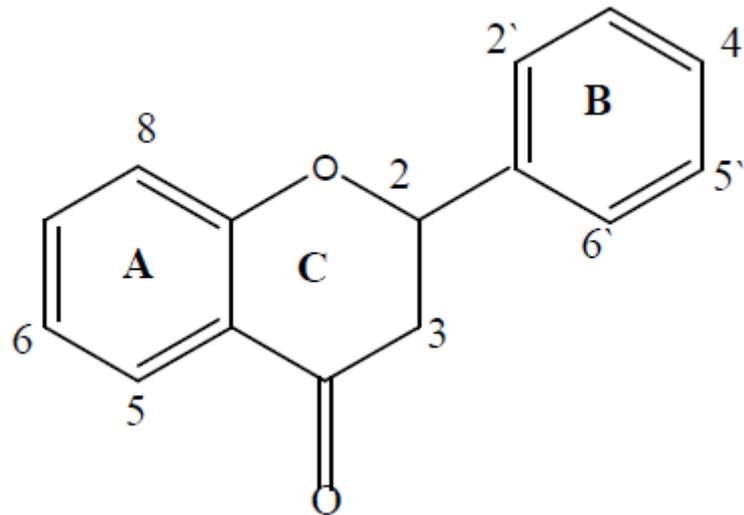


Figura 2. Representação da estrutura básica dos flavonóides e o sistema usado para numeração dos carbonos (BRAVO, 1998).

Dependendo da substituição e do nível de oxidação no anel C, os flavonóides podem ser divididos em várias classes, sendo que os que se incluem na dieta humana encontram-se essencialmente em seis classes. Considerando-se suas estruturas químicas elas serão denominadas por flavonóis, flavanóis, flavonas, isoflavonóides, flavanonas e antocianinas (BOBBIO & BOBBIO, 2001; MARTINEZ *et al.*, 2002; YILMAZ & TOLEDO, 2004).

Os flavonóides destacam-se dentre os compostos fenólicos de maior interesse para a saúde humana, por apresentarem efeitos biológicos protetores, atuando na diminuição de riscos de várias doenças como as cardiovasculares e o câncer (BROWNING; WALLE; WALLE, 2005).

As principais classes de flavonóides encontradas em vegetais utilizados como alimentos são as flavonas, flavanóis e antocianinas (RHODES, 1996; SHAHIDI & NACZK, 2004). No açaí, a classe das antocianinas é a de maior interesse devido a sua maior prevalência (POZOINSFRAN, BRENES & TALCOTT, 2004).

2.3 Antocianinas

As antocianinas são pigmentos naturais, solúveis em água, intensamente coloridas e amplamente distribuídos na natureza, encontrados principalmente em frutas e folhas, pertencentes à família dos flavonóides, sendo estes responsáveis pela cor do açaí. São capazes de absorver fortemente a luz na região do visível conferindo uma infinidade de cores entre

laranja, vermelho, púrpura e azul. A estabilidade das antocianinas ao descoloramento aumenta consideravelmente quando contém ácidos fenólicos em sua molécula e, dependendo do sistema solvente empregado na extração, é possível alterar não apenas o perfil como também a estabilidade do extrato antociânico final (BROUILLARD, 1982; BOBBIO E BOBBIO, 2001). Representam, juntamente com os carotenóides, a maior classe de substâncias coloridas do reino vegetal (GONNET, 1998).

As antocianinas são compostos orgânicos denominados flavonoides e quimicamente são glicosídeos de antocianidinas predominantes no açaí contribuindo com mais de 90% do seu conteúdo total (PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2009). São polidroxil e/ou polimetoxil derivados do 2-fenilbenzopirílium ou, cátion *flavilium* (Figura 3).

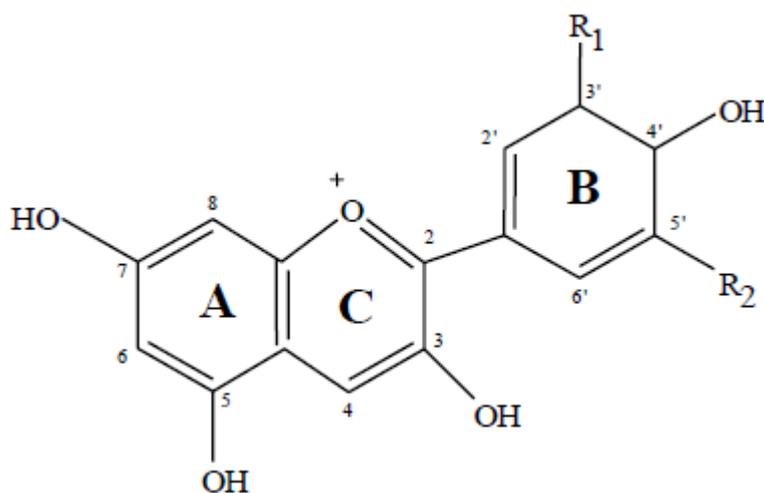


Figura 3. Estrutura básica das antocianidinas (KONG *et al.*, 2003).

As diversas formas antociânicas encontradas diferem entre si pelo número de grupos hidroxilas e metoxilas presentes na aglicona, pela natureza, número e sítio de ligação de açúcares e pelo número e natureza de ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados à molécula de açúcar (HUTCHINGS, 1994). Os açúcares mais comumente encontrados ligados a antocianidina são monossacarídeos como glicose, arabinose, galactose e ramnose (COULTATE, 1984). Di e trissacarídeos também podem ocorrer (KONG *et al.*, 2003), como a rutinose (L-ramnosil α 1-6 D-glicose) e a sulforose (Dglicosil β 1-2 glicose) (COULTATE, 1984). Em muitos casos, os resíduos de açúcar são acilados por ácido *p*-cumárico, caféico, ferrúlico, malônico, *p*-hidroxibenzoico, oxálico, málico, succínico e acético (GROSS, 1987; MAZZA & MINIATI, 1993).

Existem 17 antocianidinas que ocorrem como agliconas nas antocianinas naturais. Dentre as antocianidinas encontradas na natureza, apenas seis estão presentes nos alimentos: pelargonidina (Pg), cianidina (Cy), delphinidina (Dp), peonidina (Pn), malvidina (Mv) e petunidina (Pt), que variam entre si quanto ao número de hidroxilas e grau de metilação presentes no anel B (GOIFFON *et al.*, 1999; LIMA & GUERRA, 2003; KONG *et al.*, 2003).

É bem conhecido que a cor das soluções de antocianinas depende de uma série de fatores como concentração, tipo de solvente, temperatura, pH, estrutura do pigmento, presença de substâncias capazes de reagir reversível ou irreversivelmente com a antocianina, etc. (CONSTANT, 2003).

O pH é certamente o fator mais importante no que diz a respeito à coloração das antocianinas. A temperatura faz com que as antocianinas sejam destruídas, quando submetidas ao calor, durante o processamento e/ou estocagem de alimentos. A luz exerce efeito duplo sob os pigmentos, favorecendo a biossíntese, mas aumentando a velocidade de sua degradação. O oxigênio também apresenta efeito deletério sobre as antocianinas, acelerando sua degradação (MARKAKIS, 1982). As antocianinas também são facilmente descoloridas por reações enzimáticas, sendo hidrolisadas ou oxidadas por antocianases ou catecolases com formação de produtos sem cor (GROSS, 1987; CEMEROGLU *et al.*, 1994; JACKMAN & SMITH, 1996; BOBBIO & BOBBIO, 2003).

2.4 Compostos bioativos do açaí

O açaí possui uma diversidade de compostos fenólicos, sendo as antocianinas os compostos fenólicos majoritários, correspondendo a 90% do teor (PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009)

O extrato antociânico do açaí é formado, prioritariamente, por dois tipos de antocianinas em maior proporção que são a cianidina-3-O-glicosídeo e a cianidina-3-O-rutinosídeo (CONSTANT, 2003; KONG *et al.*, 2003; HASSIMOTO *et al.*, 2004).

Pacheco-Palencia *et al.* (2009) avaliaram as características fitoquímicas de extrato de açaí preparado a partir do fruto. Os polifenóis foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa e posteriormente identificados e quantificados por características espectroscópicas e tempo de retenção, comparados a padrões dos compostos. Foram detectadas a presença das antocianinas cianidina-3-O-rutinosídeo (125,6 mg/100g), cianidina-3-O-glicosídeo (94,7 mg/100g) e peonidina-3-O-rutinosídeo (4,4 mg/100g). Dentre

os polifenóis não antociânicos encontrados, flavonoides contribuíram em maior proporção incluindo flavona-C-glicosídeos de apigenina e luteolina. e ácidos fenólicos em menor proporção incluindo predominantemente os ácidos vanílico e siríngico, além dos ácidos ferúlico, protocatecólico e p-hidroxibenzóico.

Coisson e colaboradores (2002) também detectaram o ácido vanílico como sendo o ácido fenólico majoritário no açaí, além de encontrar alguns ácidos hidróxi-benzóicos e hidróxi-cinâmicos e ácido clorogênico.

Rogez (2000) encontrou teores de antocianinas no açaí variando de 71 a 1022 mg de antocianinas por 100 g de fruto. Ao avaliar o teor de antocianinas em açaí médio, os teores variaram de 34 a 702 mg por 100 g. Isso pode ser creditado à perda das antocianinas dessa polpa, muito susceptível à degradação, atentando para questões como tempo de colheita e do intervalo até o início da extração, que são de grande importância. Desta forma, podem ter ocorrido variações significativas conforme o procedimento adotado, ou seja, se a determinação foi efetuada imediatamente após a colheita ou em algumas horas depois, se o fruto foi conservado sob refrigeração ou não, a forma como foi transportado e manuseado, etc. (CONSTANT, 2003).

A avaliação por espectrometria de massa e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do suco de açaí confirmou um elevado conteúdo de cianidina-3-O-glicosídeo, sendo a cianidina e seus glicosídeos, representantes de um dos maiores grupos de antocianinas disponíveis naturalmente em alimentos. As propriedades bioativas das antocianinas têm sido comprovadas por testes *in vitro* (sistemas isolados e modelos celulares), como a inibição da peroxidação de lipídeos em uma célula em um teste *in vitro* (BIANCHI *et al.*, 2001), bem como em testes *in vivo* (tanto em ratos como em humanos) (GALVANO *et al.*, 2004),

A cianidina-3-O-glicosídeo tem sido a mais estudada em relação a sua atividade antioxidante, metabolismo e biodisponibilidade especialmente pela sua disponibilidade comercial (AMORINI *et al.*, 2001; LEE, 2002).

Além do conteúdo de compostos fenólicos, o açaí também possui uma quantidade significativa de ácidos graxos essenciais. Dentre estes podemos citar ácidos graxos saturados como o ácido palmítico (24,1%) e ácidos graxos insaturados como o ácido oleico (56,2%) e o ácido linoleico (18,2%) (SCHAUSS, *et al.* 2006). Estes ácidos graxos, especialmente os ácidos mono e poli-insaturados, são considerados bioativos, pois possuem características importantes na fluidez de membranas, na sinalização celular, na expressão de genes e no

metabolismo de eicosanoides que possuem características inflamatórias e na diminuição da imunidade (McCLEMENTS & DECKER, 2010)

Um ponto crítico do comércio do açaí é sua alta perecibilidade, quando não-submetido a processos de conservação. Mesmo sob refrigeração, a polpa não se conserva por mais de 12 horas (ALBARACI, VALETA, PESSOA, 2007). Este fato pode estar associado à degradação enzimática em conjunto com a elevada carga microbiana presente no fruto, que se deve às condições inadequadas de colheita, acondicionamento, transporte e manuseio até o processamento. Estas reações enzimáticas podem ocasionar oxidação, redução dos teores de antocianinas e descoloração da polpa, alterando as características originais desse produto com consequente desvalorização sensorial.

2.5 Processos de separação por membranas

Os processos de separação por membranas apresentam vantagens em relação aos processos clássicos de separação, proporcionando redução no consumo de energia, redução no número de etapas de um processamento, maior eficiência na remoção e alta qualidade do produto final (HABERT, BORGES e NÓBREGA, 2006).

Uma membrana pode ser definida como uma barreira seletiva que permite a passagem de alguns componentes de uma mistura e restringe o transporte de outros (CHERYAN, 1998), com isso, é possível concentrar, fracionar e purificar compostos. Os processos baseiam-se nos princípios de permeabilidade e seletividade de um ou mais componentes de uma mistura através de uma membrana. Nestes processos, a corrente de alimentação é separada em duas frações, o permeado e o retido ou concentrado (MULDER, 1991).

A tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas tem sido muito utilizada para a clarificação e concentração dos sucos. Para essas finalidades, os processos de separação mais empregados são a microfiltração, a ultrafiltração e a osmose inversa. Esses processos, quando associados a um procedimento de embalagem asséptico, também são utilizados para a esterilização a frio do produto (GIRARD; FUKUMOTO, 2000).

2.5.1 Tipos de membranas

A classificação de membranas pode ser feita de acordo com diferentes critérios. Quanto à origem, elas podem ser naturais ou sintéticas. Quanto ao tipo de material que as

constituem, podem ser orgânicas ou inorgânicas. Em função das aplicações a que se destinam, as membranas apresentam diferentes estruturas. De um modo geral as membranas podem ser classificadas em duas grandes categorias: densas e porosas. As características da superfície da membrana que está em contato com a solução é que vão definir tratar-se de uma membrana porosa ou densa (CHERYAN, 1998).

Tanto as membranas densas como as porosas podem ser isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas), ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura. As membranas anisotrópicas se caracterizam por uma região superior muito fina ($\cong 1\mu\text{m}$), mais fechada (com poros ou não), chamada de “pele”, suportada em uma estrutura porosa. Quando ambas as regiões são constituídas por um único material a membrana é do tipo anisotrópica integral. Caso materiais diferentes sejam empregados no preparo de cada região a membrana será do tipo anisotrópica composta (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

Outro tipo de classificação relacionada às membranas diz respeito à evolução tecnológica do material utilizado em sua confecção. De acordo com essa classificação as membranas podem ser divididas em quatro gerações distintas. As membranas de acetato de celulose fazem parte da primeira geração, desenvolvidas principalmente para a dessalinização da água do mar e possuem um limite quanto à temperatura (50°C) e ao pH (3 a 8), além da sensibilidade a microrganismos e a agentes sanitizantes.

As membranas que constituem a segunda geração são as de polímeros sintéticos como poliamidas, poliimidas, polisulfonas, poliarilsulfonas, polivinilideno, nylon e policarbonato, entre outros. Apresentam uma maior resistência à temperatura (75°C), ao pH (2 a 12), aos compostos clorados (até 200ppm) e à compactação mecânica. A terceira geração é representada por membranas não poliméricas. São constituídas de material inorgânico mineral, sendo os mais comuns os óxidos de silício ou de alumínio, zircônio e titânio. A quarta geração é composta de membranas de fibra de carbono. Suas grandes vantagens são a possibilidade de serem esterilizadas, de suportarem altas pressões e de tolerarem soluções com pH entre 0 e 14 e temperaturas superiores a 400°C (GIRARD; FUKUMOTO, 2000; CHERYAN, 1998).

2.5.2 Métodos de filtração

Uma das principais características dos processos de separação com membranas é que podem ser operados em fluxo tangencial ou cruzado (*cross flow filtration*) além da operação convencional do tipo filtração em profundidade (*dead end filtration*) (MULDER, 1991).

No método convencional, a filtração é efetuada pela passagem de uma solução de alimentação em direção perpendicular ao meio filtrante. Neste caso, toda a solução atravessa a membrana criando uma única corrente de saída (MULDER, 1991).

O uso de membranas em escala industrial só foi possível com a introdução dos sistemas tangenciais. Nessa técnica, o fluxo é bombeado paralelamente à superfície da membrana. Devido à alta velocidade ocorre o arraste dos solutos que tendem a se acumular na superfície, tornando esse processo mais eficiente. A Figura 2 compara a filtração convencional com a tangencial. Os sólidos são mantidos em suspensão na corrente de alimentação, resultando em menor formação de torta e, assim, menor resistência na membrana e maior fluxo durante a operação (CHERYAN, 1998).

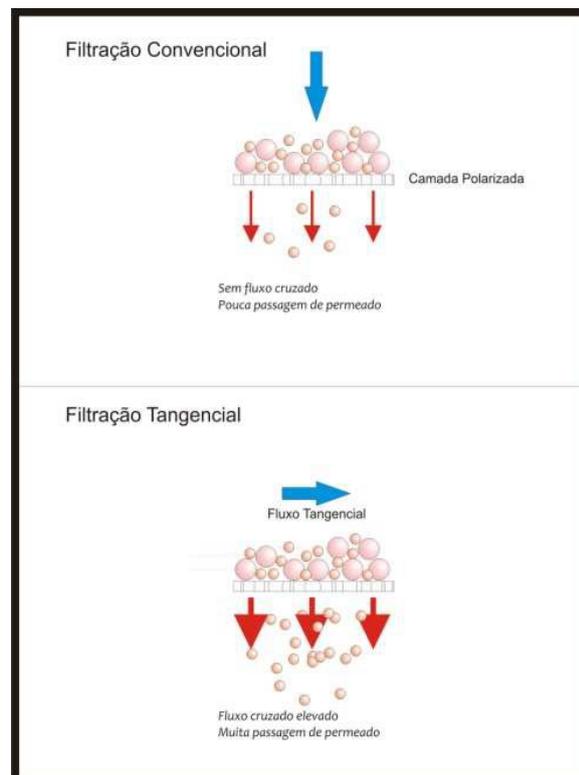


Figura 4. Tipos de filtração (Ilustração: Luis Fernando M. Silva)

2.5.3 Tipos de processos

Os processos de microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração envolvem mecanismos de separação em membranas porosas, enquanto a osmose inversa é caracterizada pela utilização de membranas densas. As membranas de nanofiltração, ultrafiltração e microfiltração apresentam como mecanismo de separação a exclusão por tamanho, determinada pelas dimensões das partículas em relação à distribuição de tamanho de poro da membrana. Já no processo de osmose inversa, as diferenças nos coeficientes de difusão dos componentes através da membrana e a afinidade destes em relação ao material da membrana determinam a seletividade da mesma, consistindo em um fator adicional para a separação (CUPERUS; NIJHUIS, 1993). O mecanismo de separação ocorre, na prática, de maneira mais complexa devido à influência de diversos parâmetros tais como: composição da membrana, configuração do equipamento, superfície da membrana, pressão, temperatura e dinâmica do fluido (KOSEOGLU, RHEE e LUSAS, 1989).

Tabela 2. Espécies retidas em diferentes processos com membranas

Espécie	Massa Molar (Da)	Tamanho (nm)	Processos Aplicáveis			
			OI	NF	UF	MF
Leveduras e fungos		$10^3 - 10^4$				X
Células bacterianas		$300 - 10^4$			X	X
Colóides		$100 - 10^3$			X	X
Vírus		$30 - 300$			X	X
Proteínas	$10^4 - 10^6$	$2 - 10$			X	
Polissacarídeos	$10^3 - 10^6$	$2 - 10$		X	X	
Enzimas	$10^3 - 10^6$	$2 - 5$		X	X	
Açúcares simples	$200 - 500$	$0,8 - 1,0$	X	X		
Orgânicos	$100 - 500$	$0,4 - 0,8$	X	X		
Íons inorgânicos	$10 - 100$	$0,2 - 0,4$	X			

Fonte: HABERT, BORGES e NÓBREGA, 2006.

2.5.3.1 Microfiltração

No processamento de sucos de frutas, a clarificação é necessária para evitar o aparecimento de turbidez, indesejada durante a estocagem, e que é causada por macromoléculas como pectina, celulose, hemicelulose, amido e proteínas presentes no suco.

A clarificação dos sucos também facilita o tratamento térmico posterior, aumentando a taxa de transferência de calor no processo de pasteurização. Além disso, facilita a concentração do suco, pois como a maioria dos sucos clarificados e previamente despectinizados comporta-se como fluido newtoniano, enquanto os sucos turvos e polposos exibem comportamento não-newtoniano, os problemas de deposição de matéria orgânica na superfície do evaporador são reduzidos (RAMTEKE et al., 1993).

No entanto, os métodos tradicionais de clarificação de sucos são trabalhosos, exigindo o uso de grandes tanques de refino, assim como grandes quantidades de enzimas e auxiliares de filtração. O procedimento, que inclui centrifugação, tratamento enzimático, coagulação, decantação e filtração, dura de 12 a 36 horas, com rendimento de 80 a 94% (CHERYAN, 1998).

Cruz (2008) avaliou a clarificação de suco de açaí por processo de microfiltração utilizando membranas tubulares cerâmicas com poros de 0,1 μm e área filtrante total de 0,022 m^2 e membrana tubular de polietersulfona com poros de 0,3 μm de diâmetro e área filtrante total de 0,05 m^2 . Os processos foram conduzidos em temperaturas de 25 °C e 35°C, com vazão de recirculação de 900 L h⁻¹ e pressão aplicada à membrana de 3 bar. Como alimentação para os processos, foi utilizado suco de açaí centrifugado em centrifuga com cesto de malha com abertura de 150 μm . Os processos realizados à temperatura de 35°C apresentaram maiores valores de fluxo (117,4 L h⁻¹ m⁻²) para membranas cerâmicas e 25,3 L h⁻¹ m⁻² para membrana polimérica) em relação aos processos conduzidos a 25 °C (81,6 L h⁻¹ m⁻² para membranas cerâmicas e 18,1 L h⁻¹ m⁻² para membrana polimérica). Os fluxos obtidos nos processos realizados em membranas cerâmicas apresentaram maiores valores de fluxo em relação aos realizados no sistema de membrana polimérica. A diferença de temperatura nos processos (25°C e a 35°C) não alterou significativamente os parâmetros físicos e químicos do permeado.

2.5.3.2 Nanofiltração

As membranas de nanofiltração tanto apresentam comportamento similar a membranas de osmose inversa quanto a membranas de ultrafiltração, o que dificulta a descrição deste processo (BRUGGEN e GEENS, 2008).

A nanofiltração surgiu devido à necessidade de promover a separação de compostos de massa molar na faixa de 300 a 1000 g/mol e também de íons de baixa massa molar com tamanhos e valências diferentes. Enquanto as membranas de ultrafiltração rejeitam moléculas com massa molar acima de 5000 g/mol e as membranas de osmose inversa rejeitam moléculas com massa molar menor que 300 g/mol, havia a necessidade da introdução de um novo tipo de membrana com capacidade de rejeição de moléculas na faixa intermediária entre UF e OI. Assim como os processos de MF, UF e OI, a nanofiltração também opera como resultado de um gradiente de pressão para garantir a separação dos compostos (SFORÇA, 1999; SILVA, 2004).

Tradicionalmente as membranas de nanofiltração são constituídas por polímeros orgânicos, podendo ser homogêneas ou heterogêneas dependendo da técnica utilizada em sua síntese. Os polímeros mais utilizados na síntese desta classe de membranas são polietersulfona, poliamida e outras misturas de polímeros que ultimamente vêm sendo estudadas com a finalidade de se obter membranas estáveis a diferentes faixas de pH, altas temperaturas e solventes orgânicos (BRUGGEN e GEENS, 2008).

Diversas aplicações têm sido demonstradas para as membranas de nanofiltração, dentre elas estão o tratamento de efluentes na indústria têxtil e de papel, remoção de compostos orgânicos da água (YEH *et al.*, 2000), dessalinização da água em duas etapas em associação com membranas de osmose inversa (HASSAN *et al.*, 1998) e na indústria de alimentos, especificamente na concentração de sucos de frutas (WARCZOK *et al.*, 2004).

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

Mello e colaboradores (2010) avaliaram a concentração de flavonóides e compostos fenólicos em extratos de própolis por nanofiltração. Foram preparadas duas soluções de própolis: uma aquosa, com 80% de água deionizada e outra alcoólica, com 80% de etanol. Foi

utilizado um equipamento piloto com uma membrana NF90 com configuração espiral, composta de poliamida e polietersulfona e área total de permeação de 0,6 m². O processo foi conduzido a uma pressão aplicada à membrana de 6 bar a uma temperatura de 20°C. Os autores verificaram que as membranas de nanofiltração apresentaram aproximadamente 100% de retenção para os teores de compostos fenólicos no extrato aquoso que no extrato alcoólico a retenção foi de aproximadamente 90%. Os resultados sugerem que a nanofiltração pode ser utilizada para concentração destes compostos com a preservação dos mesmos, devido à não utilização de altas temperaturas.

Cissé e colaboradores (2011) avaliaram diferentes membranas comerciais de ultrafiltração e nanofiltração para concentração de antocianinas de extrato de hibiscus. Os processos foram conduzidos em diferentes condições de pressão aplicada à membrana e temperatura de 35°C. Os autores verificaram que as membranas de nanofiltração apresentaram alta retenção para antocianinas com valores elevados de fluxo de permeado e baixo consumo de energia.

2.5.4 Problemas potenciais dos processos

O principal problema na aplicação dos processos de separação por membranas (PSM) é a redução do fluxo de permeado ao longo do processamento, causada pela polarização da concentração e pela incrustação (*fouling*).

A polarização de concentração é caracterizada pelo aumento de solutos no seio da membrana, isto é, uma concentração de compostos na região superficial da membrana, levando a um aumento da resistência na permeação do produto utilizado (HABERT, BORGES e NÓBREGA, 2006).

Por outro lado, a incrustação (*fouling*) é caracterizada pela adsorção de solutos nos poros da membrana, entupimento dos poros, formação de camada gel na superfície da membrana e estes fenômenos podem ocorrer através da precipitação de compostos inorgânicos como CaCO₃ ou CaSO₄, acúmulo de compostos orgânicos ou possibilidade de crescimento de bactérias na superfície da membrana (*biofouling*) (VROUWENVELDER *et al.*, 1998; LEE e LEE, 2000; HER, AMY E JARUSUTTHIRAK, 2000).

A incrustação é definida quando há um declínio irreversível do fluxo de permeado podendo ser removido apenas com a utilização de agentes químicos, não devendo ser

considerado quando houver a possibilidade de remoção apenas com a troca da alimentação por água pura (VAN DER BRUGGEN; BRAEKEN; VANDECASTEELE, 2002).

Baixas pressões aplicadas à membrana além do uso de velocidades tangenciais elevadas favorecem a minimização do efeito da incrustação, pois como os fenômenos relacionados à incrustação dependem da concentração do soluto na região próxima à superfície da membrana, estas condições de operação minimizam a redução do fluxo permeado se estabilizando mais rapidamente e em valores superiores aos dos fluxos “estáveis”, quando se trabalha em condições mais severas de pressão (HABERT, BORGES E NÓBREGA, 2006).

A incrustação pode causar efeito negativo na aplicação de processos de nanofiltração diminuindo o rendimento de permeado, aumentando o consumo de energia, pois se torna necessário o aumento da pressão aplicada à membrana, é utilizada uma maior quantidade de produtos químicos para sua remoção e com isso há diminuição da vida útil da membrana. Outro fator importante é o aumento da retenção de determinados compostos para um mesmo material utilizado como alimentação (NOBLE e STERN, 1995).

Para uma mesma pressão de operação, o fluxo permeado diminui com o aumento da viscosidade, ou seja, a permeabilidade da membrana, para um dado solvente, é inversamente proporcional à viscosidade do meio (HABERT, BORGES E NÓBREGA, 2006).

Van Der Bruggen e colaboradores (2000) avaliaram as causas e efeitos da incrustação em duas membranas comerciais de nanofiltração. Para isso utilizaram soluções aquosas com diferentes compostos orgânicos e avaliaram os efeitos da adsorção destes compostos nas membranas estudadas. Os autores verificaram que o fluxo de permeado reduz em torno de 50% para soluções contendo menos que 1g/L de alguns compostos orgânicos e que esta redução ocorre em função da concentração do composto presente e também devido ao efeito de adsorção no material da membrana. Foi encontrada uma clara relação entre o momento dipolo, o coeficiente octanol – água e a solubilidade dos compostos com o fenômeno de adsorção, sugerindo que tanto as cargas da superfície da membrana quanto à hidrofobicidade da mesma estão envolvidas neste fenômeno.

Wu e colaboradores (2007) estudaram o *fouling* durante a ultrafiltração de efluente gerado da fabricação do óleo de palma com uma membrana de polissulfona de 20 kDa. A tendência ao *fouling* do sistema foi calculada comparando a permeabilidade à água destilada

antes e após os ensaios. Os valores de permeabilidade foram obtidos através dos fluxos de permeado em testes com água destilada. Os autores obtiveram valores de fluxo de permeado para água antes dos ensaios de $23,4 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e após os ensaios de $3,81 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, a uma pressão aplicada à membrana de 6 bar, e a tendência ao *fouling* encontrada para o sistema foi de 83,7%.

2.5.5 Parâmetros de avaliação do desempenho

Para a análise do desempenho e eficiência do processo de filtração por membranas os seguintes parâmetros são fundamentais (RENNER; SALAM, 1991):

a) Fluxo de permeado (J): avalia o volume de permeado obtido por determinado período de tempo de tempo pela área total da membrana, como mostrado na equação 1.

$$J = \frac{V_p}{t \cdot A_m} \quad (1)$$

onde, V_p é o volume de permeado recolhido, t indica o tempo de recolhimento deste volume e A_m é a área filtrante da membrana que entrou em contato com o produto.

b) Coefficiente de retenção: fornece uma medida quantitativa da capacidade da membrana em reter, por exemplo, as moléculas ou componentes específicos, sob determinadas condições de operação como mostrado na equação 2.

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_i}\right) \times 100\% \quad (2)$$

onde, C_i e C_p são respectivamente, a concentração inicial de um componente no produto utilizado como alimentação para o processo e a concentração deste mesmo componente no permeado em cada amostragem.

c) Fator de redução volumétrica (FRV): quantifica a redução de volume atingido pelo processo. É calculada como a razão entre o volume inicial na alimentação e a massa final de retido como mostrado na equação 3.

$$FRV = \frac{V_a}{V_a - V_p} \quad (3)$$

onde, V_a é o volume da alimentação e V_p o volume do permeado.

2.6 Microencapsulação

A microencapsulação pode ser definida como um processo no qual uma membrana envolve pequenas partículas de sólido, líquido ou gás com o objetivo de proteger o material das condições adversas do meio, tais como luz, umidade, oxigênio e interações com outros compostos, estabilizando o produto, aumentando sua vida útil e promovendo a liberação controlada do encapsulado em condições pré – estabelecidas (SHAHIDI; HAN, 1993).

O material a ser encapsulado é designado por núcleo, material ativo ou fase interna, enquanto o material que forma o revestimento é chamado de material de parede, carreador, membrana ou casca. O núcleo pode ser composto por um ou mais ingredientes e a “casca” pode ser formada por uma ou mais camadas (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

A microencapsulação permite mascarar o sabor amargo de alguns componentes, reduzir a volatilidade do material e transformar líquidos em partículas sólidas, com maior uniformidade, facilitando seu manuseio (THIES, 2001).

Esta tecnologia tem sido muito aplicada na encapsulação de células vivas como microrganismos, na produção de material de impressão (papéis), adesivos, fármacos, agroquímicos, cosméticos, ingredientes alimentícios, produtos relacionados à reprodução de imagem e em menor escala nas indústrias de óleos com finalidades lubrificantes (REINECCIUS, 1989).

Existem diversas técnicas de microencapsulação, porém antes de optar pela mais adequada, é necessário se levar em consideração o tamanho das microcápsulas obtidas, o tipo de aplicação do produto, o mecanismo de liberação do material ativo e principalmente as características físicas e químicas do material a ser encapsulado (JACKSON; LEE, 1991).

A microencapsulação pode ser realizada por meio de métodos físicos, químicos e físico-químicos. As técnicas de extrusão estacionária, bocal submerso, extrusão centrífuga, bocal vibrante, secagem por atomização, *spray freezing*, *spray chilling*, *spray cooling*, disco rotativo, *pan coating*, suspensão por ar, liofilização e cocristalização compõem o grupo de métodos físicos. Os métodos químicos, por sua vez, são formados pelas técnicas de inclusão molecular e polimerização interfacial. Já os métodos físico-químicos incluem a coacervação, separação por fase orgânica, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico (ARSHADY, 1993; RÉ, 2000; JACKSON; LEE, 1991).

A secagem por atomização é uma das técnicas mais utilizadas para a encapsulação, principalmente na indústria alimentícia, devido à disponibilidade de equipamento, baixo custo de processo, emprego de ampla variedade de agentes encapsulantes, boa retenção dos compostos voláteis e estabilidade do produto final (REINECCIUS, 1989). Outra vantagem é o pequeno tamanho das partículas (menores que 100 μm), que torna o produto altamente solúvel. Neste método, o material ativo é uniformemente aprisionado dentro de uma matriz polimérica de recobrimento (REINECCIUS, 1989).

Essa técnica utiliza um tipo de equipamento denominado atomizador ou *spray dryer*, que consiste basicamente de uma câmara, geralmente cônica, na qual o material a ser desidratado é introduzido por aspensão sob pressão, por meio de bicos atomizadores, resultando em microgotículas. Estas, ao entrarem em contato com o ar quente que supre o calor necessário à evaporação, formam microesferas. Em seguida há a separação do produto seco do ar de saída, sendo recolhido em um compartimento. Este processo produz partículas esféricas devido à suspensão livre das gotículas líquidas no meio gasoso. As partículas formadas são sólidas, com parede contínua ou porosa, dependendo das características do material utilizado e das condições de secagem (SHAHIDI; HAN, 1993).

Apesar de ser uma técnica que utiliza altas temperaturas, é considerada apropriada para a secagem de produtos termosensíveis, pois a rápida evaporação da água durante o processo faz com que a qualidade do material ativo praticamente não seja afetada (RÉ, 2000; FILKOVÁ; MUJUMDAR, 1995).

As microcápsulas produzidas por atomização, em geral, apresentam uma estrutura amorfa metaestável em estado vítreo, com uma permeabilidade mínima aos componentes que serão encapsulados em seu interior. Essa redução aumenta a temperatura de transição vítreo, resultando em uma matriz impermeável aos compostos orgânicos e ao oxigênio, no entanto a permeabilidade à água permanece limitada. Esta difusão seletiva é a base para a encapsulação utilizando a atomização. A liberação do material encapsulado por difusão ocorre quando a matriz em estado vítreo sofre uma transição de fase, passando para um estado com maior mobilidade molecular denominado elastomérico (KAREL; FLINK, 1983).

2.6.1 Agentes carreadores

O passo inicial no processo de microencapsulação é a escolha do agente encapsulante, que é basicamente um material formador de filmes e pode ser selecionado de uma grande variedade de polímeros naturais e sintéticos (REINECCIUS, 1989).

A seleção do agente encapsulante depende do processo usado para a formação das cápsulas, das propriedades físicas e químicas do material a ser encapsulado, da compatibilidade entre o material de parede e o núcleo e do tipo de aplicação do produto (BRAZEL, 1999; RÉ, 2000).

Um material de parede ideal deve apresentar baixa viscosidade em altas concentrações, facilidade de manipulação, habilidade para dispersar ou emulsificar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida, habilidade para lacrar e segurar o material ativo dentro da sua estrutura, liberação completa do solvente ou outro material que será usado durante o processamento, habilidade em proporcionar a máxima proteção ao material ativo contra as condições ambientais, solubilidade em solventes aceitáveis na indústria de alimentos, boa disponibilidade no mercado e baixo custo, além de não reagir com o material a ser encapsulado (SHAHIDI; HAN, 1993).

Como a maioria dos agentes encapsulantes não possui todas essas propriedades, na prática é comum a mistura de dois ou mais materiais. Os materiais mais utilizados como agentes encapsulantes são as gomas vegetais, os carboidratos, as celuloses, os lipídeos e as proteínas (SHAHIDI; HAN, 1993).

2.6.2 Maltodextrina

As maltodextrinas são hidrolisados de amido compostos de unidades de D glicose ligadas principalmente por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) com uma fórmula geral igual a $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$. Apresentam-se na forma de pó branco ou solução concentrada (BE MILLER; WHISTLER, 1996).

São classificadas pelo grau de polimerização (DP) e de dextrose equivalente (DE), que é a medida do nível de hidrólise da molécula de amido. O grau de DE pode variar de 5 a 95. O aumento do grau de DE aproxima o hidrolisado das propriedades da dextrose, enquanto que a sua redução o aproxima das propriedades do amido (REINECCIUS, 1989).

Produtos com valores de DE inferiores a 20 são chamados de maltodextrinas. Apresentam baixa higroscopicidade e não possuem poder edulcorante. Hidrolisados do amido de milho com valores de DE entre 20 e 60 são denominados xarope de milho sólido. Apresentam maior capacidade de absorver umidade e uma leve doçura (BE MILLER; WHISTLER, 1996).

A maltodextrina é um dos aditivos mais utilizados como agente encapsulante porque, além do baixo custo, apresenta baixa higroscopicidade, evita a aglomeração das partículas; possui efeito antioxidante e retém os voláteis na faixa de 65 a 80% (SHAHIDI; HAN, 1993).

Entretanto, apresenta como desvantagem a ausência de capacidade emulsificante. Porém essa deficiência nas propriedades emulsificantes não representa um problema quando o material ativo a ser encapsulado é hidrossolúvel ou quando se utiliza um emulsificante secundário no processo (REINECCIUS, 1989).

Tonon (2011), ao avaliar a obtenção de suco de açaí em pó pelo processo de spray drying utilizou quatro diferentes tipos de agentes carreadores: maltodextrina 10DE, maltodextrina 20DE, goma arábica e fécula de mandioca. Após a realização de testes de estabilidade de antocianinas, atividade antioxidante e polifenóis totais, verificou que as partículas produzidas com maltodextrina 10DE foram as que apresentaram maiores tempos de meia-vida, seguidas pelas produzidas com goma arábica.

Pagani (2010) estudou o comportamento de suco de acerola microencapsulado por atomização, integrado a processos de separação por membranas. O suco de acerola foi clarificado por microfiltração e a fração retida da microfiltração foi utilizada como matéria-prima para a secagem atomização. Foram utilizados como agentes encapsulantes a maltodextrina e goma arábica em proporções diferentes. Os pós foram acondicionados em embalagens laminadas e em embalagens plásticas transparentes à temperatura de aproximadamente 30°C. Durante 90 dias, a estabilidade da vitamina C, antocianinas totais e atividade antioxidante foi avaliada. A formulação contendo a mesma proporção de maltodextrina e goma arábica apresentou uma melhor retenção para antocianinas enquanto a formulação que continha maior proporção de goma arábica, em relação a maltodextrina, apresentou maior retenção para vitamina C e atividade antioxidante.

3 Material e métodos

O trabalho foi dividido em duas etapas:

A primeira etapa foi realizada na planta de operações unitárias e laboratórios do CIRAD (*Centre de Coopération Internationale en Recherche agronomique pour le développement*), em Montpellier, França. Nesta etapa foi realizada a seleção da membrana comercial de nanofiltração, por meio de testes de permeabilidade do suco de açaí e retenção das antocianinas presentes no suco (Figura 5).

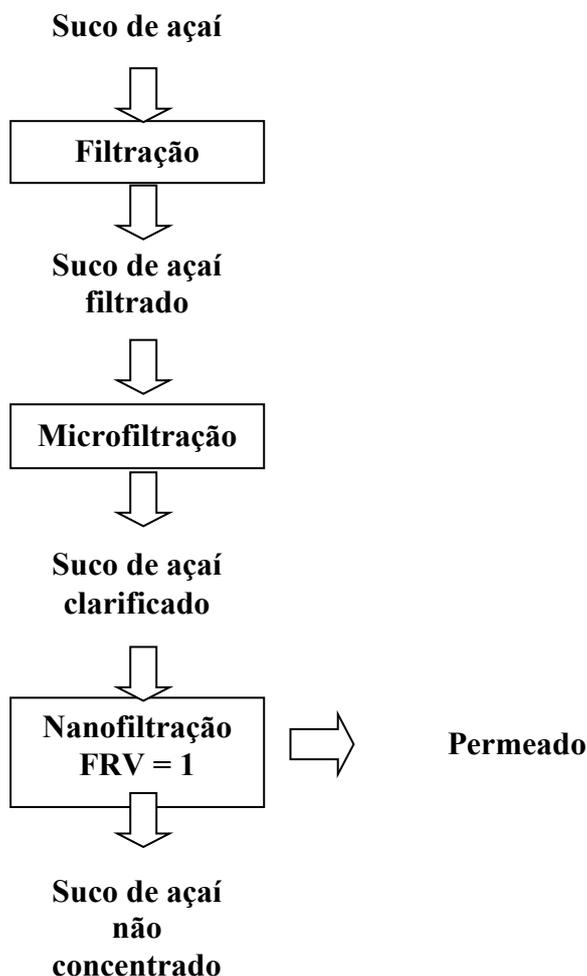


Figura 5. Esquema da etapa de escolha da membrana de nanofiltração

A segunda etapa foi realizada na planta piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos, no Rio de Janeiro, onde se utilizou a membrana escolhida para concentração do suco de açaí em escala piloto. Posteriormente o suco concentrado foi microencapsulado pelo processo de *spray dryer* para avaliação de sua estabilidade (Figura 6).

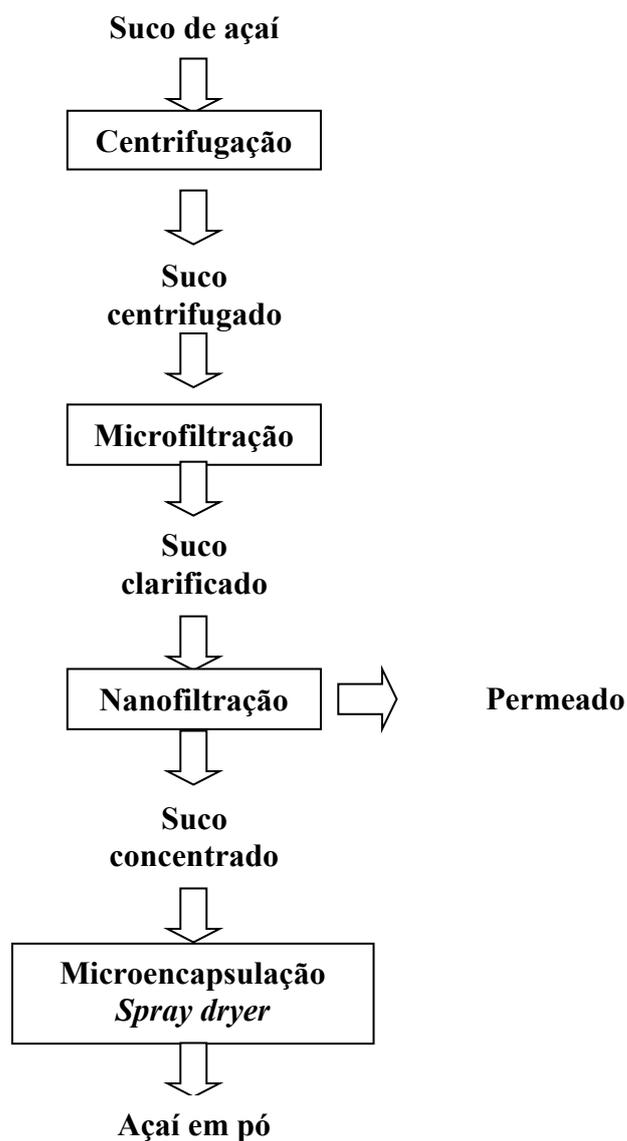


Figura 6. Esquema da obtenção de suco de açaí concentrado e microencapsulado.

3.1 Material

3.1.1 Matéria-prima

Na primeira etapa foi utilizado suco de açaí comercial cedido pela empresa Bolthouse, situada em Belém do Pará. O suco foi transportado do Brasil para a França, congelado, em embalagens de poliestireno expandido. As amostras foram recebidas ainda congeladas e foram armazenadas em câmara de congelamento à temperatura de -18°C , sendo retiradas na medida em que foram sendo utilizadas. Os produtos foram descongelados na própria embalagem, colocadas em recipientes com água para acelerar o processo de descongelamento.

Na segunda etapa foi utilizado suco de açaí congelado em embalagens de um quilograma adquirido da empresa de polpa de açaí, CAMTA, sediada em Tomé Açu, Pará. O suco permaneceu congelado em câmara de congelamento a uma temperatura de -18°C, também sendo retirado na medida em que era utilizado. Para o descongelamento do produto, foram utilizados baldes de aço inoxidável onde o produto era colocado, sem sua embalagem original e permanecendo em câmara de refrigeração com temperatura de 4°C até seu total descongelamento.

3.1.2 Membranas

As membranas relacionadas no Quadro 1 foram avaliadas ao longo do trabalho. Todas as membranas eram de configuração plana.

Quadro 1. Membranas comerciais de nanofiltração.

MEMBRANA	FABRICANTE	COMPOSIÇÃO	FAIXA DE SEPARAÇÃO (kDa)
NF270	Dow / Filmtec (EUA)	Base de polisulfona microporosa recoberta com camada semi-aromática de piperazina	0,2 – 0,4
UTC 60	Toray Industries Inc. (Suíça)	Poliamida aromática	**
MPF 36	Koch Membrane Systems Inc. (EUA)	Composite	~ 1
DK	GE (EUA)	Thin film	0,15 – 0,3
DL	GE (EUA)	Thin film	0,15 – 0,3
NP010	Microdyn Nadir (Alemanha)	Poliétersulfona	1

3.1.3 Agente encapsulante

Para a realização dos ensaios de microencapsulação foi utilizado como agente encapsulante a maltodextrina 10 DE (Mor-Rex 1920, Corn products Brasil), omo recomendado por Tonon (2011).

3.2 Métodos

3.2.1 Seleção da membrana de nanofiltração

3.2.1.1 Filtração do suco de açaí

O suco de açaí foi filtrado em filtro tipo manga da marca HAYWARD - LOEFFLER FILTRATION CLEARGAF POF - 100 - PO2E - 30L com poros de 200 micrometros. Esta etapa foi realizada com intuito de reter os sólidos e partículas em suspensão deixando o suco isento de substâncias que poderiam causar qualquer dano à bomba de circulação do equipamento de microfiltração.

3.2.1.2 Clarificação do suco de açaí filtrado

O suco de açaí filtrado foi clarificado por microfiltração. Para isso foi utilizado um módulo com escoamento tangencial constituído por membranas tubulares cerâmicas de alfa-alumina com tamanho médio de poro de $0,2\mu\text{m}$ e área total de permeação de $0,022\text{m}^2$ (Figuras 7 e 8). Foram realizados dois processos de microfiltração, ambos em regime de batelada alimentada, com alimentação total em cada processo de 18 litros de suco. A pressão aplicada à membrana foi de 3 bar e temperatura média de processo de $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ como recomendado por Cruz (2008). O controle de temperatura era realizado com auxílio de um tubo encamisado equipado com um termômetro, conectado a rede de água do laboratório. Devido à dificuldade de se avaliar o fluxo de permeado logo nos primeiros instantes do processo, foi padronizado que a primeira medida fosse realizada após 10 minutos do momento em que a bomba da alimentação era ligada.

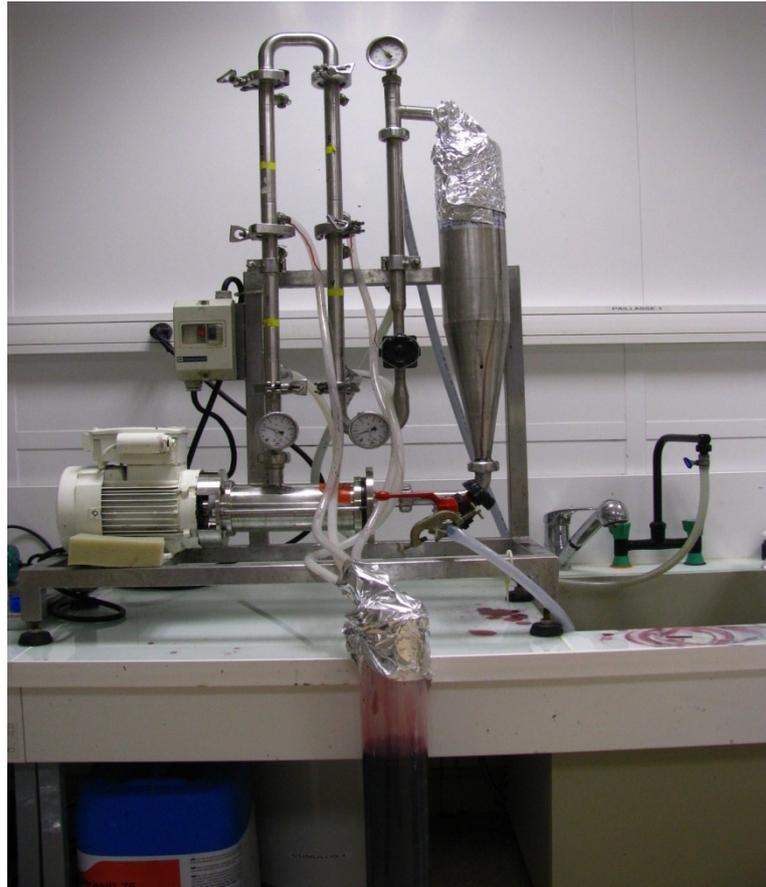


Figura 7. Equipamento de microfiltração com membranas cerâmicas (CIRAD-Montpellier)

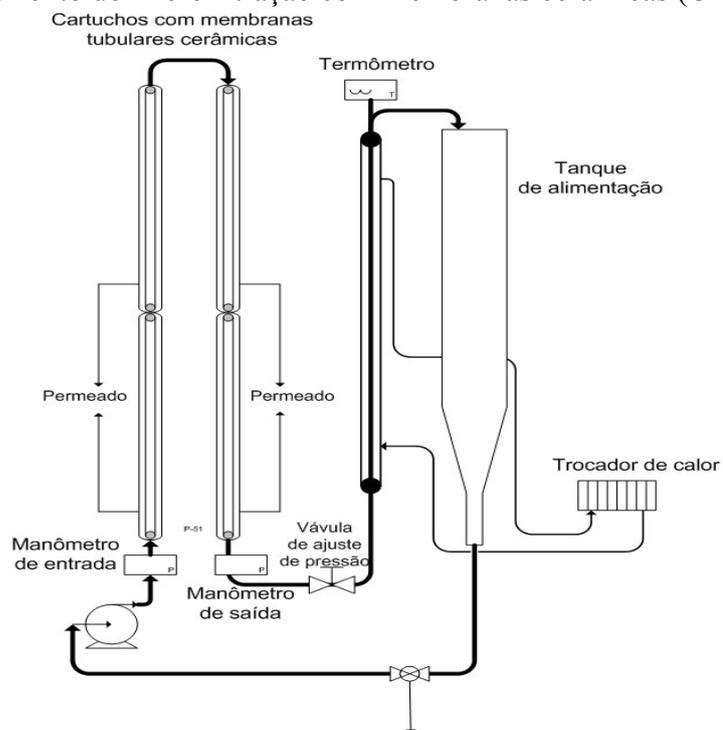


Ilustração: Daniel Simões Couto

Figura 8. Diagrama esquemático do equipamento de microfiltração com membranas cerâmicas (CIRAD-Montpellier)

3.2.1.3 Ensaios de nanofiltração

O suco de açaí clarificado por microfiltração foi utilizado como alimentação para os ensaios de nanofiltração.

Esta etapa foi conduzida em um módulo GE Osmonics (Minnetonka, MN, USA) de configuração quadro e placas com área total de permeação de 150 cm² sendo testadas seis membranas comerciais de diferentes fabricantes, já apresentadas no Quadro 1.

Os testes foram realizados em temperatura de 35°C, com fator de redução volumétrica igual a 1, isto é, sem que houvesse concentração do produto nas pressões de 10, 15, 20 e 30 bar, sendo a pressão aumentada a cada uma hora de processo (Figura 9). Antes de iniciar o teste com o suco, a membrana era condicionada com água destilada por uma hora a 35°C e 20 bar. A temperatura do ensaio era controlada por meio de banho-termostático acoplado ao tanque de alimentação encamisado.

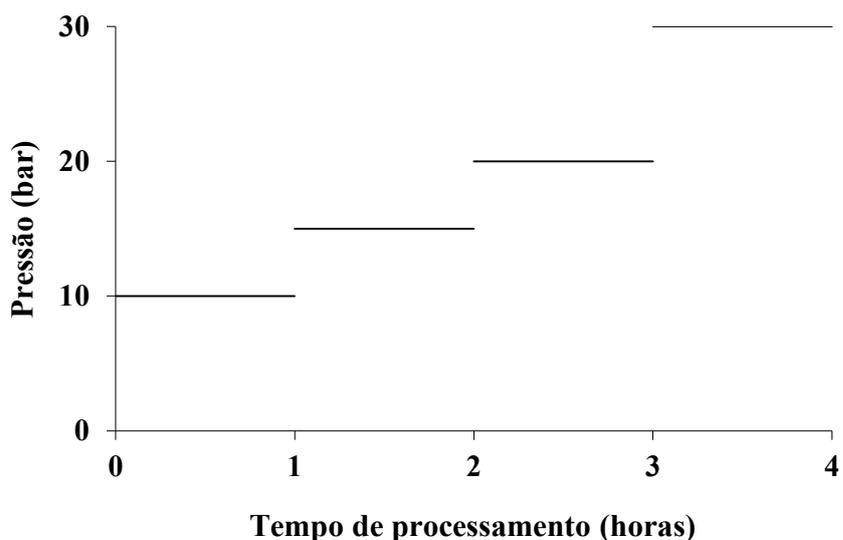


Figura 9. Esquema utilizado na avaliação de membranas de nanofiltração.

Após o condicionamento da membrana determinava-se a sua permeabilidade hidráulica. Após o processo o material presente no sistema era recolhido e o equipamento era enxaguado para a retirada do produto restante.

Para cada processo foram utilizados aproximadamente três litros de suco em regime de batelada alimentada. A cada 10 minutos de processo, o fluxo permeado foi determinado em triplicata. Foi realizado um teste de repetibilidade com a membrana que apresentou maior fluxo permeado e maior retenção de antocianinas. Amostras de permeado foram recolhidas a

cada diferença de pressão, para determinação de antocianinas para verificação de possível permeação de tal composto pela membrana.

As Figuras 10 e 11 mostram o equipamento de nanofiltração utilizado para a avaliação das membranas.



Figura 10. Equipamento de nanofiltração configuração quadro e placa (CIRAD-Montpellier).

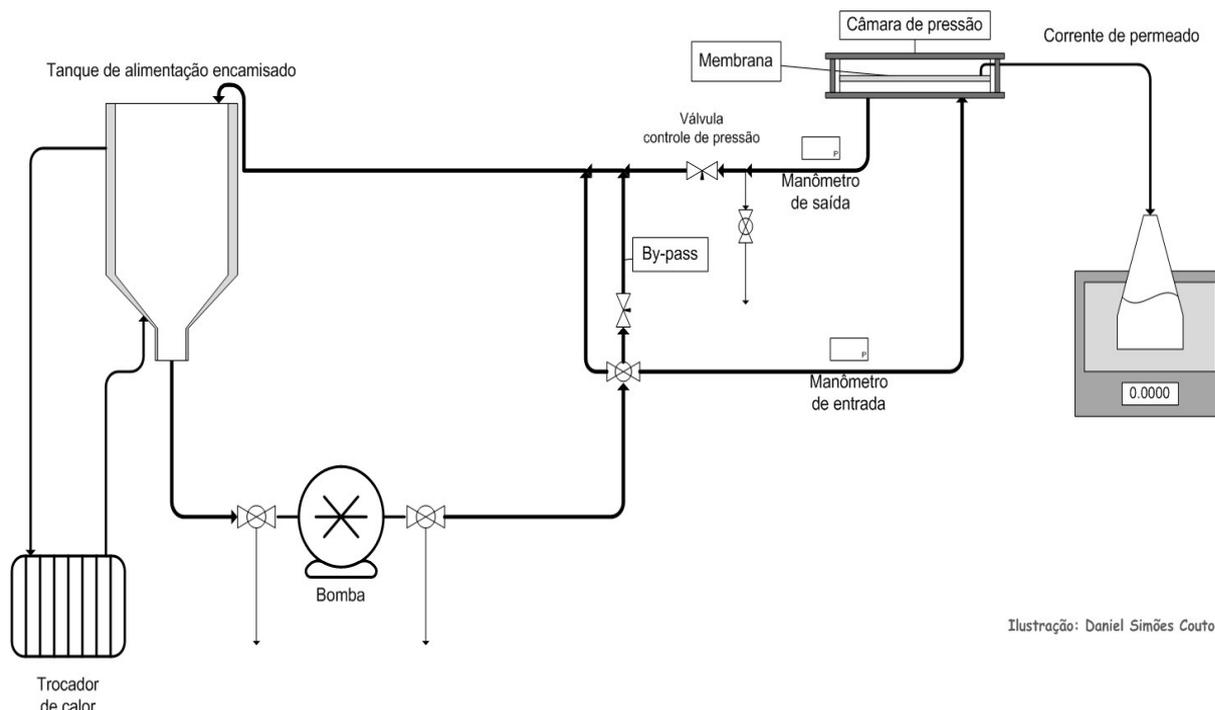


Figura 11. Diagrama representativo do equipamento de nanofiltração configuração quadro e placa (CIRAD-Montpellier).

A membrana que se apresentou mais eficiente em relação ao fluxo de permeado e retenção de antocianinas foi selecionada para a etapa posterior do processo. Para o cálculo de rejeição das membranas às antocianinas foi utilizada a equação 2 citada no item 2.4.4.

3.2.2 Concentração do suco de açaí por nanofiltração

3.2.2.1 Centrifugação de suco de açaí

Após descongelamento, o suco foi submetido à centrifugação em centrífuga de aço inoxidável tipo cesto com malha de tamanho de poros de $150\ \mu\text{m}$, raio de $21,5\ \text{cm}$, a $400\ \text{RPM}$. A centrifugação era realizada a uma força G de $37,5$. O suco centrifugado foi acondicionado em bombonas plásticas e armazenado em câmara de congelamento a -18°C até serem utilizados. As bombonas eram descongeladas à medida que eram utilizadas.

3.2.2.2 Clarificação do suco de açaí centrifugado

O processo de microfiltração foi realizado em um módulo com escoamento tangencial constituído por membranas tubulares cerâmicas de alfa-alumina com tamanho médio de poro de $0,1\ \mu\text{m}$ e área total de permeação de $0,022\ \text{m}^2$ (Figuras 12 e 13). Foram realizados 12 processos de microfiltração em regime de batelada, com alimentação total em cada processo de aproximadamente 6 litros de suco de açaí centrifugado para que se obtivesse uma

quantidade suficiente para a realização da concentração por nanofiltração. A pressão aplicada à membrana foi de 3 bar, vazão de 700 L/h e temperatura média de processo de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ como recomendado por Cruz (2008). O controle temperatura foi realizado através da conexão de um banho termostático ao tanque de alimentação encamisado.



Figura 12. Equipamento de microfiltração por membranas cerâmicas (Embrapa Agroindústria de Alimentos).

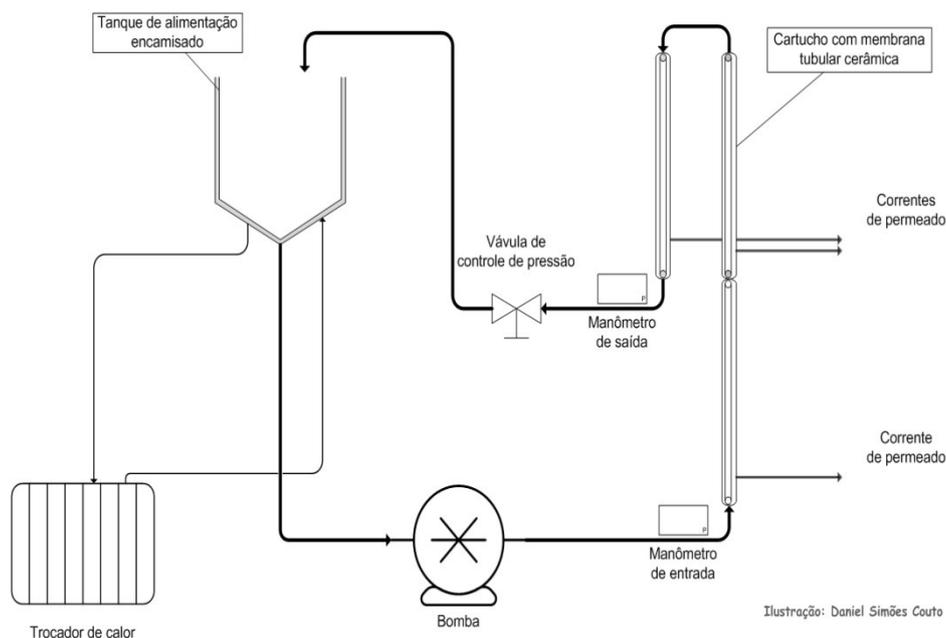


Figura 13. Diagrama esquemático do equipamento de microfiltração com membranas tubulares cerâmicas (Embrapa Agroindústria de Alimentos).

3.2.2.3 Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de microfiltração

Antes de cada processamento, a permeabilidade hidráulica do conjunto de membranas de microfiltração foi determinada, a fim de verificar o estado de limpeza e integridade das mesmas.

Esta etapa foi realizada com água destilada como alimentação, à mesma temperatura do processamento com o suco. Avaliava-se o fluxo de permeado da água em função da pressão aplicada à membrana.

Após cada processamento, era realizada a limpeza do equipamento com solução de NaOH a 2,5% e 400 ppm de cloro em temperatura média de 60°C. A solução recirculava pelo sistema por 40 minutos. Após a utilização da solução de hidróxido de sódio enxaguava-se o equipamento com água destilada até a completa remoção da solução utilizada. A avaliação da remoção da solução de hidróxido de sódio era realizada pela análise do pH da água com fitas indicadoras de pH.

Devido ao volume morto do sistema, logo após a limpeza e antes do processamento com suco, um litro de suco era adicionado ao tanque de alimentação e circulado, expulsando a água presente no sistema, sendo este suco descartado.

3.2.2.4 Concentração do suco de açaí clarificado

Para a concentração do suco de açaí clarificado por microfiltração foi utilizado um equipamento de nanofiltração PAM Membranas, mostrado na figura 14. O equipamento possui dois circuitos que podem ser alternados por meio de uma válvula localizada logo após a bomba. Um dos circuitos possui um módulo de membrana com configuração quadro e placas com área de permeação total de 0,0079 m² e o outro circuito possui um módulo de configuração espiral com área total de permeação de 2,5 m². Foi adquirido um módulo de configuração espiral da empresa Dow/Filmtec, modelo NF270, sendo este acoplado ao equipamento de nanofiltração. Foram realizados três ensaios de nanofiltração em regime de batelada com volume inicial de suco de açaí clarificado de 16 litros, sendo os ensaios conduzidos à pressão de 10 bar e temperatura de 35°C ± 2°C.



Figura 14. Equipamento de nanofiltração (Embrapa Agroindústria de alimentos)

3.2.2.5 Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração

A permeabilidade hidráulica foi verificada para avaliação da integridade da membrana e sua limpeza

Nos testes de avaliação de membranas comerciais foram realizados testes de permeabilidade hidráulica antes e após os ensaios. Nos testes realizados antes dos ensaios, aproveitou-se a água no sistema, utilizada para o condicionamento das membranas e foi feita a avaliação do fluxo de permeado em função da pressão aplicada à membrana. Visando estimar o efeito da incrustação nas membranas utilizadas, um novo teste de permeabilidade hidráulica

foi realizado após cada ensaio. Para isso, removeu-se o suco utilizado e enxaguou-se com água destilada para remoção total do suco. Após a remoção foi adicionada água destilada no sistema à mesma temperatura utilizada no teste prévio com a repetição do procedimento.

Para avaliação estimada do efeito da incrustação nas membranas utilizou-se a equação 4:

$$I(\%) = \frac{FAP_a - FAP_d}{FAP_a} \times 100 \quad (4)$$

Onde, FAP_a representa o fluxo de água pura antes do processamento e FAP_d representa o fluxo de água pura depois do processamento.

Após os testes de permeabilidade hidráulica para avaliação da incrustação, as membranas eram descartadas, não sendo necessária a limpeza das mesmas. No entanto o equipamento era devidamente limpo com solução de 2% de hidróxido de sódio em temperatura de 40°C durante 40 minutos. Após o enxágue para a retirada da solução de hidróxido de sódio, era adicionado ao tanque de alimentação uma solução de ácido cítrico em concentração de 0,1%. Esta solução circulava pelo sistema por 15 minutos em temperatura ambiente (25°C), sendo então removida com água destilada até neutralização da solução. A avaliação da remoção das soluções de hidróxido de sódio e de ácido cítrico eram realizadas pela análise de pH da água com papel indicador de pH.

Para o equipamento piloto de nanofiltração, onde foi realizada a concentração do suco de açaí, adicionava-se, ao tanque de alimentação, água destilada à mesma temperatura utilizada no processamento com suco e avaliava-se o fluxo de permeado em função da pressão aplicada à membrana.

Após a realização dos testes, o suco foi removido do sistema e então se adicionou água filtrada para remoção do suco remanescente no circuito. Após a remoção completa do suco, , água destilada foi adicionada ao tanque de alimentação para avaliação da permeabilidade.

Após os testes o sistema foi limpo com solução de 2% de hidróxido de sódio em temperatura de 40°C que permanecia recirculando pelo sistema durante 40 minutos. Após este período foi realizado o enxágue para a retirada da solução de hidróxido de sódio com água destilada até neutralização da solução. A avaliação da remoção da solução de hidróxido de sódio foi realizada através da análise de pH da água com papel indicador de pH.

3.2.3 Microencapsulação de suco de açaí concentrado

Foi utilizado como alimentação do processo de atomização o suco de açaí concentrado por nanofiltração.

O material encapsulante empregado foi a maltodextrina 10 DE, citado no item 3.2.3. Foram avaliadas proporções de agente encapsulante em relação aos sólidos totais do suco de 1:1 e 2:1.

As formulações foram homogeneizadas com o auxílio de um agitador mecânico até a completa dissolução dos polissacarídeos. Em seguida foram submetidas à microencapsulação em um mini spray dryer, marca Buchi, Modelo B-190 (Figura 15), com pressão de atomização de 7 bar, vazão média de ar de secagem de 700 L/h, vazão média de alimentação de 34 mL/min, temperatura do ar de entrada de 180°C e temperatura do ar de saída de 90°C.



Figura 15. Mini *spray dryer* BUCHI B-190 utilizado nos ensaios de microencapsulação.

Os produtos obtidos ao final dos processos foram armazenados em embalagens plásticas metalizadas e acondicionados em dessecador para avaliação de sua estabilidade durante 30 (trinta) dias, sendo avaliados no primeiro dia e, posteriormente, a cada 7 dias. Para

avaliação da estabilidade foram utilizados os parâmetros de umidade, atividade antioxidante e antocianinas. Os resultados foram expressos por matéria seca de suco.

3.2.4 Métodos analíticos

3.2.4.1 pH

O pH foi determinado na primeira etapa por leitura direta em pHmêtro Jenco pH - viion 6071 (A.O.A.C.,13.010, 1997) e na segunda etapa em pHmetro Metronal E – 120.

3.2.4.2 Acidez total titulável

A acidez titulável total foi realizada pelo método titulométrico proposto pela A.O.A.C. (1997), em titulador automático, marca Metrohm, modelo 785 DMP – Titrino, utilizando como titulante uma solução de hidróxido de sódio fatorada com biftalato de sódio. Os valores obtidos foram expressos em mg de ácido málico por 100 g de amostra.

3.2.4.3 Teor de sólidos totais

O teor de sólidos totais foi determinado de acordo com Instituto Adolfo Lutz (1985), a qual se baseia na determinação do peso seco obtido pela secagem do material de interesse até obtenção de peso constante em estufa a vácuo a 60 °C. Os valores foram expressos em porcentagem mássica.

3.2.4.4 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi determinado na primeira etapa por meio da leitura direta em refratômetro digital Atago com escala de 0 a 45°Brix. Na segunda etapa, foi realizada leitura direta em refratômetro Bellingham + Stanley Limited Refractometer em escala °Brix a 20°C (A.O.A.C., 932,12 - 1997);

3.2.4.5 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado na primeira etapa utilizando um Espectrofluorímetro de microplacas Infinite[®] 200, Tecan, com placas de polipropileno com 96 orifícios e na segunda etapa foi utilizado espectrofotômetro da marca BIOSPECTRO, modelo SP 220. Em ambas a leitura foi realizada na faixa de 760 nm. Inicialmente, foi realizada uma extração utilizando-se uma mistura acetona-água a 70%. Para a reação colorimétrica foi utilizado o reagente de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 7,5% com o resultado expresso em equivalente de ácido gálico, como descrito por Singleton & Rossi, 1965.

3.2.4.6 Teor de antocianinas totais e monoméricas pelo método do pH diferencial

O teor de antocianinas totais e monoméricas foi determinado pelo método pH diferencial descrita por Giusti & Wrolstad (2001). Na primeira etapa o equipamento utilizado foi um Espectrofluorímetro de microplacas Infinite[®] 200, Tecan utilizando placas de polipropileno com 96 orifícios e na segunda etapa espectrofotômetro da marca Bioespectro, modelo SP 220.

Para a quantificação das antocianinas totais foram consideradas as absorvâncias a 510 e 700nm apenas da solução a pH 1, sendo calculada de acordo com a equação 6.

$$AT = \left[\frac{((Abs_{510} - Abs_{700})_{pH1,0} \times 10^3 \times mm \times fd)}{\varepsilon} \right] \times 100 \quad (6)$$

Onde;

- AT = antocianinas totais expressas em mg de cianidina-3-O-glicosídeo, antocianina majoritária, em 100g de amostra;
- $(Abs_{510} \text{ e } Abs_{700})_{pH1,0}$ = valores de absorvância da amostra diluída na solução tampão pH 1,0 lidos a 510 e 700nm, respectivamente;
- mm = massa molar da cianidina-3-O-glicosídeo (449,2) ou cianidina-3-O-rutinosídeo (631 g mol⁻¹);
- fd = fator de diluição. (volume da diluição (L) / massa de amostra (g));
- ε = coeficiente de extinção molar da cianidina-3-O-glucosídeo em solução tampão pH 1,0 à 510nm (26.900 L cm⁻¹ mol⁻¹) ou coeficiente de extinção molar da cianidina-3-O-rutinosídeo em solução tampão pH 1,0 à 510nm (32.800 L cm⁻¹ mol⁻¹);
- 100 = o valor por 100 gramas de amostra.

Para a quantificação das antocianinas monoméricas foram consideradas as absorvâncias a 510 e 700nm das amostras diluídas nas soluções tampão pH 1.0 e 4.5 e os cálculos de acordo com a equação 7.

$$AM = AT - \left[\frac{((Abs_{510} - Abs_{700})_{pH4,5} \times 10^3 \times mm \times fd)}{\varepsilon} \right] \times 100 \quad (7)$$

Onde,

- AM = antocianinas monoméricas expressas em mg de cianidina-3-O-glicosídeo / 100g de amostra;
- $(Abs_{510}$ e $Abs_{700})_{pH4,5}$ = absorvâncias lidas da solução, em pH 4.5 nos comprimentos de onda 510 e 700 nm, respectivamente;
- mm = massa molar da cianidina-3-O-glicosídeo ($449,2 \text{ g mol}^{-1}$) ou cianidina-3-rutinosídeo (631 g mol^{-1});
- fd = fator de diluição. (volume da diluição (L) / massa de amostra (g));
- ε = coeficiente de extinção molar da cianidina-3-O-glucosídeo em solução tampão pH 1,0 à 510nm ($26.900 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) ou coeficiente de extinção molar da cianidina-3-O-rutinosídeo em solução tampão pH 1,0 à 510nm ($32.800 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$);
- 100 = o valor por 100 gramas de amostra.

3.2.4.7 Atividade antioxidante pelo método do ABTS

Essa determinação foi realizada pelo método espectrofotométrico descrito por Rufino *et al.*(2007) e a quantificação de acordo com Re *et al* (1999), baseado na descoloração do radical livre ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico sal diamônio 98% pureza).

O radical ABTS foi gerado pela reação de 5 mL de solução aquosa de ABTS 7mM e 88 μ L de solução de persulfato de potássio a 140 mM. A mistura permaneceu no escuro por 14h e somente após esse tempo foi diluída com etanol 95% para obter absorvância de $0,7 \pm 0,02$ a 734 nm.

Uma alíquota de 30 μ L da amostra reagiu com 3 mL da solução etanólica de ABTS na ausência da luz. O decréscimo da absorvância a 734 nm foi medido após 6, 10, 20 e 30 min da reação. Para cada experimento, um branco foi executado, onde a amostra foi substituída por etanol 95%.

Os resultados foram expressos em mmol de Trolox (6-hidroxi – 2,5,7,8 – tetrametilcromo – 2 – ácido carboxílico 97% de pureza), utilizando uma curva de calibração deste antioxidante hidrossolúvel, análogo da vitamina E. As concentrações variaram entre 500 e 2000 µM em etanol 95%. A reação entre o antioxidante e o ABTS, foi realizada na proporção de 1:10, nas mesmas condições utilizadas para as amostras.

O decréscimo da absorbância a 734 nm foi medido depois de 6 min. A curva padrão foi linear na faixa de concentração utilizada. Os resultados foram expressos como TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox) em µmol/g de amostra.

3.2.4.8 Atividade enzimática

A determinação de atividade dessas enzimas foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Campos (1993). Para a atividade de peroxidase, foram utilizados 0,8 mL da amostra de suco de açaí e uma mistura reacional composta por 1,84 mL de tampão fosfato de sódio 0,2M pH 5,5, com 0,4 mL de solução alcoólica de guaiacol 5% (como doador de hidrogênio) e 0,16 mL de peróxido de hidrogênio 0,1% (como oxidante). Tanto a amostra quanto o substrato foram mantidos à temperatura de 35°C até o momento da leitura.

Para a atividade de polifenoloxidase, foram utilizados 0,8 mL da amostra e uma mistura reacional composta por: 1,84 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M pH 6,0, com 0,56 mL de solução de catecol 0,2M.

A cinética enzimática foi avaliada em espectrofotômetro Shimadzu com leitura no comprimento de onda de 470nm para POD e 425nm para PPO, durante 5 minutos e com intervalos de leituras de 15 segundos; as determinações foram feitas em triplicatas e calculadas seguindo a equação:

$$A \text{ (U/mL)} = (\text{ABS}_{\text{final amostra}} - \text{ABS}_{\text{inicial amostra}}) - (\text{ABS}_{\text{final branco}} - \text{ABS}_{\text{inicial branco}}) / 0,001.$$

3.2.4.9 Composição centesimal

➤ Umidade

O teor de umidade foi analisado em estufa a vácuo a 70 °C, com auxílio de areia segundo método 925.45D da AOAC (2005).

➤ **Cinzas (Resíduo Mineral Fixo)**

O teor de cinzas foi determinado por aquecimento em forno de mufla segundo método 923.03 da AOAC, 2005 sendo expresso em g/100g.

➤ **Extrato etéreo**

O teor de extrato etéreo foi determinado pela extração em soxhlet segundo método 922.06 da AOAC, 2005 sendo expresso em g/100g. Para isso, a amostra foi seca em estufa a vácuo a 70°C.

➤ **Nitrogênio total e proteína bruta**

A determinação de nitrogênio total (g de nitrogênio/100 g de polpa) foi baseada no método de Kjeldahl tradicional segundo método 2001.11 da AOAC, 2005. O teor de proteína bruta foi calculado pelo produto da quantidade de nitrogênio total (g) pelo fator de conversão 6,25 (IAL, 2008) sendo expresso em g/100g.

➤ **Carboidratos**

A quantificação de carboidratos foi calculada por diferença entre 100 (100%) e o somatório das demais análises de composição centesimal. O resultado foi expresso em g/100g.

3.2.4.10 Avaliação reológica

Para as avaliações reológicas foi utilizado um reômetro HAAKE MARS – *Modular Advanced rheometer system* (Karlsruhe, Alemanha). A forma de condução das análises encontra-se descrita no manual de instruções do equipamento do ano de 2007.

Cada análise reológica foi executada em três etapas consecutivas, sendo a primeira com taxa de deformação crescente de 0 a 300 s⁻¹ (subida 1), a segunda com taxa decrescente de 300 a 0 s⁻¹ (descida 1) e a terceira novamente com taxa crescente de 0 a 300 s⁻¹ (subida 2), a fim de eliminar possíveis efeitos de tixotropia. As curvas de escoamento avaliadas foram as correspondentes à segunda subida.

Os reogramas obtidos foram ajustados de acordo com modelos matemáticos empíricos com o auxílio da ferramenta Solver do *software* Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, EUA) e a viscosidade aparente das amostras foi calculada como a relação entre a tensão e a taxa de deformação.

3.2.4.11 Higroscopicidade

Os pós, produtos obtidos após os ensaios de microencapsulação, foram caracterizados em relação à higroscopicidade, de acordo com o método proposto por Al-Kahtani e Hassan (1990), com algumas modificações. Foram pesadas alíquotas de 1 a 2 gramas dos encapsulados em pesa filtros e colocados dentro de um dessecador contendo solução saturada de KCl, com atividade de água conhecida de 0,85 à temperatura de 23°C. As amostras foram pesadas em intervalos de 15 minutos, durante 2 horas.

3.2.4.12 Análise estatística

Os resultados foram analisados através de análise de variância e teste de médias (Tukey) utilizando o software XLStat 7.5 (Addinsoft, 2004).

4. Resultados e discussão

4.1. Avaliação do comportamento de membranas comerciais de nanofiltração de diferentes fabricantes.

4.1.1. Avaliação da matéria-prima

Com o objetivo de remover partículas em suspensão, o suco de açaí foi submetido a uma etapa inicial de refino. O rendimento da filtração foi de 87%. O filtrado apresentou teor de antocianinas de 74 mg/100g expressos em cianidina-3-O-rutinosídeo (Tabela 3), com redução de 18% em relação ao suco utilizado como alimentação.

Tabela 3. Avaliação do suco de açaí integral e das frações obtidas após a filtração.

Análises	Açaí	Açaí filtrado	Torta da filtração
pH	3,9 ± 0	4 ± 0,1	3,9 ± 0
Acidez (g /100g) ¹	0,3 ± 0	0,2 ± 0	0,7 ± 0
Sólidos solúveis (°brix)	2,4 ± 0	1,9 ± 0	-
Sólidos totais (g/100g)	3,3 ± 0,1	2,1 ± 0	25,1 ± 0,1
Compostos fenólicos (mg/100g) ²	138,8 ^a ± 4,5	111,5 ^b ± 2,3	199,3 ^c ± 1,3
Antocianinas (mg/100g) ³	90,3 ^a ± 7,6	74 ^b ± 2,1	-

¹ Valores expressos em ácido málico; ² valores expressos em ácido gálico; ³ valores expressos em cianidina-3-O-rutinosídeo equivalente. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre elas (p>0,05)

Com a filtração, o teor de sólidos totais também diminuiu, principalmente pela redução de partículas em suspensão, que poderiam posteriormente interferir no processo diminuindo assim a permeabilidade da membrana. O teor de fenólicos totais diminuiu 19% no suco filtrado, semelhante ao verificado para as antocianinas e que pode estar associado à redução das partículas e fibras presentes no suco. Esta relação pode ser explicada, pois ao se

utilizar enzimas pectinolíticas em sucos de frutas há um rompimento da parede celular, degrandando então as fibras com aumento na liberação de compostos fenólicos no meio. (TARAGANO E PILOSOFF, 1999).

4.1.2. Clarificação por microfiltração de suco de açaí filtrado

O suco de açaí filtrado foi utilizado como alimentação para o processo de microfiltração. Os dois ensaios de microfiltração realizados apresentaram comportamento semelhante em relação ao fluxo permeado. Este diminuiu lentamente ao longo do tempo (Figura 16).

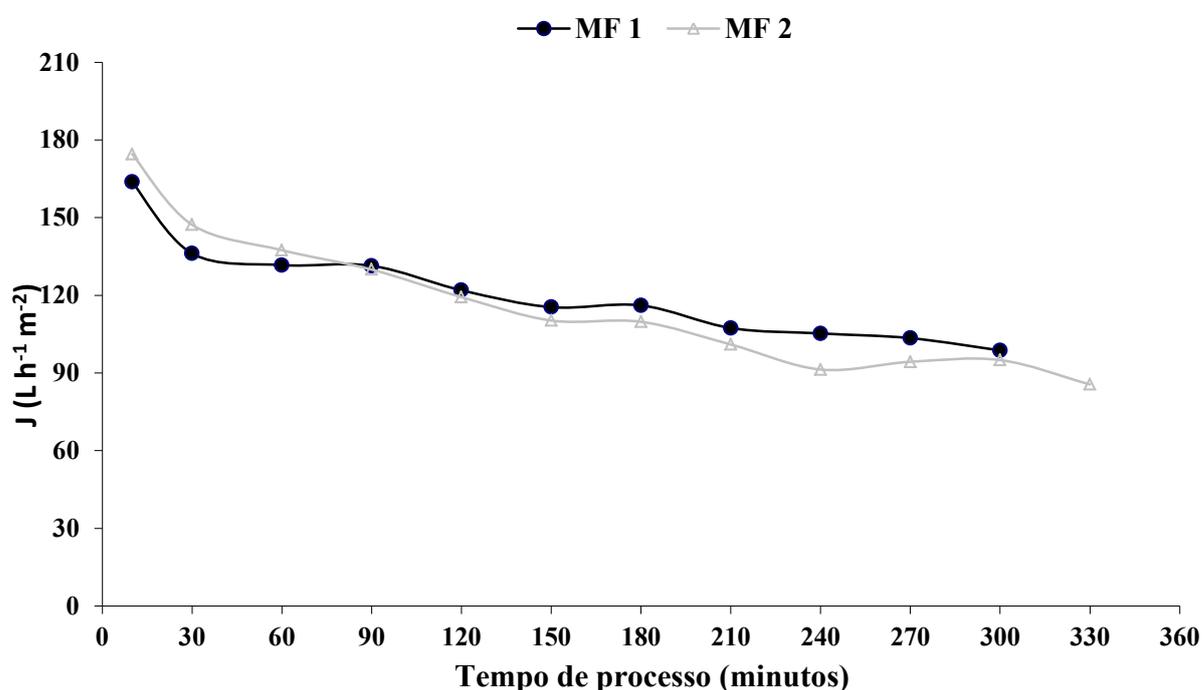


Figura 16. Comportamento do fluxo de permeado dos processos de microfiltração.

O fluxo inicial médio foi de $170 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e o final de $95 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, apresentando um $\text{FRV}=8,5$, sendo o fluxo médio do processo igual a $90 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$.

Palácio (2008) clarificou suco de açaí centrifugado em membranas cerâmicas com poros de $0,1 \mu\text{m}$ encontrando fluxo médio de $110 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ sendo o fluxo inicial em torno de $140 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e fator de redução volumétrica igual a 3. O comportamento do fluxo de permeado ao longo dos ensaios foi semelhante ao encontrado no presente trabalho, não havendo uma queda acentuada de fluxo ao longo do tempo.

Devido aos fenômenos de polarização de concentração que ocorrem nos instantes iniciais do processamento, o fluxo apresenta uma redução mais acentuada neste momento

tendendo a diminuir mais lentamente ao longo do tempo. Esta redução é causada pela formação de uma camada de gel que aumenta a resistência da membrana à permeação ou pela adsorção de partículas nos poros da membrana levando a uma redução da área de permeação.

De Oliveira *et al.* (2012) avaliaram o mecanismo da incrustação em membranas cerâmicas e poliméricas na clarificação de suco de maracujá por microfiltração e verificaram que a redução do fluxo de permeado nos módulos compostos por membranas cerâmicas se dá através do bloqueio dos poros enquanto nas membranas poliméricas esta redução é influenciada pela formação de uma torta na interface alimentação/permeado.

O suco clarificado apresentou teor de antocianinas 66,5 mg/100g em cianidina-3-O-rutinosídeo, tendo uma redução de aproximadamente 10% em relação a alimentação (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização do processo de clarificação de suco de açaí por microfiltração.

Análises	Açaí Filtrado (alimentação)	Açaí clarificado	Açaí retido
pH	4 ± 0,1	3,9 ± 0	3,9 ± 0
Acidez (g /100g)¹	0,2 ± 0	0,2 ± 0	0,3 ± 0
Sólidos solúveis (° brix)	1,9 ± 0	1,6 ± 0	2,8 ± 0
Sólidos totais (g/100g)	2,1 ± 0	1,8 ± 0	3,3 ± 0,2
Compostos fenólicos (mg/100g)²	111,5 ± 2,3	104 ± 4,1	140,4 ± 12
Antocianinas (mg/100g)³	74,0^a ± 2,1	66,5^a ± 6,1	91,8^b ± 6,9

¹ Valores expressos em ácido málico; ² valores expressos em meq de ácido gálico; ³ valores expressos em cianidina-3-O-rutinosídeo equivalente. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre elas (p>0,05)

4.1.3. Avaliação das membranas de nanofiltração

4.1.3.1. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração

Na Figura 17 está apresentado o comportamento do fluxo permeado de água em função da diferença de pressão aplicada para seis diferentes membranas comerciais. Conforme esperado, a relação entre a diferença de pressão e o fluxo é linear, e positivamente dependente.

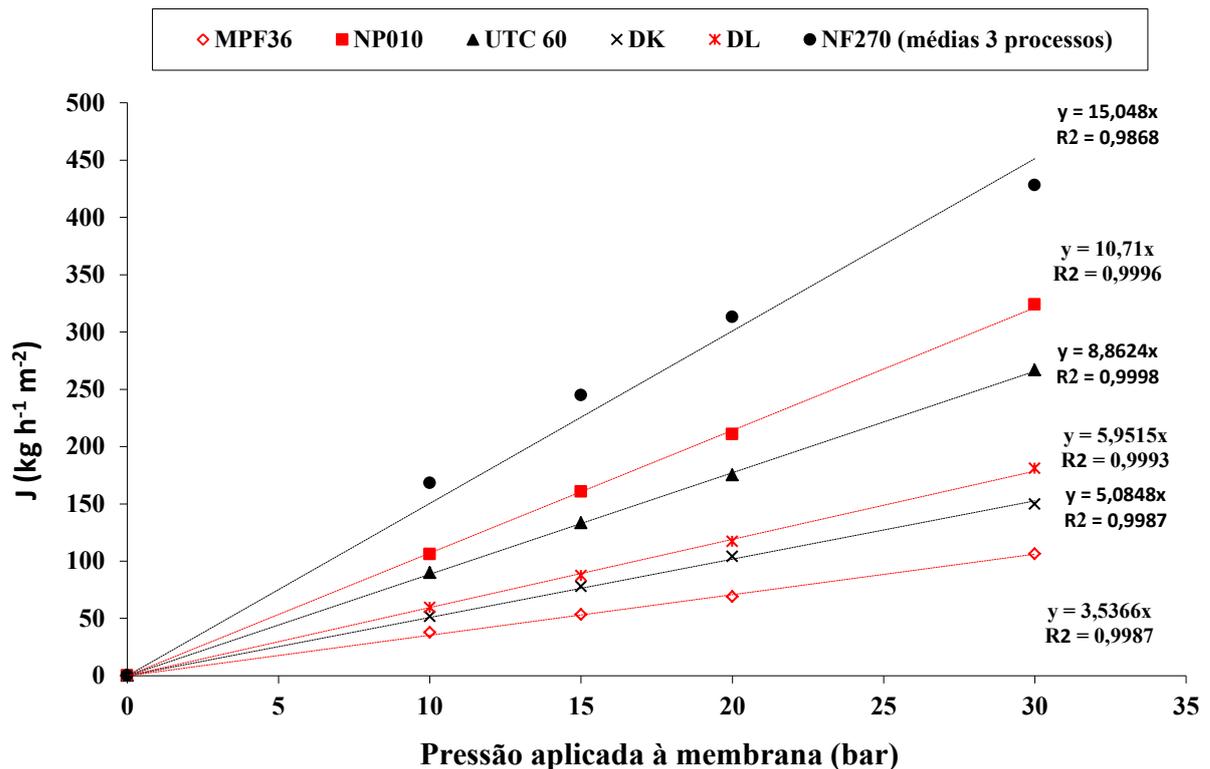


Figura 17. Permeabilidade hidráulica das 6 membranas utilizadas antes dos ensaios de nanofiltração

O fluxo permeado variou linearmente com a pressão aplicada à membrana. A membrana NF270 apresentou maior permeabilidade com fluxos de $168 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $244 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $312 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $428 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ em pressões de 10, 15, 20 e 30 bar respectivamente. O fluxo médio alcançado com a membrana NF270 foi 30% mais elevado se comparado com dados obtidos com a membrana NP010. Já a membrana MPF 36 apresentou os menores valores de fluxo de permeado, $37 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $53 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $69 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e $106 \text{ kg h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ em pressões de 10, 15, 20 e 30 bar respectivamente.

4.1.3.2. Comportamento das membranas comerciais de nanofiltração ao processamento de suco de açaí clarificado

O suco de açaí clarificado foi utilizado para a avaliação das membranas comerciais de nanofiltração (Figura 18).

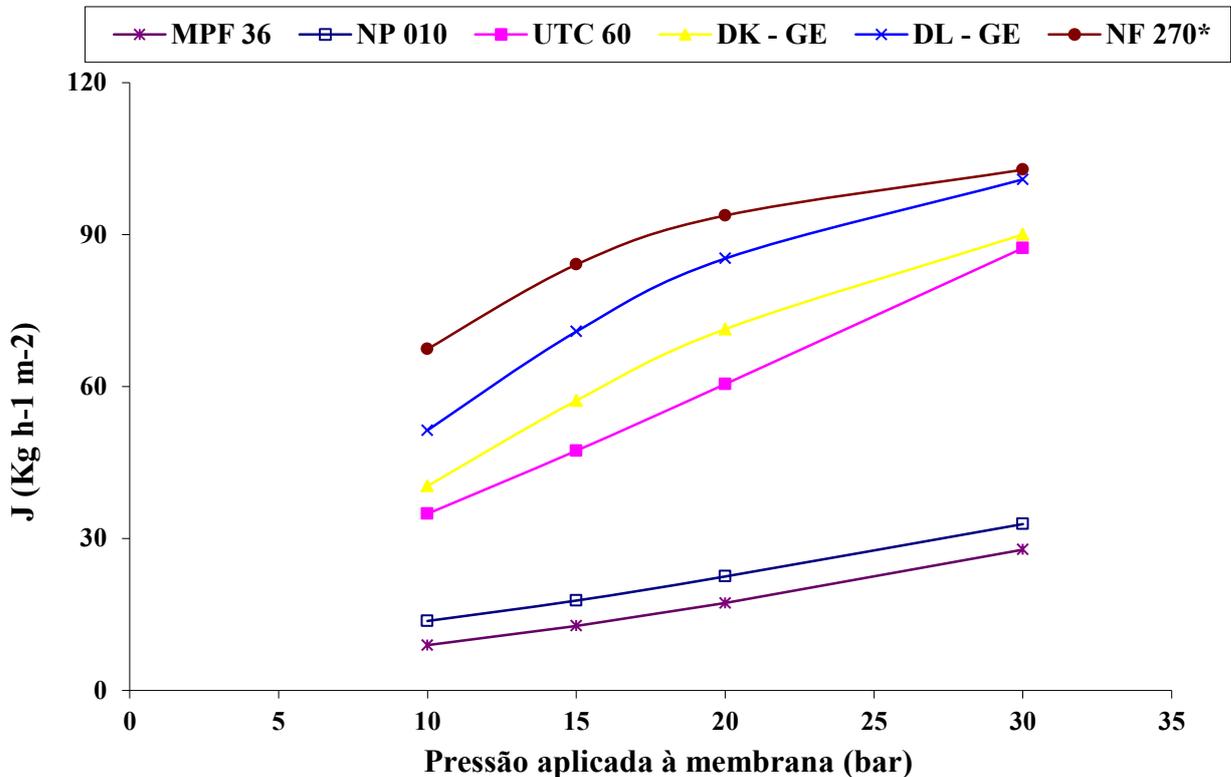


Figura 18. Comportamento de fluxo de permeado de diferentes membranas comerciais sob diferentes condições de pressão. * Médias de três ensaios.

De forma análoga aos dados obtidos nos testes de permeabilidade hidráulica, a membrana NF270 apresentou o maior valor de fluxo em todas as faixas de pressão, sendo 67 kg h⁻¹ m⁻² a 10 bar, 84 kg h⁻¹ m⁻² a 15 bar, 93 kg h⁻¹ m⁻² a 20 bar e 102 kg h⁻¹ m⁻² a 30 bar. A membrana MPF 36 foi a que apresentou a menor permeabilidade, 8 kg h⁻¹ m⁻² a 10 bar, 12 kg h⁻¹ m⁻² a 15 bar, 17 kg h⁻¹ m⁻² a 20 bar, 27 kg h⁻¹ m⁻² a 30 bar. O fluxo obtido com a membrana NP010 foi superior ao observado com a MPF36, entretanto, houve permeação das antocianinas chegando a valores de 1,7 mg/100g de antocianinas na corrente de permeado a 10 e 15 bar.

As membranas DK e DL da GE Osmonics apresentaram uma diminuição na inclinação da curva de fluxo de permeado com o aumento da pressão aplicada à membrana, o que demonstra uma tendência de alcance do fluxo limite a partir de 20 bar, isto é, o momento em que o fluxo de permeado deixa de ser influenciado pela pressão aplicada. Este mesmo

comportamento foi verificado por Cissé *et al.* (2011) ao avaliarem o comportamento de membranas de nanofiltração para concentração de antocianinas em extrato de hibiscus com a utilização do mesmo módulo utilizado neste trabalho. Os autores verificaram que a membrana NF270 da DOW/Filmtec também apresentou comportamento semelhante para a retenção de antocianinas de hibiscos.

4.1.3.3. Avaliação das características da fração de permeado obtida nos ensaios de nanofiltração

As amostras de permeado recolhidas durante os ensaios foram analisadas e seus resultados estão apresentados na Tabela 5 em função da pressão aplicada.

Tabela 5. Resultados das análises de permeados obtidos nos testes de membranas de nanofiltração.

Membranas	ΔP (bar)	pH	Acidez (g /100g) ¹	Compostos fenólicos (mg /100g) ²	Antocianinas (mg/100g) ³
MPF 36	10	3,6 ± 0	0,04 ± 0	0,3 ± 0	0
	15	3,2 ± 0	0,04 ± 0	0	0
	20	3,1 ± 0	0,04 ± 0	0	0
	30	3,1 ± 0	0,04 ± 0	0	0
NP 010	10	3,8 ± 0	0,04 ± 0	1,7 ± 0,15	1,7 ± 0,45
	15	3,7 ± 0	0,04 ± 0	1,4 ± 0	1,7 ± 0,20
	20	3,8 ± 0	0,04 ± 0	0,8 ± 0	0,6 ± 0,5
	30	3,9 ± 0	0,04 ± 0	0,8 ± 0	0,4 ± 0,3
UTC 60	10	3,7 ± 0	0,02 ± 0	0	0
	15	3,7 ± 0	0,02 ± 0	0	0
	20	3,6 ± 0	0,02 ± 0	0	0
	30	3,7 ± 0	0,01 ± 0	0	0
DK	10	3,9 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	15	4 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	20	4 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	30	4 ± 0	0,01 ± 0	0	0
DL	10	3,9 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	15	3,9 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	20	3,9 ± 0	0,01 ± 0	0	0
	30	3,9 ± 0	0,01 ± 0	0	0
NF 270*	10	4 ± 0,15	0,01 ± 0	0	0

15	4 ± 0,13	0,01 ± 0	0	0
20	4 ± 0,12	0,01 ± 0	0	0
30	4,1 ± 0,14	0,01 ± 0	0	0

¹Valores expressos em ácido málico; ² valores expressos em ácido gálico; ³ valores expressos em cianidina-3-O-glicosídeo; * Médias de 3 testes; Os valores de sólidos totais e sólidos solúveis foi zero para todos os testes.

A permeação das antocianinas e compostos fenólicos ao longo dos ensaios foi observado apenas na membrana NP010. Alguns ácidos permearam por determinadas membranas fazendo com que os valores de acidez fossem diferentes nas correntes de permeado de cada membrana utilizada. As membranas MPF36 e NP010, que apresentaram a permeação dos compostos bioativos, também foram as que apresentaram maior permeação de ácidos mostrando uma menor capacidade na retenção de compostos de baixa massa molar. A passagem de compostos pela membrana NP010 pode ter ocorrido pela característica de material da membrana.

Rosa Santos *et al.* (2008) concentraram soluções modelo de mosto de uva por nanofiltração com a utilização da membrana NF270 verificando a tendência da permeação de ácidos orgânicos através da membrana. Quando comparados, o ácido málico apresentou maior permeação em relação ao ácido tartárico.

4.1.3.4. Avaliação dos coeficientes de retenção das membranas de nanofiltração para antocianinas

Após a avaliação dos coeficientes de retenção das membranas para as antocianinas verificou-se que apenas a membrana NP010 permitiu a passagem de antocianinas como ilustrado na Tabela 6.

Tabela 6. Coeficiente de retenção para antocianinas dada membrana NP010 utilizada no estudo.

Membranas*	$\Delta P(\text{bar})$	Coeficiente de retenção (%)
NP010	10	97,7
	15	98,5
	20	99,1
	30	99,7

*O coeficiente de retenção para as outras membranas e pressões foi de 100%.

Nota-se que com o aumento da pressão aplicada à membrana o coeficiente de retenção aumenta. Isto pode ser explicado pela adsorção de soluto na membrana. Quando ocorre a adsorção no interior dos poros ocorrem modificações mais severas, tanto no fluxo de permeado como na capacidade seletiva da membrana. A adsorção de moléculas na parede dos poros tem como consequência uma diminuição efetiva no diâmetro desses poros, o que provoca uma queda do fluxo permeado e um aumento na rejeição da membrana. O fenômeno de adsorção depende fundamentalmente das interações entre os solutos presentes na solução a ser tratada e o material da membrana (HABERT, BORGES E NÓBREGA, 2006). Este comportamento foi verificado também em outro trabalho realizado com membranas de nanofiltração para concentração de antocianinas presentes em extrato de hibiscus (CISSÉ *et al.*, 2011)

4.1.3.5. Avaliação da permeabilidade hidráulica das membranas de nanofiltração após os ensaios e estimativa da incrustação

Após os processos de nanofiltração, realizou-se um novo teste de permeabilidade hidráulica das membranas, para avaliar o efeito da incrustação (Figura 19).

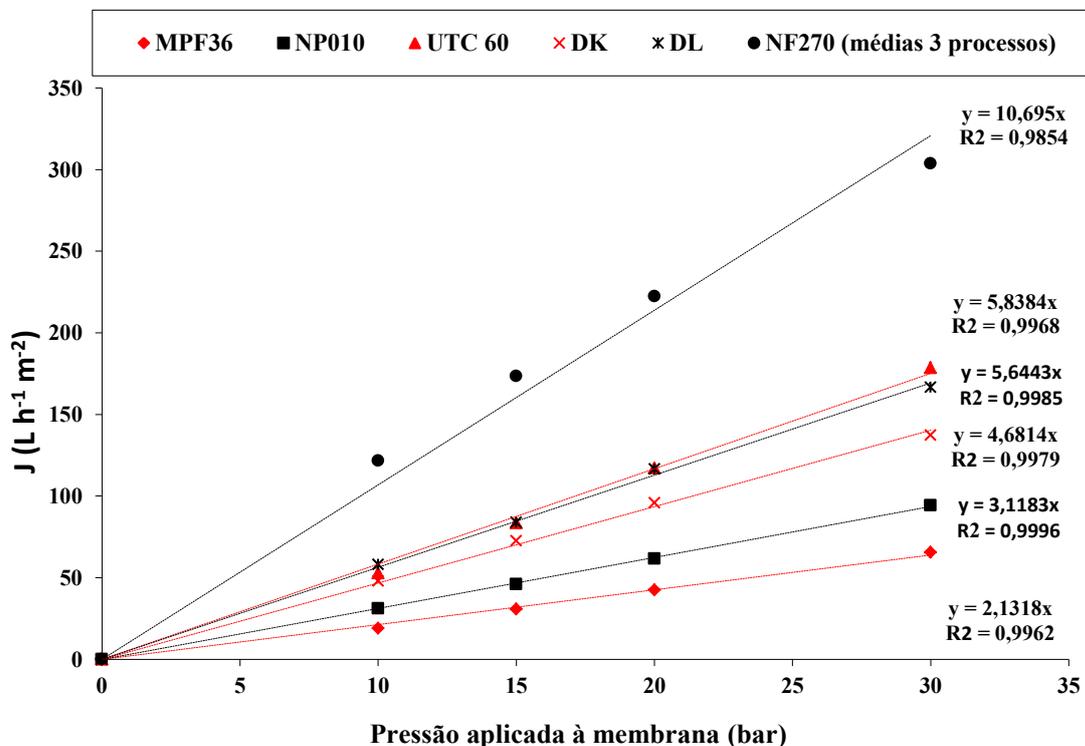


Figura 19. Permeabilidade hidráulica das 6 membranas utilizadas, após os ensaios

Verificou-se uma clara redução nos valores de fluxo de permeado na membrana NF270 apresentando os maiores valores de fluxo com redução da permeabilidade de 27%, 29%, 28% e 29% em pressões de 10, 15, 20 e 30 bar. A membrana MPF36 continuou apresentando os menores valores de fluxo com redução de 49%, 42%, 38% e 38%, em pressões de 10, 15, 20 e 30 bar. Já a membrana NP010 que se apresentou em segundo lugar em relação aos parâmetros de fluxo de permeado com a membrana limpa teve uma redução de 70%, 70%, 71% e 70% em pressões de 10, 15, 20 e 30 bar.

A Figura 20 ilustra a diferença no comportamento da permeabilidade hidráulica antes e após os ensaios de nanofiltração para as membranas que apresentaram a maior e a menor redução na permeabilidade.

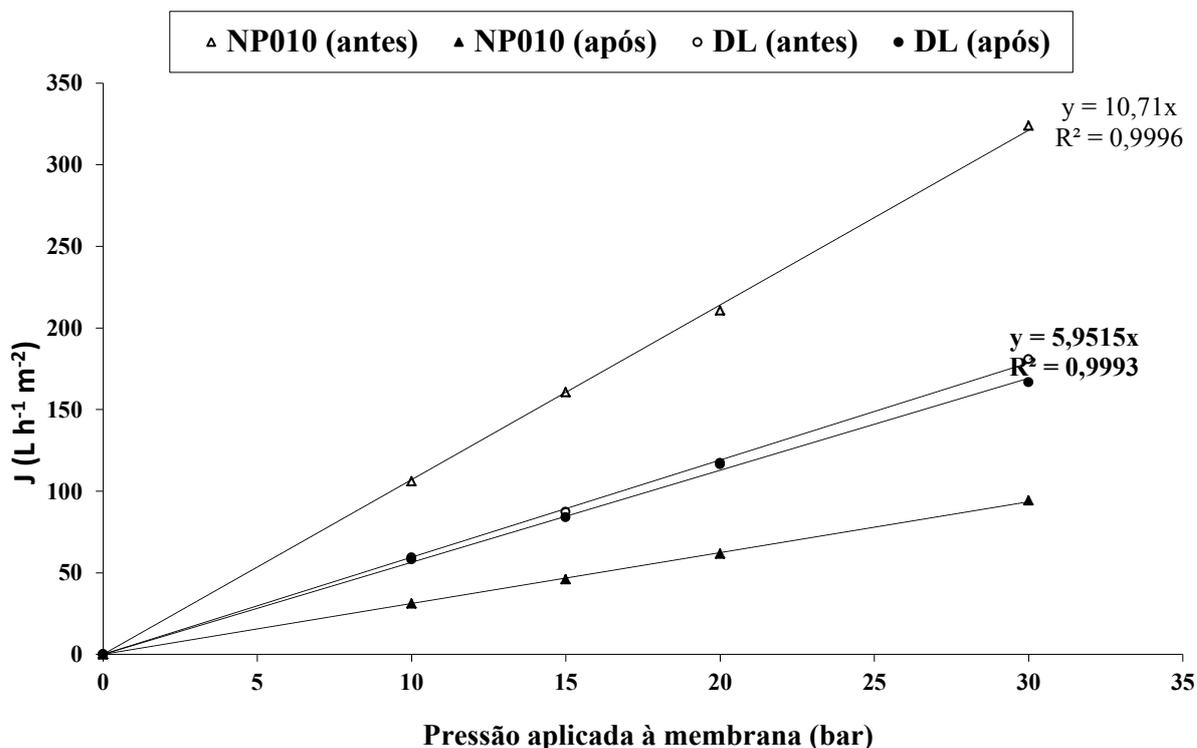


Figura 20. Permeabilidade hidráulica antes e após os ensaios de nanofiltração para as membranas que apresentaram maior e menor efeito da incrustação

Os fluxos de permeado obtidos com a membrana NP010 apresentam uma considerável diferença se comparados aos valores obtidos com a membrana DL. A avaliação na redução dos fluxos de permeado das membranas de nanofiltração, antes e após os ensaios, foi realizada pela estimativa da incrustação das membranas, como ilustrado na Figura 21.

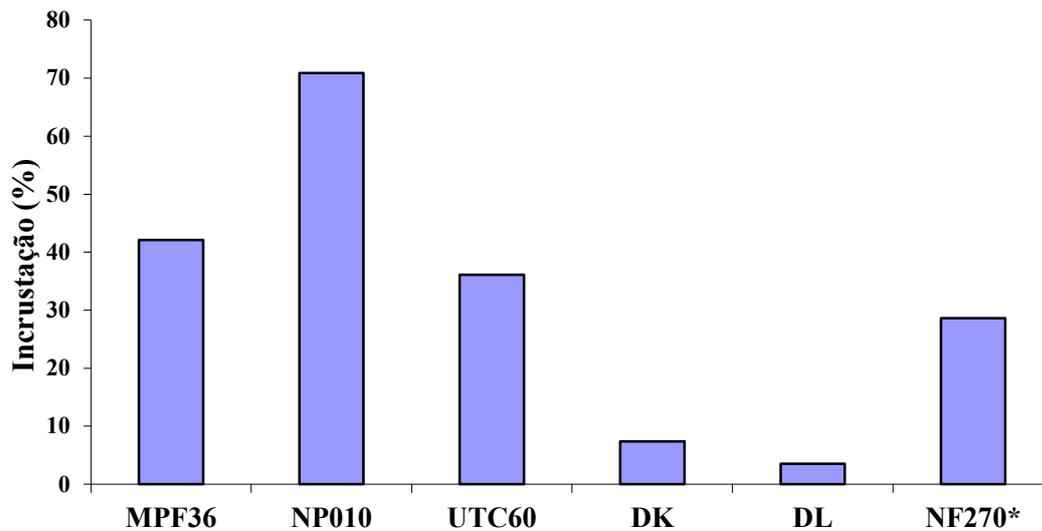


Figura 21. Avaliação da incrustação nas membranas de nanofiltração avaliadas.*médias de 3 ensaios.

A membrana DL apresentou menor influência da incrustação, apresentando uma redução média de 3%. Em relação ao fluxo de permeado antes e após os ensaios. A membrana NF270, que apresentou maiores valores de permeabilidade hidráulica antes do ensaio apresentou um teor de incrustação médio de 28%, valor abaixo da média entre as membranas que apresentaram maior e menor influência da incrustação.

Houve uma alteração na ordem das membranas em relação ao fluxo de permeado antes e após os ensaios que pode ser explicado pela interação do produto utilizado com o tipo de material da membrana ou também à compactação da membrana, que é uma deformação mecânica causada em função das características estruturais da membrana, do tipo de polímero utilizado em sua fabricação e da pressão aplicada à membrana fazendo com que haja redução no comportamento de fluxo de permeado (HABERT, BORGES e NÓBREGA, 2006)

Por apresentar uma retenção adequada de antocianinas e as melhores características de fluxo de permeado ao longo dos ensaios, a membrana NF 270 da DOW/Filmtec foi selecionada para a concentração do suco de açaí por nanofiltração.

4.2. Concentração do suco de açaí clarificado por nanofiltração

4.2.1. Avaliação da matéria-prima e das frações obtidas nas etapas de pré-tratamento do suco de açaí

Foi realizado o pré-tratamento do suco de açaí para que o mesmo fosse concentrado pelo processo de nanofiltração. A seguir estão descritas as avaliações realizadas para as duas etapas de pré-tratamento.

4.2.1.1. Avaliação das características da matéria-prima utilizada e do produto da centrifugação

O suco de açaí integral utilizado como matéria-prima foi centrifugado e as avaliações realizadas estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7. Parâmetros físico-químicos da polpa integral e centrifugada.

Parâmetro	Integral	Centrifugado
pH	5,1	4,9
Acidez (mg/100g) ¹	0,2 ± 0	0,1 ± 0
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	3,2 ± 0,6	2,4 ± 0,3
Teor de sólidos totais (g/100g)	15 ± 2,6	7,6 ± 1,3
Compostos fenólicos totais ²	243,6 ± 7,6	201,8 ± 7,3
Atividade antioxidante ³	37,9 ± 1,4	25,8 ± 1,3
Antocianinas (mg/100g) ⁴	36,5 ± 1,7	31,6 ± 1,3

¹expresso em ácido málico; ² expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; ³expresso em µmol Trolox equivalente/100g; ⁴ expresso em cianidina-3-O-rutinosídeo equivalente

O teor de compostos fenólicos encontrado no suco utilizado como matéria-prima para os ensaios foi semelhante ao encontrado por Cruz (2008) ao obter a polpa a partir do fruto com diferentes temperaturas da água utilizada para a maceração, variando entre 228,6 ± 1,78 a 240 ± 17,30.

Gouvêa (2010), utilizando a mesma matéria-prima do presente trabalho, verificou, por cromatografia líquida de alta eficiência, que as antocianinas majoritárias do açaí são a cianidina-3-O-rutinosídeo (59%) e a cianidina-3-O-glicosídeo (35%) que, juntas, somam 94% do extrato antocianico do açaí. Utilizando como referência esta proporção, devido ao fato de a

matéria-prima ser a mesma, verificou-se que os valores encontrados no presente trabalho estão próximos, porém com uma redução na relação dos compostos, sendo a cianidina-3-O-rutinosídeo apresentando 53%. Rosso e colaboradores (2008) encontraram proporções de 86% para cianidina-3-O-rutinosídeo e 13% para cianidina-3-O-glicosídeo. Esta diferença pode ocorrer devido à diferença na característica da matriz estudada.

Os teores de antocianinas do açaí centrifugado no presente trabalho, avaliados pelo método do pH diferencial, apresentaram redução de 13%. Gouvêa (2010) verificou uma diminuição de aproximadamente 75% no teor das antocianinas majoritárias do açaí quando centrifugado e tratado enzimaticamente..

Verificou-se uma diminuição de aproximadamente 50% no teor de sólidos totais, o que pode ser explicado pela retenção de partículas em suspensão e fibras no suco centrifugado. Esta redução é de grande utilidade ao utilizar produtos com menor teor de fibras e partículas em processos por membranas, diminuindo assim os riscos de entupimentos dos poros da membrana (MULDER, 1991), garantindo assim valores de fluxo de permeado mais elevados. No entanto, essa diminuição reduz as características nutricionais conferidas pelas fibras que auxiliam o metabolismo de carboidratos e lipídeos no organismo.

Houve uma redução de 17% nos teores de compostos fenólicos e redução de 31% na atividade antioxidante do suco centrifugado. Gouvêa (2010) verificou redução de 24,3% no teor de fenólicos totais em suco de açaí tratado enzimaticamente e centrifugado em condições semelhantes às utilizadas neste trabalho, demonstrando que no presente trabalho esta redução foi 7% inferior.

A Tabela 8 apresenta os resultados da composição centesimal das duas frações avaliadas.

Tabela 8. Avaliação centesimal de suco integral e centrifugado.

Parâmetros (g/100g)	Integral	Centrifugado
Cinzas	0,6 ± 0	0,5 ± 0
Extrato etéreo	7,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Proteína	1,4 ± 0	0,5 ± 0
Carboidratos	4,9 ± 0,1	1,9 ± 0,2

Como observado anteriormente, o teor de carboidratos e proteínas, assim como o extrato etéreo, diminuíram em torno de 60%, mostrando que a centrifugação reteve parte dos macronutrientes presentes no suco. Esta retenção é importante para os processos de filtração, pois os carboidratos e os lipídeos podem interferir diretamente no fluxo de permeado dos ensaios posteriores de microfiltração ao aumentar a viscosidade da solução. Além disso, a retenção de carboidratos é importante, pois diminui as fibras e sólidos que poderiam causar entupimento dos poros das membranas.

Apesar de apresentar vantagens ao longo do processamento, a redução de fibras tem um efeito negativo especialmente ao levarmos em consideração sua importância na dieta. As fibras constituem parte fundamental da alimentação por aumentar o volume das fezes e do conteúdo intestinal, aumentando assim o trânsito intestinal e mantendo a regularidade no seu funcionamento como também auxiliam na redução de taxas de colesterol no sangue (BE MILLER & HUBER, 2010).

A redução de lipídeos pode ser vista por três aspectos: o primeiro se refere ao comportamento dos ácidos graxos insaturados, predominantes na composição lipídica do açaí e que gera instabilidade destes compostos que podem levar ao surgimento de radicais peróxido após reações de rancidez oxidativa (McCLEMENTS & DECKER, 2010). O segundo aspecto é a diminuição nos valores de fluxo de permeado que a presença destas substâncias pode ocasionar (HABERT, BORGES & NOBREGA, 2006). Por último, em detrimento aos benefícios que a redução do teor de lipídeos promove em relação ao armazenamento e ao processamento por membranas, temos a diminuição dos ácidos graxos essenciais como o ácido oleico e linoleico que constituem parte importante da ingestão de lipídeos especialmente pelo potencial bioativo destas substâncias.

Após a realização da análise reológica verificou-se diferença entre o comportamento do suco centrifugado em relação ao suco integral como mostrado na Figura 22.

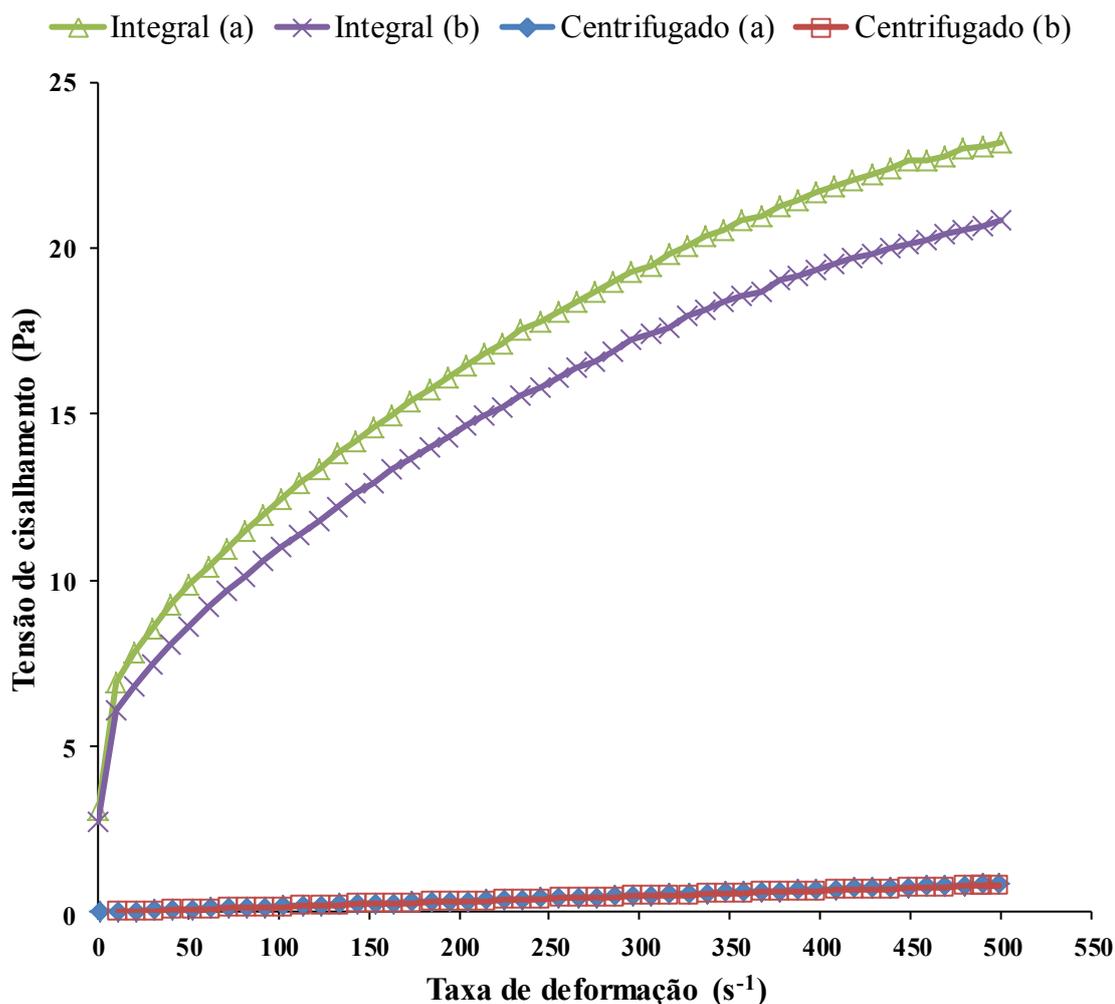


Figura 22. Avaliação reológica de suco de açaí integral e suco de açaí centrifugado.

Após a aplicação do modelo de lei da Potência para ajustar os resultados de tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação (γ), constatou-se que o suco de açaí integral se comporta como um fluido não newtoniano. A inclinação das curvas de tensão de cisalhamento decresceu com o aumento da taxa de deformação, confirmando o comportamento pseudoplástico da amostra. Já o suco centrifugado apresenta um comportamento newtoniano pois sua viscosidade não variou com a taxa de deformação nem com o tempo. Para que fosse feita a comparação da viscosidade dos produtos não newtonianos, se estabeleceu uma taxa de deformação para isso, neste caso foi fixada uma taxa de $80 s^{-1}$. A Tabela 9 apresenta os valores de viscosidade dos sucos testados.

Tabela 9. Viscosidade do suco de açaí integral e centrifugado

Parâmetro	Açaí Integral	Açaí Centrifugado
Viscosidade (Pa.s)*	0,1458	0,0018
Índice de consistência (K)	4,55	0,0028
Valor de n	0,22	0,91
Comportamento	Pseudoplástico	Newtoniano

*a uma taxa de 80 s^{-1}

O suco centrifugado apresentou uma redução de 98,8% na viscosidade em relação ao suco integral, o que pode ser explicado devido ao fato de o comportamento reológico de sucos e polpas de frutas estar relacionado ao teor de sólidos em suspensão, tamanho e concentração de partículas suspensas (TANGLERTPAIBUL e RAO,1987). Neste caso, a centrifugação apresentou a capacidade de reduzir o teor de sólidos, especialmente as partículas em suspensão, como era esperado.

4.2.1.2. Ensaio de microfiltração

O processo de microfiltração apresentou fluxo inicial médio de $133 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e fluxo médio ao longo do processo de $110 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (Figura 23). O fator de redução volumétrico obtido foi de 3,3. A centrifugação permitiu uma diminuição no teor de sólidos fazendo com que o fluxo inicial fosse elevado, com uma queda não muito acentuada ao longo do tempo.

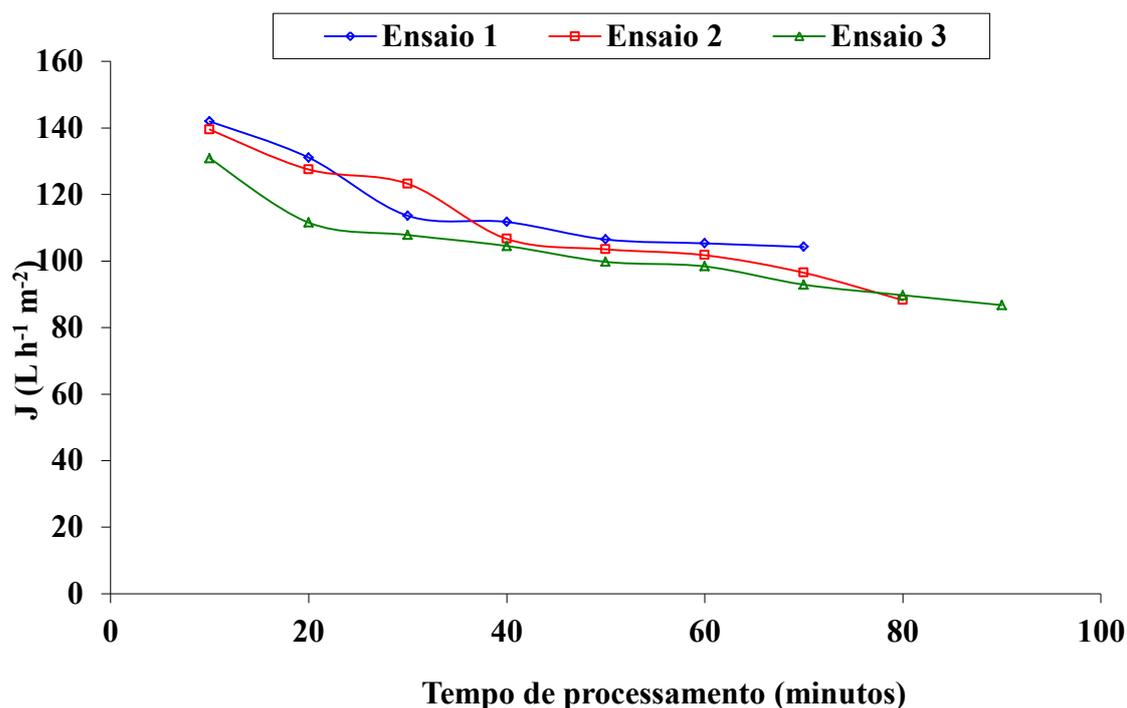


Figura 23. Avaliação de fluxo de permeado dos processos de microfiltração.

O fluxo inicial obtido foi similar ao reportado por Cruz (2008), no qual o suco de açaí foi clarificado por microfiltração em membranas cerâmicas sob as mesmas condições de processo atingindo um fluxo médio de $117 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. As amostras recolhidas durante os ensaios foram analisadas e os resultados estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Resultado das análises do processo de clarificação de suco de açaí por microfiltração.

Parâmetros	Centrifugado	Clarificado	Retido
pH	4,9	4,8	5
Acidez (g/100g) ¹	$0,1 \pm 0$	$0,1 \pm 0$	$0,2 \pm 0$
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	$2,4 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,5$
Teor de sólidos totais (g/100g)	$7,6 \pm 2,3$	$2 \pm 0,9$	$12,8 \pm 5,5$
Compostos fenólicos totais ²	$201,8 \pm 7,3$	$110,7 \pm 3,9$	$346,8 \pm 5,5$
Atividade antioxidante ³	$25,8 \pm 1,3$	$12,9 \pm 0,3$	$47,5 \pm 1,5$
Antocianinas (mg/100g) ⁴	$31,6 \pm 1,3$	$9,7 \pm 0,5$	$49 \pm 2,6$

¹expresso em ácido málico; ² expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; ³expresso em $\mu\text{mol Trolox equivalente}/100\text{g}$. ⁴ expresso em cianidina-3-O-rutinosideo equivalente.

Nota-se uma redução nos valores de todos os parâmetros do suco clarificado se comparado ao centrifugado. Os compostos fenólicos apresentaram uma redução de 45% na corrente de suco clarificado quando comparado ao suco centrifugado, utilizado como alimentação para os ensaios. Este valor é aproximadamente 10% superior ao encontrado por Gouvêa (2010), que verificou uma redução no teor de compostos fenólicos de 54,2% em suco de açaí clarificado, previamente tratado enzimaticamente com a enzima Rapidase TF e centrifugado, e com processo de microfiltração realizado sob as mesmas condições dos ensaios realizados neste trabalho. Já a atividade antioxidante, determinada pelo método do ABTS, apresentou redução de 50% no suco clarificado.

O teor de antocianinas diminuiu 69% no suco clarificado em relação ao suco centrifugado, utilizado como alimentação para os ensaios. Este valor foi semelhante ao encontrado por Gouvêa et al. (2012), onde o suco clarificado de açaí apresentou uma redução de 70% no teor de antocianinas. Parte considerável desta perda pode estar relacionada à oxidação destes compostos por não haver controle de atmosfera ao longo dos ensaios e com a aeração no tanque de alimentação estes compostos podem ter sido perdidos. Além disso, há a retenção de parte destes compostos pela membrana utilizada.

A redução nos teores dos compostos bioativos

A redução dos valores nos parâmetros avaliados, especialmente no teor de sólidos, beneficia o comportamento do processo de concentração por nanofiltração, evitando a deposição de partículas sobre a membrana, diminuindo assim a eficiência do processo.

Foi determinada a composição centesimal das correntes dos ensaios de microfiltração (Tabela 11)

Tabela 11. Composição centesimal de suco de açaí no processo de microfiltração.

Parâmetros (g/100g)	Centrifugado	Clarificado	Retido
Cinzas	0,5 ± 0	0,5 ± 0	0,6 ± 0
Extrato etéreo	2,6 ± 0,1	0,5 ± 0	7,1 ± 0,3
Proteína	0,5 ± 0	0,3 ± 0	1,5 ± 0
Carboidratos	1,9 ± 0,2	0,5 ± 0,2	5,3 ± 0,2

* Valores expressos em g/100g.

Verificou-se uma redução de 80% no teor de lipídeos no suco clarificado em relação ao centrifugado, demonstrando assim a eficiência na redução do teor de lipídeos do açaí. A

diminuição do teor de lipídeos pode favorecer o aumento na estabilidade do produto com a redução das reações de rancidez oxidativa. Os teores de carboidratos foram reduzidos em torno de 73%, havendo redução de partículas como fibras que são retidas devido ao seu tamanho. A retenção de fibras auxilia o processo de filtração do suco, pois estas podem aderir aos poros reduzindo a área total de filtração.

Como citado anteriormente, as reduções nos teores de fibras e de lipídeos, levam a uma diminuição de parte importante da dieta pela redução das fibras dietéticas, importantes para a formação do bolo fecal e aumento do peso das fezes, e também pela redução dos ácidos graxos essenciais que auxiliam na diminuição de riscos de doenças cardiovasculares, diabetes e disfunções imunológicas.

Os valores de atividade enzimática do suco de açaí estão apresentados na Figura 24.

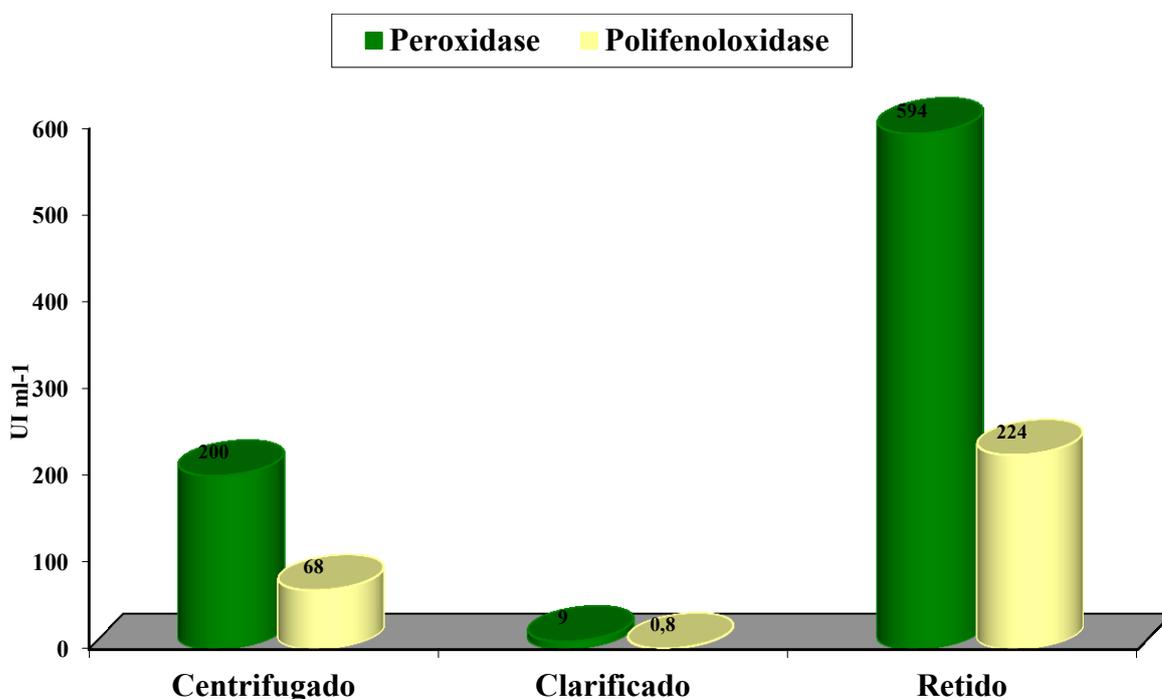


Figura 24. Atividade enzimática das correntes de suco de açaí no processo de microfiltração.

Santos et al. (2001) verificaram a necessidade da utilização de um tratamento térmico com temperatura de 100°C por um período de dois minutos para inativação da polifenoloxidase em suco de açaí. O processo de microfiltração teve a capacidade de reduzir em 98,8% o teor de peroxidase a 35°C, temperatura essa considerada amena para a inativação desta enzima.

A atividade da peroxidase no suco permeado diminuiu 95,5% em relação ao centrifugado. A peroxidase é considerada a enzima mais resistente ao calor entre aquelas

presentes em frutas e vegetais, sendo utilizada como parâmetro para inativação enzimática (LEE *et al.*, 1984; RODRIGO, ALVARRUIZ e FRÍGOLA, 1996).

O processo de microfiltração demonstrou alta capacidade para redução da atividade enzimática em suco de açaí, o que pode aumentar a vida de prateleira do produto, evitando a formação de *off-flavor* e escurecimento enzimático do suco.

As curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação dos sucos centrifugado e clarificado estão apresentadas na Figura 25.

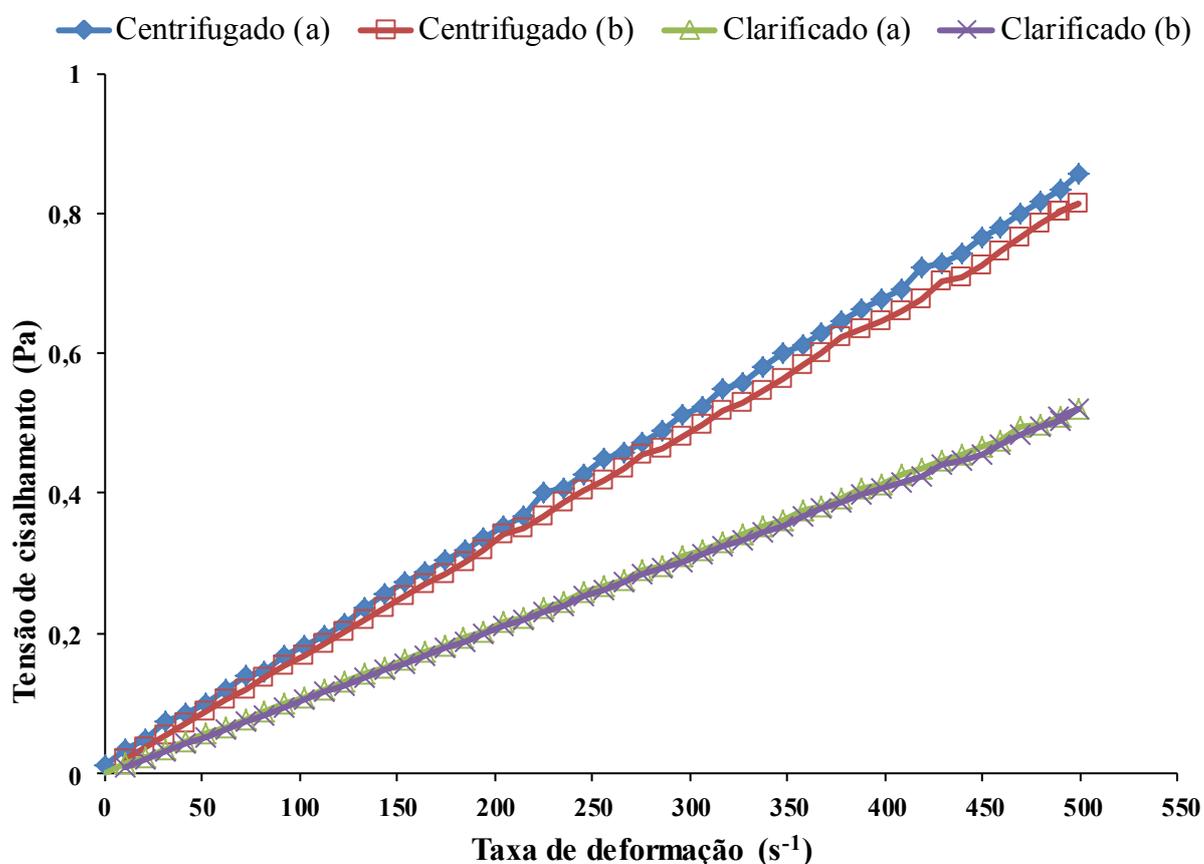


Figura 25. Avaliação reológica de suco de açaí centrifugado e suco de açaí clarificado.

Após a utilização do modelo de lei da potência para análise dos resultados constatou-se que o suco clarificado, apresentou comportamento Newtoniano ($n=1$). A Tabela 12 apresenta os valores de viscosidade e os parâmetros de lei de potência para as duas correntes avaliadas.

Tabela 12. Viscosidade das frações de suco centrifugado, clarificado e retido da microfiltração

Parâmetro	Açaí Centrifugado	Açaí Clarificado	Açaí retido
Viscosidade (Pa.s)*	0,0018	0,0011	0,57
Índice de consistência (K)	0,0028	0,0010	11,8
Valor de n	0,91	1,00	0,31
Comportamento	Newtoniano	Newtoniano	Pseudoplástico

*a uma taxa de 80 s^{-1}

A viscosidade do suco de açaí retido durante os ensaios foi de aproximadamente 315,7% maior se comparado á viscosidade do suco centrifugado como ilustrado na Figura 26. Esta diferença deve-se ao fato de o suco retido nos ensaios de microfiltração possuir um alto teor de partículas dispersas.

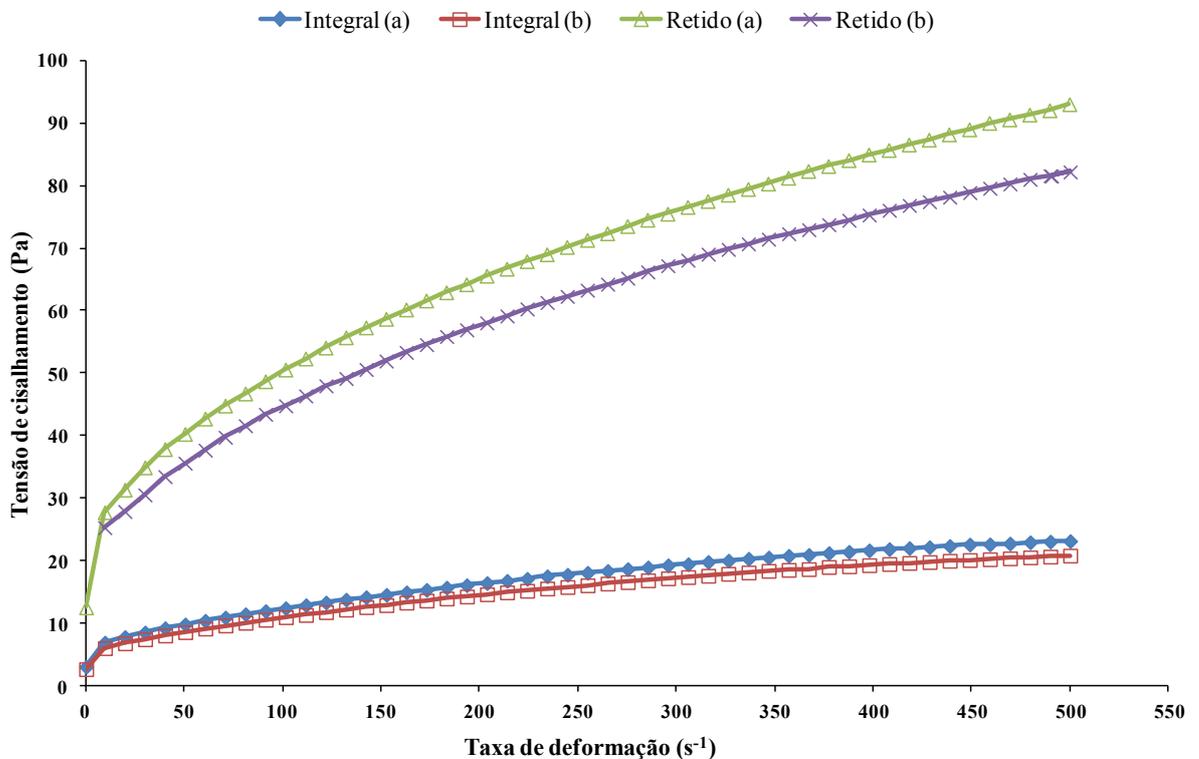


Figura 26. Avaliação reológica de suco de açaí integral e suco de açaí retido da microfiltração.

As frações de suco integral, utilizado como matéria prima, e de suco retido na microfiltração, apresentaram comportamento semelhante (pseudoplástico). Analisando estes resultados pode-se considerar que o processo de centrifugação teve uma influência positiva para aumento de fluxo de permeado nos ensaios de microfiltração, pois o fluxo de permeado é inversamente proporcional à viscosidade do fluido. Caso fosse utilizado o suco integral como alimentação para os ensaios, a tendência seria de valores de fluxo inicial próximos aos valores de fluxo final obtidos nos ensaios onde a alimentação foi realizada com suco centrifugado.

4.2.2. Concentração do suco de açaí

4.2.2.1. Avaliação da permeabilidade hidráulica

Foi determinada a permeabilidade hidráulica da membrana de nanofiltração NF270 antes da realização dos ensaios como mostra a Figura 27.

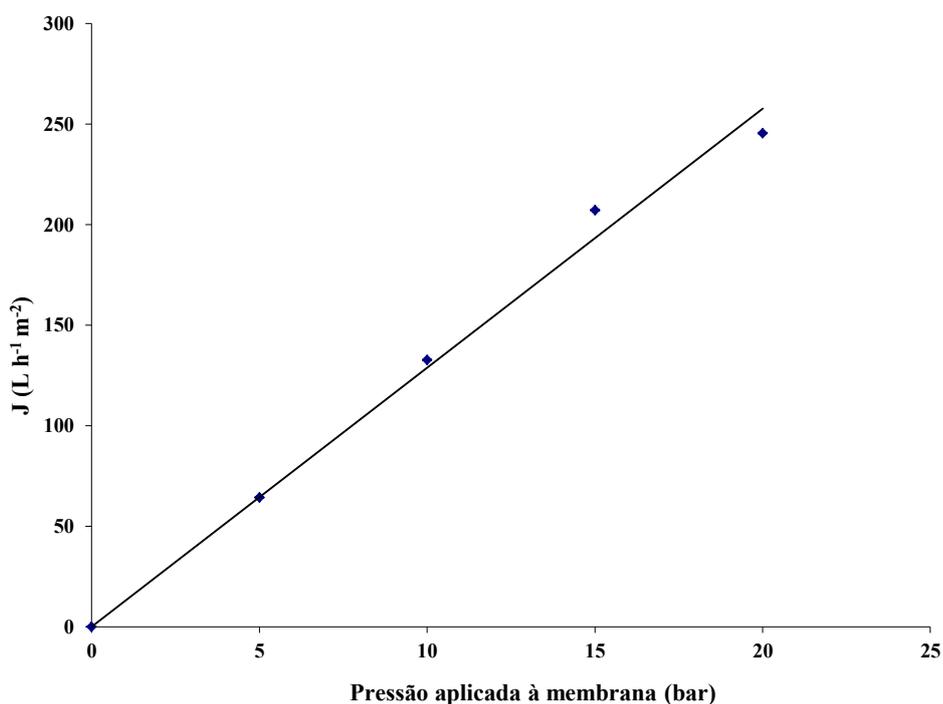


Figura 27. Permeabilidade hidráulica da membrana de nanofiltração NF270.

Os valores de fluxo obtidos foram de $64 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $132 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, $207 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ e $245 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ em pressões aplicadas à membrana de 5, 10, 15 e 20 bar, respectivamente. Verifica-se um aumento linear do fluxo com a pressão aplicada à membrana. O fluxo limite, instante em

que não há influência da pressão aplicada à membrana sobre os valores de fluxo, não foi atingido. A avaliação do fluxo limite é importante pois a partir de determinada pressão o valor de fluxo de permeado não sofre alteração, o que poderia gerar um maior gasto energético sem necessidade.

4.2.2.2. Ensaio de nanofiltração

O suco clarificado por microfiltração foi utilizado como alimentação no processo de nanofiltração (Figura 28), apresentando fluxo inicial médio de $37,8 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ com estabilização do fluxo após aproximadamente 20 minutos de processo, chegando a um fluxo médio de $1,7 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. O fator de redução volumétrica (FRV) obtido foi de 7.

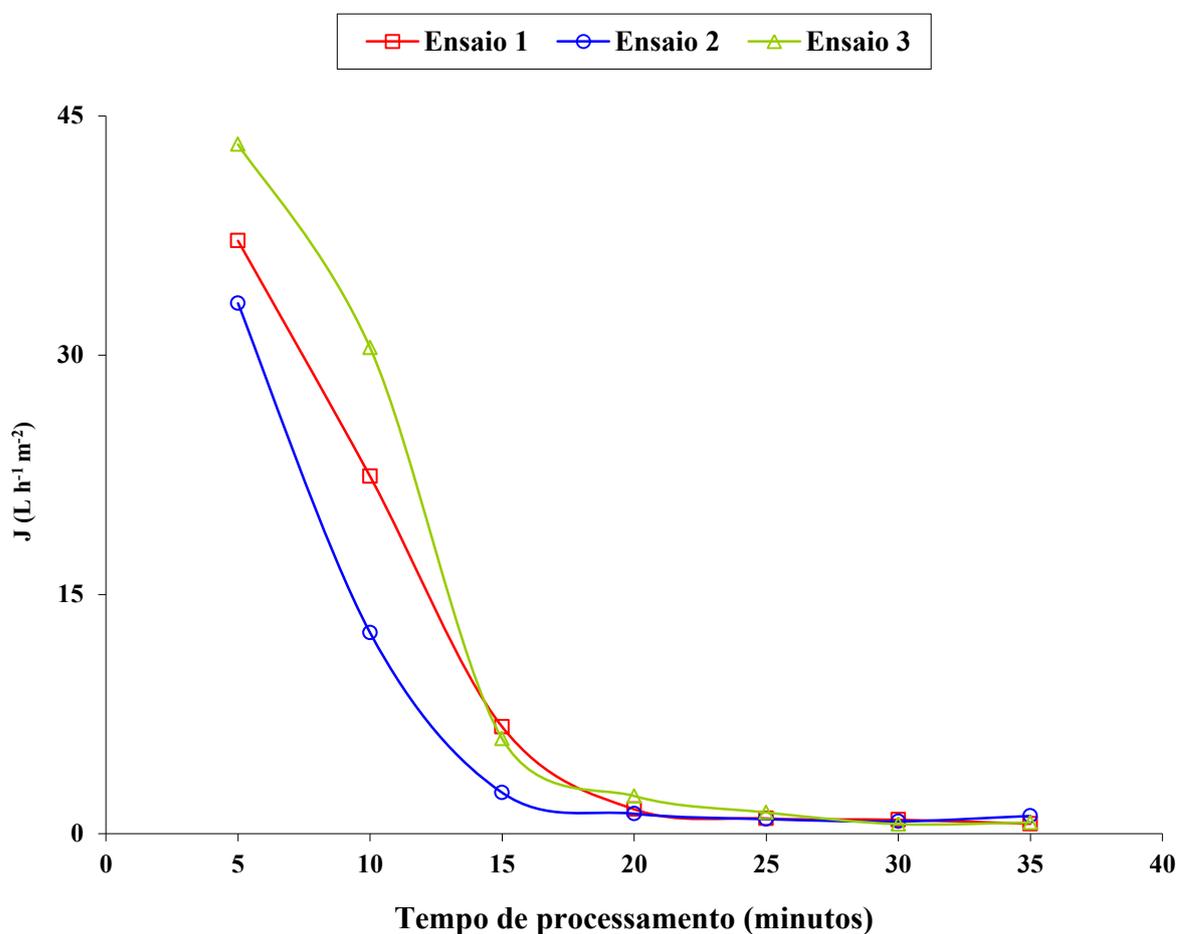


Figura 28. Comportamento do suco de açaí clarificado ao longo do processo de nanofiltração.

Os três ensaios realizados apresentaram comportamento semelhante com redução acentuada no fluxo após os primeiros 15 minutos. A partir deste tempo os valores de fluxo permaneceram praticamente constantes até o término dos ensaios, onde já não se podia avaliar

o fluxo de permeado. Devido à grande área de membrana utilizada e os ensaios terem sido realizados em regime de batelada, a queda foi bem acentuada. Esta redução ocorre principalmente pelo aumento na viscosidade do produto ao se remover a água levando a uma concentração dos compostos presentes do produto. Além disso, a concentração dos compostos de baixa massa molar leva a um aumento da pressão osmótica do suco que ao se equiparar com a pressão aplicada faz com que não haja mais gradiente de força e com isso não haja mais permeação através da membrana.

As correntes dos ensaios foram analisadas e estão descritas na Tabela 13.

Tabela 13. Resultado das análises do processo de concentração de suco de açaí por nanofiltração.

Parâmetro	Clarificado (alimentação)	Retido	Permeado
pH	4,8	4,5	5
Acidez (g/100g)¹	0,1 ± 0	0,7 ± 0	0 ± 0
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	1,8 ± 0,9	10 ± 2,5	0 ± 0
Teor de sólidos totais (g/100g)	2 ± 0,9	11 ± 0,2	0,2 ± 0
Compostos fenólicos totais²	110,78 ± 3,9	605,67 ± 35,3	0 ± 0
Atividade antioxidante³	12,9 ± 0,3	58,5 ± 4,8	0 ± 0
Antocianinas (mg/100g)⁴	9,7 ± 0,5	78,8 ± 1,5	0,4 ± 0

¹expresso em ácido málico; ² expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; ³expresso em µmol Trolox equivalente/100g; ⁴ expresso em cianidina-3-O-rutinosideo equivalente

O teor de compostos fenólicos totais, sólidos totais e sólidos solúveis apresentaram um aumento de aproximadamente 5,5 vezes. Já a atividade antioxidante apresentou um aumento de aproximadamente 4,8 vezes. Este aumento não foi compatível com o fator de redução volumétrica, encontrado ao longo do processo. Possivelmente houve oxidação destes compostos fenólicos, levando à sua diminuição, diminuindo assim sua atividade antioxidante.

Mello e colaboradores (2010) verificaram retenção de aproximadamente 100% para compostos fenólicos em solução aquosa de extrato de própolis, sugerindo que os processos de nanofiltração tem a capacidade de concentrar estes compostos sem permitir sua passagem pela membrana.

O processo de nanofiltração teve a capacidade de reter e concentrar as antocianinas presentes no suco clarificado, evitando que elas fossem perdidas na corrente de permeado. Confirma-se, portanto, a capacidade deste tipo de processo em reter antocianinas e concentrá-las. O fator de redução volumétrica é determinado pela relação entre o volume de suco utilizado na alimentação e o volume de retido. Como esta avaliação não é exata, há uma perda no permeado (água) ao passar o produto para provetas e com isso o volume de permeado pode ser subestimado.

As correntes de alimentação e de suco concentrado foram avaliadas reologicamente como mostrado na Figura 29.

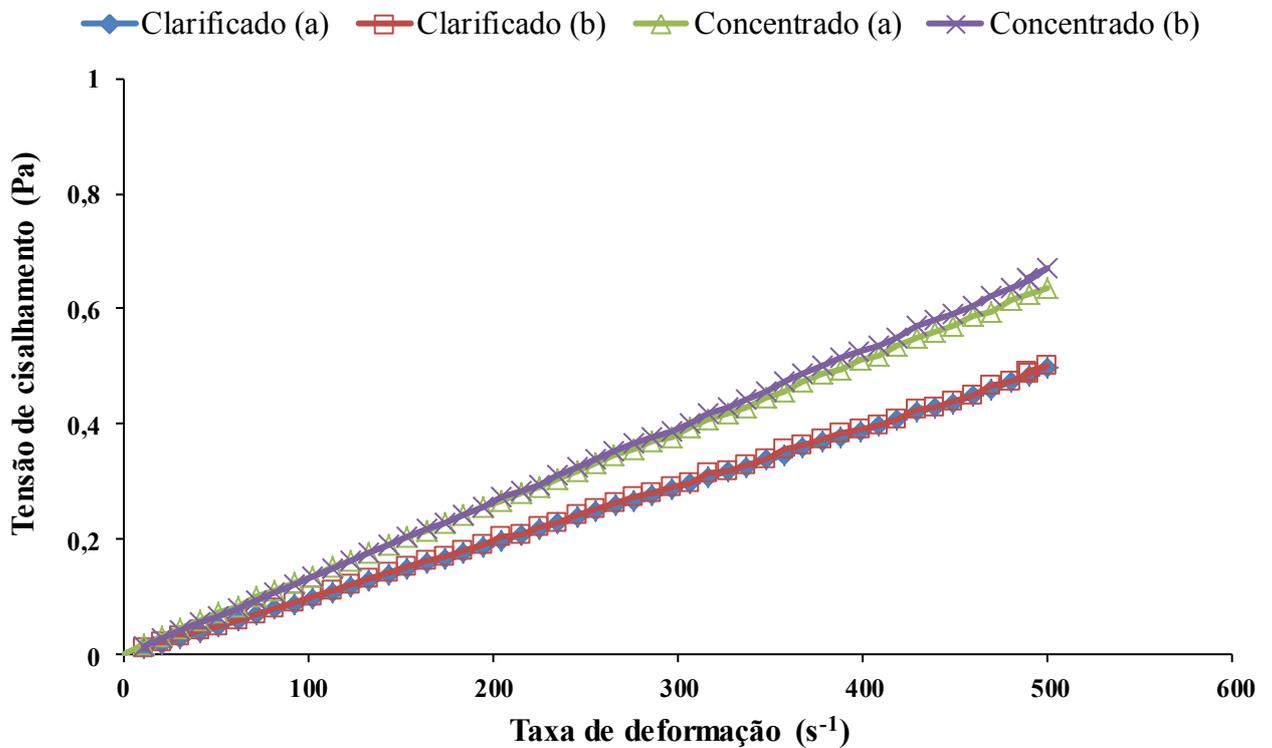


Figura 29. Avaliação reológica de suco de açaí clarificado e suco de açaí concentrado por nanofiltração.

As correntes do processo apresentaram comportamento newtoniano. A viscosidade das frações avaliadas se apresentaram praticamente inalteradas (Tabela 14).

Tabela 14. Viscosidade das frações de suco clarificado e concentrado da nanofiltração.

Parâmetro	Açaí Clarificado	Açaí Concentrado
Viscosidade (Pa.s)*	0,0010	0,0013
Índice de consistência (K)	0,0008	0,0015
Valor de n	1,04	0,98
Comportamento	Newtoniano	Newtoniano

*a uma taxa de 80 s^{-1}

Nota-se que a diferença entre o índice de consistência e o valor de viscosidade é praticamente inexistente para as duas frações avaliadas. Este comportamento pode ser explicado devido a ausência de partículas em suspensão na fração de suco concentrado. Mesmo havendo concentração de substâncias no produto não há aumento e nem concentração de partículas o que poderia resultar em uma alteração do comportamento reológico.

4.3 Microencapsulação do suco de açaí concentrado por nanofiltração

Conforme descrito anteriormente, foram utilizadas proporções de maltodextrina:sólidos do suco de 1:1 e 2:1. A amostra com maior proporção de maltodextrina apresentou maior rendimento, o que era um resultado esperado, devido ao aumento na massa seca utilizada como alimentação para o ensaio.

A Figura 30 apresenta os resultados da análise de higroscopicidade dos produtos obtidos.

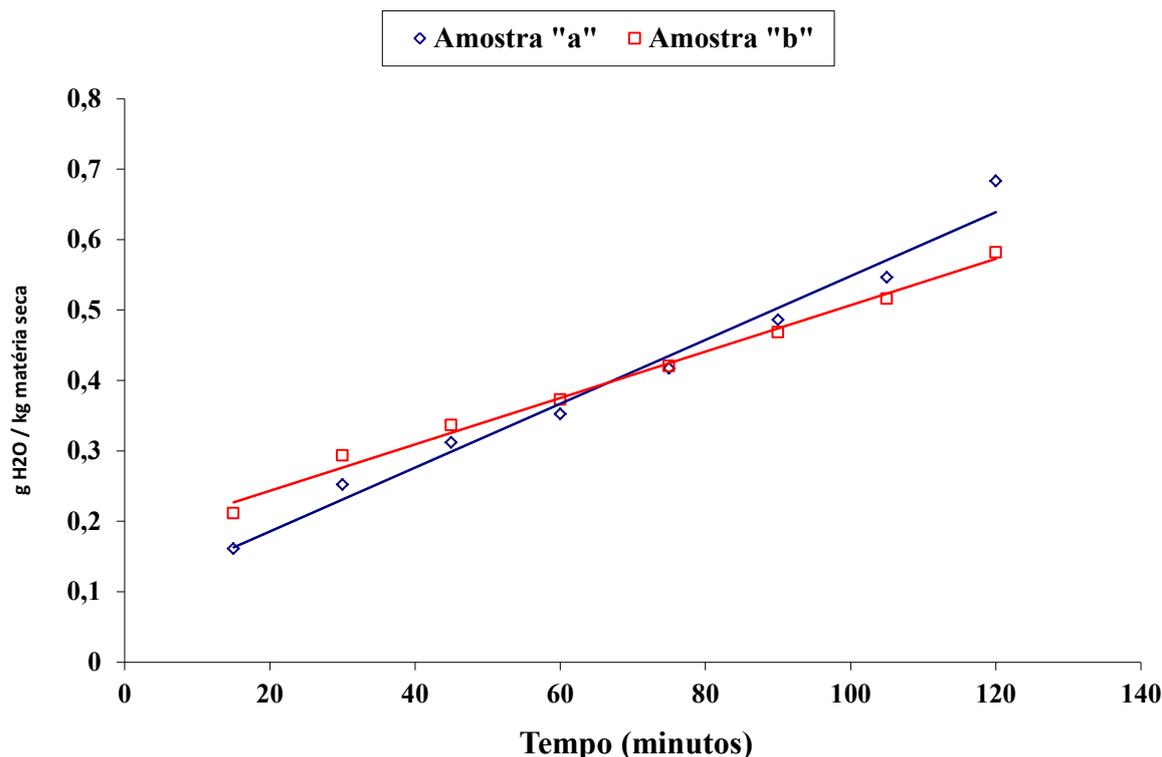


Figura 30. Avaliação da higroscopicidade dos produtos obtidos na microencapsulação. Amostra a (maltodextrina 1:1 suco) e Amostra b (maltodextrina 2:1 suco)

A amostra Açai “A” (maltodextrina 1:1 suco) apresentou inicialmente menor adsorção de água em comparação a amostra “B” (maltodextrina 2:1 suco). Ao longo da análise houve uma inversão na absorção de água entre as amostras, com a amostra “B” apresentando uma menor absorção de água ao final da análise.

A higroscopicidade das amostras produzidas nas proporções de 1:1 e 2:1 (expressas pelos coeficientes angulares das curvas de adsorção de água) foram de 0,0045 e 0,0033 g H₂O/kg matéria seca, respectivamente, indicando que a amostra produzida com maior concentração de maltodextrina foi menos higroscópica. Isso se deve ao fato de a maltodextrina ser um material com baixa higroscopicidade e confirma a eficiência de seu uso como agente carreador, no sentido de reduzir a adsorção de água por produtos desidratados em *spray dryer*. Tonon (2011) estudou a influência das variáveis de processo sobre a secagem por atomização do suco de açaí utilizando maltodextrina como agente carreador e verificou que a concentração de maltodextrina foi a variável que exerceu maior influência sobre a higroscopicidade do produto, apresentando comportamento semelhante ao observado no presente trabalho.

Para o estudo da estabilidade, os produtos obtidos foram avaliados ao longo de 30 dias em relação à atividade antioxidante e teor de antocianinas majoritárias do açaí (cianidina-3-O-rutinosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo). Os resultados para atividade antioxidante estão apresentados na Figura 31.

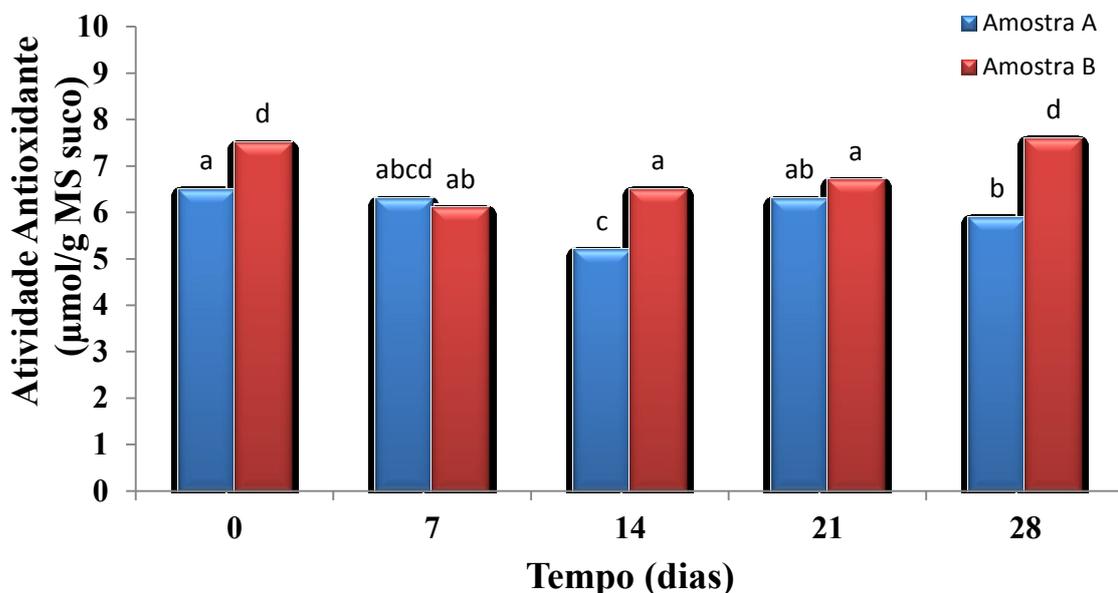


Figura 31. Atividade antioxidante do suco de açaí microencapsulado. Amostra A = 1:1; Amostra B = 2:1. Expresso em μmol de trolox por grama de matéria seca de suco. Letras iguais não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Após a realização das análises do tempo zero, verificou-se que a atividade antioxidante da amostra “A” foi de $6,5 \mu\text{mol}$ de trolox por grama de matéria seca do suco enquanto que a amostra “B” apresentou um valor de $7,5 \mu\text{mol}$ de trolox por grama de matéria seca do suco, representando um valor 13 % superior. A amostra de suco de açaí concentrado apresentou um teor de $8,1 \mu\text{mol}$ de trolox por grama de matéria seca do suco, sendo assim a amostra “A” apresentou uma retenção de 80% na atividade antioxidante enquanto a amostra “B” apresentou retenção de 92%. Sugere-se que a maior concentração de maltodextrina possa ter criado uma cápsula com maior capacidade de reter os compostos avaliados.

A atividade antioxidante aparentou permanecer sem alteração ao longo do período de armazenamento. Verifica-se que houve uma diminuição no valor de atividade antioxidante no décimo quarto dia e depois um aumento nos valores o que pode ter ocorrido devido a erros analíticos.

Também foi avaliado o teor de antocianinas do açaí ao longo do tempo de armazenamento (Figura 32)

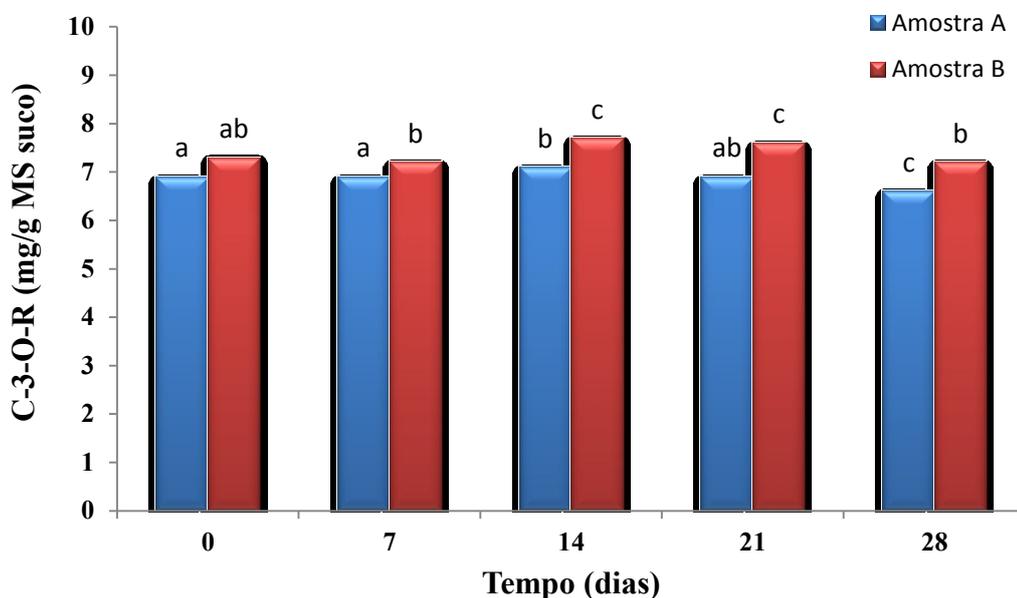


Figura 32. Teor de cianidina-3-O-rutinosídeo no suco de açaí microencapsulado. Amostra A = 1:1; Amostra B = 2:1. Letras iguais não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Os teor de antocianinas dos produtos obtidos na microencapsulação foram de 6,9 e 7,3 mg de cianidina-3-O-rutinosídeo por grama de matéria seca do suco para as amostras “A” e “B”, respectivamente. Verificou-se com estes resultados que a amostra com proporção 1:1 (amostra “A”) apresentou uma retenção de 88% no teor de cianidina-3-O-rutinosídeo enquanto a amostra com proporção 2:1 apresentou retenção de 93,5%. Os resultados encontrados demonstram que a retenção das antocianinas no processo de spray drying foi satisfatória em ambas as condições testadas com a proporção de duas partes de maltodextrina 10 DE para uma parte de suco apresentando ligeira vantagem.

A manutenção do teor de antocianinas pode ser explicada pela baixa higroscopicidade observada nos produtos estocados, que implica em uma menor quantidade de água adsorvida, fazendo com que as reações de oxidação sejam dificultadas. Como verificado anteriormente, a higroscopicidade da amostra “b” apresentou um comportamento mais satisfatório absorvendo menos água ao longo da análise, e com isso apresenta maiores teores de antocianinas e menor variação nos valores destes parâmetros.

O comportamento das antocianinas e da atividade antioxidante foram diferentes, o que segundo Schauss et al. (2006) e Lichtenthäler et al. (2005), indica que o açaí pode conter

outras substâncias que contribuam para sua capacidade antioxidante, além dos polifenóis. Com isso pode ter havido a influência de outros compostos que influenciaram no comportamento da atividade antioxidante.

Tonon et al. (2011) verificou que a maltodextrina 10 DE se apresentou como melhor agente carreador na manutenção das antocianinas das partículas produzidas por *spray drying* quando comparada a outros agentes como goma arábica, maltodextrina 20 DE e fécula de mandioca. Por apresentar características como alta solubilidade, baixa viscosidade, ausência de sabor e principalmente seu baixo custo e pelos resultados obtidos em seu trabalho, a maltodextrina 10 DE foi considerada uma ótima opção para a produção de suco de açaí em pó.

Após a avaliação dos compostos bioativos do açaí nas diferentes etapas do trabalho, verificou-se uma redução em todos os parâmetros desde a matéria-prima até a obtenção do suco clarificado, utilizado como alimentação para os ensaios de concentração. Os resultados estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Avaliação dos compostos bioativos ao longo do estudo de concentração de suco de açaí

Produto	Compostos fenólicos totais¹	Atividade antioxidante²	Antocianinas (mg/100g)³
Suco de açaí integral	243,6 ± 7,6	37,9 ± 1,4	36,5 ± 1,7
Suco centrifugado	201,8 ± 7,3	25,8 ± 1,3	31,6 ± 1,3
Suco clarificado	110,78 ± 3,9	12,9 ± 0,3	9,7 ± 0,5
Suco concentrado	605,67 ± 35,3	58,5 ± 4,8	78,8 ± 1,5
Suco microencapsulado*	-	205,1 ± 16,5	198,3 ± 5,8

¹expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; ²expresso em μmol Trolox equivalente/100g. ³ expresso em cianidina-3-O-rutinosideo equivalente. *proporção de duas partes de maltodextrina para uma parte de suco.

Verificou-se redução de 55% no teor de fenólicos totais, 65% atividade antioxidante e 73% das antocianinas entre o produto utilizado como matéria prima e o suco clarificado obtido pelo processo de microfiltração. Essa redução, como já foi discutido em outros pontos deste trabalho, ocorre em maior proporção pela diminuição no teor das fibras e pela possível oxidação dos compostos ao longo das etapas de processamento.

A filtração por membranas, mesmo reduzindo os teores de compostos bioativos, também reduzem outros compostos como açúcares, minerais e peptídeos, substâncias estas

que podem servir como interferentes na função das antocianinas em ensaios biológicos, sendo a eficiência das antocianinas nestes estudos avaliada de forma inadequada, acelerando também a degradação destes compostos (SEERAM *et al.*, 2004).

Apesar da diminuição nos teores destes compostos estudados ao longo das etapas de processamento, os mesmos apresentaram um aumento esperado após a concentração por nanofiltração. Desta forma, o teor de compostos fenólicos totais aumentou em aproximadamente 148%, o teor de antocianinas totais aumentou em torno de 115% e a atividade antioxidante aumentou em torno de 54%, quando comparado o suco concentrado em relação ao suco integral. Este aumento foi importante pois verificou-se a capacidade do processo de nanofiltração em concentrar os compostos bioativos e mesmo com a diminuição dos valores nas etapas de pré-tratamento, foi possível a obtenção de valores superiores aos valores iniciais, dos compostos bioativos, presentes no suco integral.

Para uma avaliação adequada do efeito das antocianinas em sistemas biológicos, é de grande importância a utilização de extratos antocianínicos puros, não havendo grande disponibilidade destes extratos de baixo custo. A dificuldade na utilização destes extratos em outros alimentos deve-se também ao fato da presença de outros compostos capazes de conferir características de aroma e sabor ao produto, além de contaminantes naturais, o que inviabiliza a elaboração de produtos com a utilização das antocianinas como corantes naturais (JORDHEIM *et al.* 2007).

O produto obtido na microencapsulação, os teores de atividade antioxidante e antocianinas tiveram um aumento de 5,4 vezes em relação ao suco integral, demonstrando assim que mesmo após as sucessivas reduções nos teores destes compostos, obteve-se um concentrado rico em compostos bioativos.

5. Conclusão

Nos testes realizados para avaliar as diferentes marcas de membranas comerciais de nanofiltração, o processo de microfiltração foi eficiente na clarificação de suco de açaí, garantindo a manutenção das antocianinas presentes no produto. Além disso, o fator de redução volumétrica foi igual a 8,5, demonstrando um grande aproveitamento no processo. As membranas de nanofiltração apresentaram alta retenção para antocianinas sendo a membrana NF 270 a que apresentou melhor relação entre retenção e fluxo de permeado. A membrana DL da GE Osmonics apresentou menor influência da incrustação durante os ensaios e também boa relação entre permeabilidade e retenção de antocianinas, no entanto os valores de fluxo de permeado foram inferiores aos encontrados com a membrana NF270.

A característica reológica do suco passou de pseudoplástica no suco integral para newtoniano no suco centrifugado. Com isso os valores de fluxo dos ensaios de microfiltração se apresentaram mais elevados do que seriam caso fosse utilizado o suco integral. Além disso, os ensaios de microfiltração foram eficientes na redução da atividade enzimática em suco de açaí em mais de 95 para peroxidase e 98% para a polifenoloxidase. O teor de extrato etéreo do suco clarificado foi reduzido a valores próximos a zero, sugerindo uma diminuição na chance de reações de rancidez oxidativa no produto, o que pode levar a um aumento na vida de prateleira. A viscosidade do suco clarificado foi ainda mais baixa quando comparada ao suco centrifugado, demonstrando a capacidade do processo em reter os sólidos em suspensão e partículas que aumentam a viscosidade, sendo estas encontradas no suco retido da microfiltração que apresentou comportamento reológico pseudoplástico, semelhante ao suco de açaí integral.

Os ensaios de nanofiltração permitiram a concentração do teor de antocianinas em oito vezes, não havendo passagem de antocianinas para o permeado mostrando a eficiência do processamento na concentração deste composto com a utilização da membrana NF270. A viscosidade do suco concentrado por nanofiltração permaneceu semelhante à do suco clarificado, utilizado como alimentação nos ensaios.

Já os ensaios de microencapsulação apresentaram produtos com boa estabilidade para antocianinas e atividade antioxidante durante os 30 dias avaliados. A maltodextrina 10 DE na proporção de 2:1 (2 partes de maltodextrina para 1 parte de sólidos de suco) permitiu a obtenção de um pó com maiores concentrações para os parâmetros avaliados e também cápsulas com menor higroscopicidade. No entanto são necessários testes mais longos de

estabilidade para afirmar que esta proporção de maltodextrina e suco é a mais estável em relação aos parâmetros avaliados.

6. Sugestão para trabalhos futuros

- Avaliação de outros materiais de membrana de nanofiltração para concentração de suco de açaí.
- O estudo da estabilidade das antocianinas do suco de açaí concentrado por nanofiltração.
- Avaliação da estabilidade do suco de açaí clarificado e seu comportamento em relação a rancificação dos lipídeos.
- Desenvolvimento de produtos com a utilização de suco concentrado de açaí como corante e a estabilidade da cor destes produtos.
- Estudo *in vivo* do suco concentrado por nanofiltração para avaliação de seu potencial antioxidante e influência da redução dos lipídeos no metabolismo.
- Estudo de mais materiais encapsulantes e avaliação da estabilidade do suco microencapsulado por longos períodos de tempo.
- Utilização do produto encapsulado em produtos alimentícios como corantes e estudo da estabilidade da antocianinas nestes produtos.

7. Referências bibliográficas

- AL-KAHTANI, H.A.; HASSAN, B.H. Spray drying of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. **Journal of Food Science**, v. 55, n.4, p.1073-1076, 1990.
- ALBARACI, T. R.; VALETA, A. C.; PESSOA, J. D., Efeito da temperatura nas antocianinas do açaí. **Comunicado Técnico Embrapa**, p. 1517-4786, 2007.
- ALEXANDRE, D.; CUNHA R. L.; HUBINGER, M. D.. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24(1), p. 114-119, jan.-mar. 2004.
- AMORINI, A. M.; FAZZINA, G.; LAZZARINO, G.; TAVAZZI, B.; DI PIERRO, D.; SANTUCCI, R.. Activity and mechanism of the antioxidation properties of cyanidin-3-O-b-glucopyranoside. **Free Radical Research**, v. 35, 6, p. 953 – 966, 2001.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) . **Official methods of analysis** ; edited by Patricia Cunniff . 16^oed. Gaithersburg ,Maryland , 2005.
- ARSHADY, R. Microcapsules for food. **Journal of Microencapsulation**, v. 10, n. 4, p. 413-435, 1993.
- BARROS, S. T. D.; MENDES, E. S.; PERES, L.. Influence of depectinization in the ultrafiltration of West Indian cherry (*Malpighia glabra* L.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Meer) juices. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24 n. 2, Campinas Apr./June 2004.
- BE MILLER, J. N.; HUBER, K. C. Carboidratos. Em: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R.. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed., Porto Alegre, Artmed, 2010.
- BE MILLER, J.N.; WHISTLER, R.L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**, 3ed. Cap.4, p. 157-224, 1996.
- BIANCHI, L.; LAZZÉ, C.; PIZZALA, R.; STIVALA, L. A.; SAVIO, M.; PROSPERI, E.. Anthocyanins protect against oxidative damage in cell cultures. In W. Pfannhauser, G. R. Fenwick, & S. Khokhar (Eds.), *Biologically-active phytochemicals in food*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, p. 311 – 318, 2001.
- BOBBIO, F. O. & BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 238p.
- BOBBIO, P. A; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001. 143p.

- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviews*, New York, v.56, n.11, p.317 – 333, 1998.
- BRAZEL, C.S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, v. 44, n. 6, p. 388 – 393, 1999.
- BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; NOVOTNY, J. A.. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.9389 – 9394, 2007.
- BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. Em: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181 p.
- BROWNING, A.M., WALLE, U.K, WALLE, T.Flavonoid glycosides inhibit oral cell proliferation-role of cellular uptake and hydrolysis to the aglycones. **Journal of Pharamcy and Pharmacology**, v. 57, n.8, p. 1037 – 1042, 2005.
- BRUGGEN, B. V. D.; GEENS, J.. Nanofiltration. Em: LI, N. N.; FACE, A. G.; WINSTON HO, W. S.; MATSUURA, T.. *Advanced membrane technology and applications*. John Wiley and Sons, Inc., New Jersey, 2008.
- CAMPOS, C. F.. Desenvolvimento de processos térmicos e químicos para inativação enzimática e prevenção do sabor da água de coco verde, 1993. 140p.
- CEMEROGLU, B.; VELIOGLU, S.; ISIK, S. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 6, p. 1216 – 1218, 1994.
- 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**. 44, p. 2607 – 2614, 2011.
- CHERYAN, M.. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**. Lancaster:Technomic, 1998. 527 p.
- CHEYNIER, V.. Polyphenols in foods are more complex than often thought . **American Journal of Clinic Nutrition**, v. 81, p. 223S – 229S, 2005.

COHEN, K. O.. **Composição química do açaí**. Embrapa Amazônia Oriental, sistemas de produção, 4, 2ª edição, versão eletrônica, Dezembro de 2006. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/composicao.htm. Acesso em: 24 Agosto 2008.

COISSON, J. D.; CAPASSO, M.; PIANA, G.; TRAVAGLIA, F.; ARLORIO, M.. Anthocyanins and other compounds from *Euterpe oleracea*: potential application as food functional pigment. In J. Empis (Ed.), *Functionalities of pigments in food – conference proceedings*. Lisbon: **Sociedade Portuguesa de Química Publ.** p. 337 – 340, 2002.

COISSON, J.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, M.. *Euterpe oleracea* juice as functional pigment for yogurt. **Food Research International**, v.38, n.8-9, p.839 – 897, 2005.

CONSTANT, P. B.. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.)**. Universidade Federal de Viçosa - ciência e tecnologia de alimentos, p. 112, 2003.

COULTATE, T. P. **Alimentos Química de sus componentes**. España: Editorial Acribia, 1984.

CRUZ, A. P. G.; MATTIETTO, R. DE A.; DIB TAXI, C. M. A.; CABRAL, L. M. C.; DONANGELO, C. M.; DA MATTA, V. M.. Effect of microfiltration on bioactive components and antioxidante activity of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Desalination and Water Treatment**. v. 27, p. 97 – 102, 2011.

CUPERUS, F.P.; NIJHUIS, H.H. Applications of membrane technology to food processing. **Trends in Food Science & Technology**. Colney, v.4, p.277 – 282, 1993..

de OLIVEIRA, R.C.; DOCÊ, R. C.; de BARROS, S. T. D.. Clarification of passion fruit juice by microfiltration: Analyses of operating parameters, study of membrane fouling and juice quality. **Journal of Food Engineering**. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.01.021. 2012.

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

FILKOVÁ, I.; MUJUMDAR, A. S.. Industrial spray drying systems in **Handbook of Industrial Drying**. Arun S. Mujumdar. Marcel Dekker Inc. New York. 742 p., 1995.

FRANKE, I. L.; BERGO, C. L.; AMARAL, E. F.; ARAUJO, E. A.. Aptidão Natural para o Cultivo de Açaí (*Euterpe oleraceae* Mart. e *Euterpe precatória* Mart.) no Estado do Acre. **Comunicado Técnico**, nº142, p. 1 – 5, 2001.

FREGONESI, B. M.; YOKOSAWA, C. E.; OKADA, I. A.; MASSAFERA, G.; BRAGA COSTA, T. M.; PRADO, S. P. T.. Polpa de açaí congelada: características nutricionais, físico-químicas, microscópicas e avaliação da rotulagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 69, n. 3, p. 387 – 395, 2010.

GALVANO, F.; LA FAUCI, L.; LAZZARINO, G.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CIAPPELLANO, S.. Cyanidins: metabolism and biological properties. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 2 – 11, 2004.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, n.9, p.1107 – 1121, 2007.

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L. R. Membrane processing of fruit juices and beverages: a review. **Critical Reviews of Food science and nutrition**, v. 40, n. 2, p. 91 – 157, 2000.

GOIFFON, J.; MOULY, P. P.; GAYDOU, E. M. Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 382, p. 39 – 50, 1999.

GOUVÊA, A. C. M. S.. Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência. **Dissertação de mestrado**. Seropédica, RJ, 2010.

GONNET, J. F.. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. 1: A colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**. v. 63, p. 409 – 415, 1998.

GROSS, J. Anthocyanins. In. **Pigments in Fruits**. London, UK: Academic Press, 1987. chapter 2, p. 59-85.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R.. **Processos de Separação com membranas**. E-pappers, 2006, p. 180.

HASSAN, A. M.; AL-SOFI, M. A. K.; AL-AMOUDI, A. S.; JAMALUDDIN, A. T. M.; FAROOQUE, A. M.; ROWAILI, A.; DALVI, A. G. I.; KITHER, N. M.; MUSTAFA, G. M.; AL-TISAN, I. A. R.. A new approach to thermal seawater desalination processes using nanofiltration membranes (Part 1). **Desalination**. v. 118, n. 1-3, p. 35 – 51, 1998.

- HER, N.; AMY, G.; JARUSUTTHIRAK, C.. Seasonal variations of nanofiltration (NF) foulants: identification and control. *Desalination*. v.132, n.1-3, p.143 – 160, 2000.
- HUTCHINGS, J. B. **Food Colour and appearance**. London, UK: Blackie Academic & Professional, 1st Edition, 1994, 513 p.
- IBGE. Produção da extração vegetal e da silvicultura. Volume 25, Brasil, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4ª Edição, 1ª Edição eletrônica, São Paulo, 2008.
- JACKMAN, R. L. & SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F. & HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. London, UK: Blackie Academic & Professional, 2nd Edition, 1996, 348 p.
- JACKSON, L.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 4, n. 4, p. 289 – 297, 1991.
- JORDHEIM, M.; AABY, K.; FOSSEN, T.; SKREDE, G.; ANDERSEN, Ø. M.. Molar Absorptivities and Reducing Capacity of Pyranoanthocyanins and Other Anthocyanins **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.55, p. 10.591 – 10.598, 2007.
- KAREL, M.; FLINK, J. Some recent developments in food dehydration research. **Advances Drying**, v. 2, n. 1, p. 103 – 104, 1983.
- KONG, J. M.; CHIA, L.-S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R..Corrigendum to “Analysis and biological activities of anthocyanins”.**Phytochemistry**, v.64, p. 923 – 993, 2003.
- KOSEOGLU, S.S.; RHEE, K.C.; LUSAS, E.W. Membrane processing of crude vegetable oils: laboratory scale membrane degumming, refining and bleaching. **Journal of American Oil Chemists’ Society**. Champaign, p.182 – 188, 1989.
- LEE, C.Y.; PENNESI, A.P.; DICKSON, M.H. Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 18 – 21, 1984.
- LEE, H. S.. Characterization of major anthocyanins and the colour of red-fleshed Budd Blood orange (*Citrus sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1243 – 1246, 2002.

- LEE, S.; LEE, C. H. Effect of operating conditions on CaSO₄ scale formation mechanism in nanofiltration for water softening, **Water Research**. v. 34, n. 15, p. 3854 – 3866, 2000.
- LICHTENTHÄLER, R.; BELANDRINO, R.; MAIA, J.G.; PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.56, n.1, p.53 – 64, 2005.
- LIMA, V. L. A. G.; GUERRA, N. B. Antocianinas: atividade antioxidante e biodisponibilidade. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, Supl. 37, p. 121 – 128, dez, 2003.
- MARKAKIS, P. Anthocyanins as food additives. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York: Academic Press, 1982, p. 245 – 253, 1982.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993, 362p.
- McCLEMENTS, D. J; DECKER, E. A. Lipídeos. Em: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R.. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª edição, Porto Alegre, Artmed, 2010.
- MELLO, B. C. B. S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. **Journal of Food Engineering**. 96, p.533 – 539, 2010.
- MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. s.l.: Kluwer Academic Publishers, 1991.
- MUÑIZ-MIRET, N.; VAMOS, R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MENDELSON, R.. The economic value of managing the Açay palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in floodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. **Forest Ecology and Management**. v. 87, p. 163 – 173, 1996.
- NOBLE, R. D.; STERN, S. A.. **Membrane separation technology: principles and applications**. Membrane Science and Technology Series, 2. Elsevier science, 1995.
- NOGUEIRA, O. L.. **Açaí - Introdução e importância econômica**. . Embrapa Amazônia Oriental, sistemas de produção, 4, 2ª edição, versão eletrônica, Dezembro de 2006. Disponível em:

http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/intro.htm. Acesso em: 24 Agosto 2008

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T.. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**. v. 115, pp. 1199 – 1205, 2009.

PALÁCIO, D. N. M.. Concentração de suco clarificado de açai por osmose inversa. EQ, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Dissertação de mestrado.

POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H. e TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Journal of Food Chem.**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

RÉ, M. I.. Cápsulas inteligentes. **Ciência Hoje**, v. 27, n. 162, p. 24-29, 2000.

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 & Medicine**, v. 26, n. 9/10, pp. 1231 – 1237, 1999.

REINECCIUS, G. A.. Flavor encapsulation. **Food Review International**, St. Paul, v. 5, n. 2, p. 146-176, 1989.

RENNER, E.; SALAM, M.H.A. Basic principles. In: RENNER, E.; SALAM, M.H.A ed. **Application of ultrafiltration in the industry**. London, Elsevier Science. Cap.2, pp.7-29, 1991.

RODRIGO, C.R.; M.; ALVARRUIZ, A.; FRÍGOLA, A.. Thermal Inactivation at High Temperatures and Regeneration of Green Asparagus Peroxidase. **Journal of Food Protection**, v. 59, p. 1065-1071, 1996.

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, 4p, 2007. (Comunicado Técnico on-line: 128).

ROSA SANTOS, F.; CATARINO, I.; GERALDES, V.,; DE PINHO, M. N.. Concentration and rectification of grape must by nanofiltration. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.59 (4), 446–450, 2008.

SABAA-SRUR, A.; TORRES, A. T.; MENEZES, E. M. S. Contribuição ao conteúdo nutricional de polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1351., 2004, Pernambuco. **Programa Final...** Recife: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004. 156p.

SANTOS, E. R. **Caracterização Bioquímica da Peroxidase e Polifenoloxidase de Açaí (*Euterpe oleracea*)**. 2001. 104 p. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SEERAM, N. P.; ADAMS, L.S.; HARDY, M. L.; HEBER, D.. Total Cranberry Extract versus Its Phytochemical Constituents: Antiproliferative and Synergistic Effects against Human Tumor Cell Lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 2512 – 2517, 2004.

SCHAUSS, A.G.; WU, X.; PRIOR, R.L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G.S.; HART, A.N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.22, p.8604-8610, 2006.

SFORÇA, M. L. **Membranas poliméricas preparadas a partir de materiais híbridos orgânico-inorgânicos**. Campinas: Instituto de Química, Unicamp, 1999. Tese (Doutorado).

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. Critical Review in **Food Science and Nutrition**, v.33, n.6, p. 501-547, 1993.

SHADHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company Co. 1995. 331 p.

SHAHIDI, F.; NAZCK, M.. Extration and analysis of phenolics in food review **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

SILVA, A. F.. **Preparação, caracterização e aplicação de membranas de poli (fluoreto de vinilideno) para a redução de cor de efluente têxtil modelo**. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, 2004. Dissertação (Mestrado).

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A.. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, pp.144 – 168, 1965.

TANGLERTPAIBUL, T; RAO, M. A.. A rheological property of tomato concentrates as affected by particle size and methods of concentration. **Journal of food science**, v.52, n.1, p. 141-145, 1987.

TARAGANO, V. M.; PILOSOFF, A. M. R.. Application of Doehlert designs for water activity, pH, and fermentation time optimization for *Aspergillus niger* pectinolytic activities production in solid-state and submerged fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 25 (3 – 5), p. 411 – 419, 1999.

THIES, C. Microencapsulation: what it is and purpose. In: VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey, Leatherhead Publishing, 2001, p.1-30.

TONON, R. V.. Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto. Tese de doutorado. Campinas, SP, 2009.

TONON, R. V.; FREITAS, S. S.; HUBINGER, M. D.. Spray drying of açaí (*Euterpe oleracea* mart.) juice: effect of inlet air temperature and type of carrier agent. **Journal of food processing and preservation**. V. 35, pp. 691 – 700, 2011.

VROUWENVELDER, H. S.; VAN PAASSEN, J. A. M.; FOLMER, H. C.; HOFMAN, J. A. M. H.; NEDERLOF, M. M.; VAN DER KOOIJ, D.. Biofouling of membranes for drinking water production, **Desalination**. v.118 (1–3), p.157–166, 1998.

WARCZOK, J.; FERRANDO, M.; LOPEZ, F.; GUELL, C.. Concentration of apple and pear juices by nanofiltration at low pressures. **Journal of Food Engineering**. 63(1), p. 63–70, 2004.

WU, T. Y.; MOHAMMAD, A. W.; MD. JAHIM, J.; ANUAR, N.. Palm oil mill effluent (POME) treatment and bioresources recovery using ultrafiltration membrane: Effect of pressure on membrane fouling. **Biochemical Engineering Journal**. v. 35, n. 3, p. 309- 317, 2007.

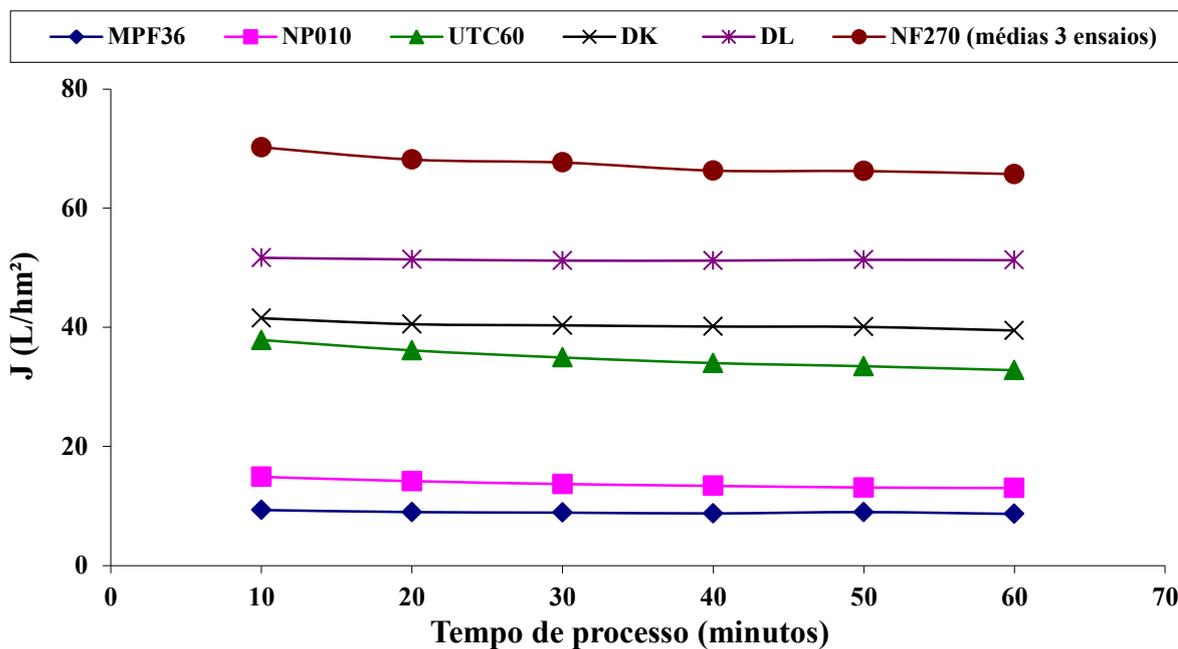
YILMAZ, Y., TOLEDO, R. T. Health aspects of functional grape seed constituents. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n.9, p. 422-433, 2004.

YEH, H. H.; TSENG, I. C.; KAO, S. J.; LAI, W. L.; CHEN, J. J.; WANG, G. T.; LIN, S. H.. Comparison of the finished water quality among an integrated membrane process, conventional and other advanced treatment processes. **Desalination**. 131 (1–3), p. 237–244, 2000.

ANEXO 1

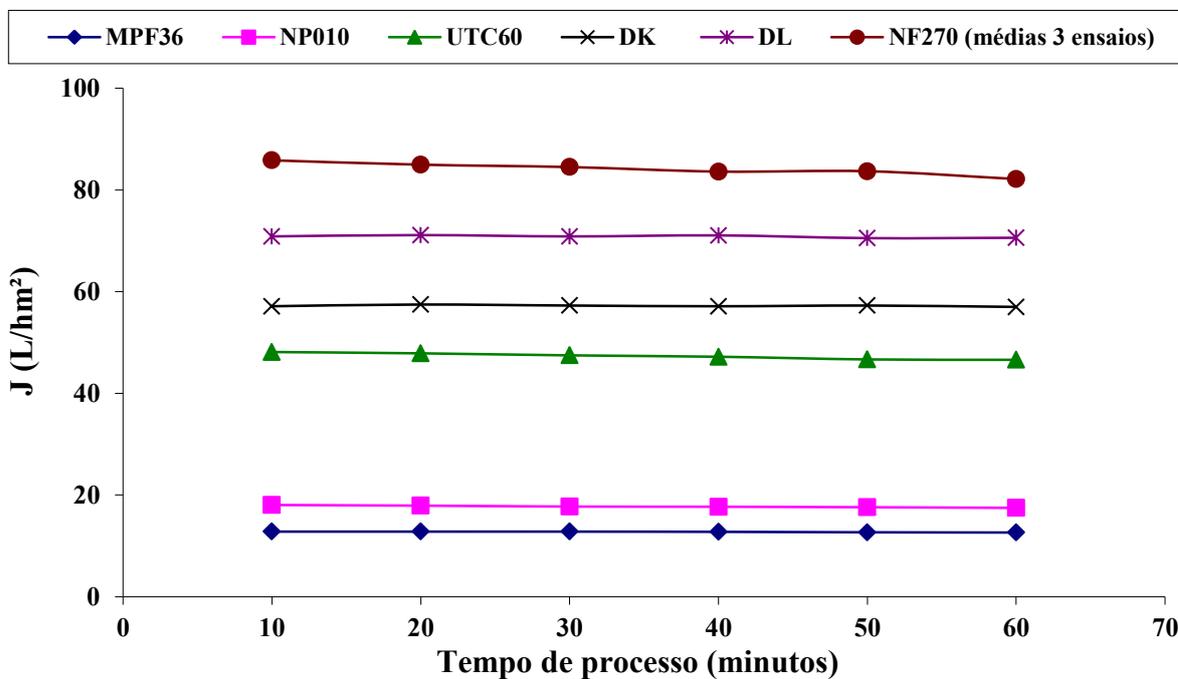
Avaliação da permeabilidade das membranas de nanofiltração a suco de açaí clarificado por nanofiltração de acordo com a pressão aplicada à membrana

ENSAIOS A 10 BAR



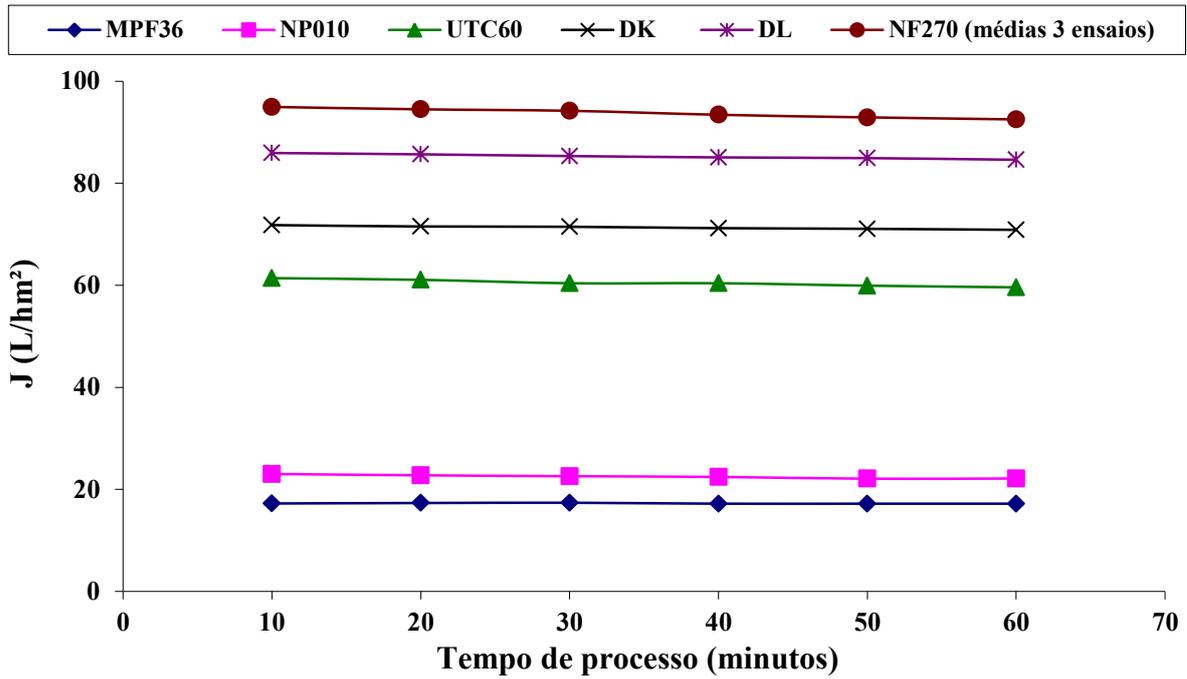
Testes com 6 membranas de nanofiltração com 10 bar de pressão aplicada à membrana com FRV=1.

ENSAIOS A 15 BAR



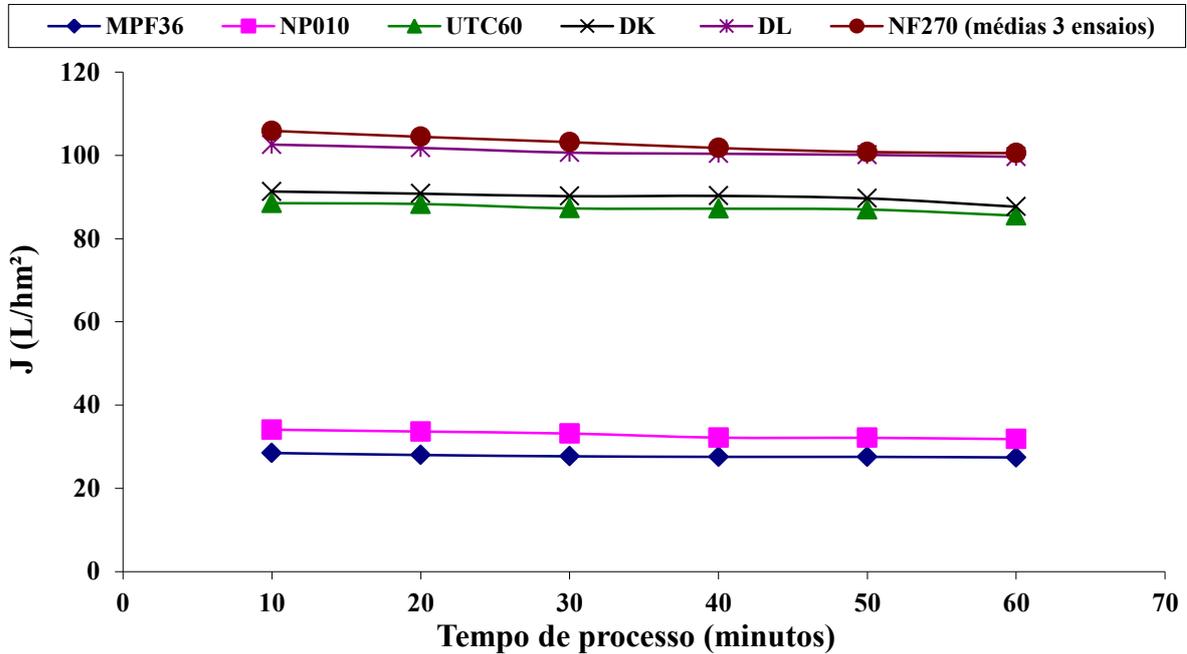
Testes com 6 membranas de nanofiltração com 15 bar de pressão aplicada à membrana com FRV=1.

ENSAIOS A 20 BAR



Testes com 6 membranas de nanofiltração com 20 bar de pressão aplicada à membrana com FRV=1.

ENSAIOS A 30 BAR



Testes com 6 membranas de nanofiltração com 30 bar de pressão aplicada à membrana com FRV=1.

ANEXO 2

Artigo publicado

COUTO, D. S.; DORNIER, M; PALLET, D.; REYNES, M.; DIJOUX, D.; FREITAS, S. P.; CABRAL, L. M. C.. *Evaluation of nanofiltration membranes for the retention of anthocyanins of açai (Euterpe oleracea Mart.) juice. Desalination and Water Treatment.* n° 27, pp. 108 – 113, 2011

Evaluation of nanofiltration membranes for the retention of anthocyanins of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice

Daniel Simões Couto^{a,*}, Manuel Dornier^b, Dominique Pallet^b, Max Reynes^b, Daniel Dijoux^b, Suely P. Freitas^c, Lourdes M.C. Cabral^d

^aFood Technology Department, Federal Rural University of Rio de Janeiro, BR 465, 23.890-000, Seropédica, RJ, Brazil
Tel. +55 21 2540-5153 / +55 21 8879-4695; email: daniel.altmentos@gmail.com

^bCentre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Avenue Agropolis, 34398, Montpellier, France

^cChemistry School, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^dEmbrapa Food Technology, Av. das Américas, 29501, 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Received 1 June 2010; Accepted 2 November 2010

ABSTRACT

The açai juice is an Amazonian product that has been exported to various countries around the world. Its main characteristic is the presence of antioxidant compounds especially anthocyanins. Nanofiltration is a membrane separation process that has the ability to separate compounds of low molar weight. Açai juice clarified by microfiltration was used as feed to evaluate nanofiltration membranes of different manufacturers regarding the permeate flux and the retention of anthocyanins. All the evaluated membranes were efficient in retaining the anthocyanins from the açai juice. NF 270 membrane, a composite membrane composed by a polyamide top layer and a polysulphone microporous support, presented the highest water permeability before and after the nanofiltration of açai juice. In addition, this membrane also presented the highest value of permeate flux in the nanofiltration process of açai juice as well as the anthocyanins retention above 99%. The effect of fouling for this membrane was approximately 28%. The observed results showed the potential of nanofiltration on the recovery of anthocyanins from açai fruit.

Keywords: Membrane separation; Microfiltration; Nanofiltration; Phenolic compounds; Açai pulp; Amazonian fruit

1. Introduction

Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) is an Amazonian palm and its fruit is traditionally consumed in Brazil but has gained popularity abroad as a food and functional ingredient. Brazil is the first producer, consumer and exporter of açai pulp in the world. Açai pulp is dark purple in color with a high concentration of phenolic compounds, including the anthocyanins. The juice is obtained by cold-pressing the fruit to remove the edible part of the

seed, which represents approximately 80% of the volume of the fruit [1].

Anthocyanins belong to the flavonoid family. They are water soluble compounds and natural pigments. They are widely distributed in nature, primarily observed in fruits and leaves. These pigments, together with the carotenoids, represent the largest class of colored substances in the plant kingdom [2]. Anthocyanins are the major phenolic compound in açai juice, being responsible for the color of the açai [3]. There are just two anthocyanins present in large quantities in this fruit, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside [4].

*Corresponding author.

Presented at the VII Ibero-American Conference on Membrane Science and Technology (CITEM 2010), April 11–14, 2010, Sintra, Portugal

The membrane separation processes have the ability to separate and concentrate compounds, which can therefore be added to products in the cosmetic, pharmaceutical and food industries as ingredients. Nanofiltration is a driven-pressure process that can be considered an intermediate technique between ultrafiltration and reverse osmosis and it can be applied to separate fine particles (up to 500 Da) [5].

One of the applications of nanofiltration in the food industry is the separation of bioactive compounds as anthocyanins that are present in fruit juices. The recovery of anthocyanins from aronia fruits by means of nanofiltration has been shown to be effective [6].

The major problem in the application of membrane processes is the permeate flux reduction caused by the concentration polarization phenomena, the formation of a gel layer on the top of membranes and fouling. Low transmembrane pressure and the use of high tangential velocities favor the minimization of the fouling effects. The fouling phenomena depend on the concentration of solutes in the region near the membrane surface, and these operating conditions minimize the reduction in permeate flux, allowing the permeate flux to stabilize faster and at higher fluxes when processed under higher pressure [7].

The use of combined techniques can help to reduce substances that favor fouling, thereby decreasing its effects. One technique that can be used to reduce the level of solutes in fruit juices is microfiltration, which has the ability to remove suspended matter and sterilize the processed product [7].

Selectivity, another important property of membranes, is related to the membrane's ability to retain specific solutes, which can be affected by the following factors: size and particle shape; material type; the configuration of the membrane; the concentration of substances retained; and the adsorption of solutes in the membrane. Apparent retention or rejection is a measure of selectivity by which it is assumed that the probability of a particle through the membrane is maximal when the rejection is 100% [7,8].

The aim of this study was to evaluate the retention of anthocyanins present in açai juice, previously clarified by microfiltration, using different commercial nanofiltration membranes and to determine the effects of fouling at these membranes.

2. Materials and methods

2.1. Raw material

Açai juice with 2.5% of solids was used as the raw material for this study. The juice was frozen at 18°C until its use.

2.2. Pretreatment of the juice

Açai juice was pre-filtered with a HAYWARD-LOEFFLER (South Iselin, USA) filter with 200 micrometer pore size. This filter was able to retain suspended solids and particles, resulting in a juice free from substances that could cause any damage to the microfiltration circulation pump.

2.3. Açai juice clarification

The previously filtered açai juice was clarified using a tangential microfiltration process with α -alumina tubular membranes of 0.2 μm average pore size and total permeation area of 0.022 m^2 . Microfiltration was carried out in a batch mode, at 2 bar transmembrane pressure and $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Before each assay, the hydraulic permeability of the membrane was determined in order to verify the cleanliness and integrity of the membranes. After each assay, the equipment was washed and cleaned with a 2.5% NaOH solution and 400 ppm of chlorine at an average temperature of 50°C. After use the NaOH solution, the equipment was rinsed with distilled water until pH 7 to neutralize the sodium hydroxide.

2.4. Nanofiltration membrane tests for anthocyanins retention

The clarified açai juice was used as feed for the nanofiltration process. Nanofiltration was carried out in a plate and frame module with total permeation area of 150 cm^2 from GE Osmonics, (Minnetonka, USA) as shown in Fig. 1. Six different membranes were evaluated (Table 1): NF270 (Dow/Filmtec), UTC 60 (Toray), MPF 36 (Koch membrane systems), DK and DL (both from GE Osmonics) and NP010 (Microdyn Nadir).

Before the processes, the membranes were conditioned with water for one hour at 35°C and 20 bar and the water permeability determined. Nanofiltration was carried out at 35°C at 10, 15, 20 and 30 bar transmembrane pressures. The volumetric reduction factor (VRF)

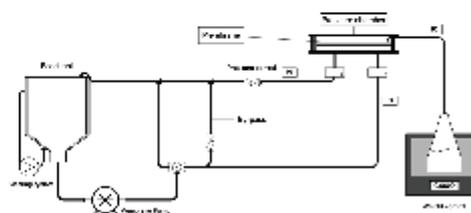


Fig. 1. Nanofiltration module GE Osmonics.

Table 1
Nanofiltration membranes utilized at the tests

Membrane	Manufacturer	Country	Membrane composition ¹	Nominal retention/cutoff ²
NF270	Dow/Filmtec	USA	Semi-aromatic piperazine-based polyamide layer on top of a polysulphone microporous support	99.0% MgSO ₄
UTC 60	Toray Industries Inc.	Switzerland	Aromatic polyamide	55% NaCl at 15 bar and 25°C
MPF 36	Koch Membrane Systems Inc.	USA	Not declared	~1000 Da
DK	GE	USA	Thin film	98% MgSO ₄ at 25°C
DL	GE	USA	Thin film	96% MgSO ₄ at 25°C
NP010	Microdyn Nadir	Germany	Polietersulfone	~1000 Da

¹Specifications obtained from the manufacturers.

was maintained equal to 1, by recirculating both the retentate and permeate streams to the feed tank.

The VRF was calculated by using the Eq. (1):

$$\text{VRF} = \frac{V_i}{V_i - V_r} \quad (1)$$

where V_i is the feed volume and V_r is the retentate volume.

For each process, approximately three liters of juice were used in a batch mode process. After each ten minute process, the permeate flux was determined in triplicate. A repeatability test (three assays) was conducted on the membrane that showed the highest permeate flux and the highest retention of anthocyanins. Samples of permeate were collected after the application of each pressure range to analyze the anthocyanins by the pH differential method and were expressed as cyanidin-3-glucoside to check for the permeation of this compound through the membrane. Eq. (2) was used to calculate the retention of the membrane to this compound:

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \times 100 \quad (2)$$

where C_p represents the concentration of the compound at the permeate and C_f represents the concentration of the compound at the feed.

After this process, the material in the system was collected and the equipment was rinsed to remove the remaining product. The water permeability was then evaluated to determinate the flux decline and to determine how the açai juice functioned to reduce the efficiency of the membranes. Eq. (3) was used to determine this reduction in efficiency:

$$F(\%) = \frac{\text{PWF}_b - \text{PWF}_a}{\text{PWF}_b} \times 100 \quad (3)$$

where PWF_b represents the flux of water before processing and PWF_a represents the flux of pure water after processing. After each test, the membrane used in the test was discarded.

2.5. Analysis

Measurements of pH were performed in an automatic titrator, Metrohm® model 785 DMP-Titrino, after instrument calibration with buffers with a pH of 4.00 and 7.00. The total acidity was determined using an automatic titrator, Metrohm® model 785 DMP-Titrino, with sodium hydroxide reagent factored with sodium biphthalate. Values are expressed as mg of malic acid per 100 g of sample. The total solids were measured gravimetrically by determining the dry weight in the vacuum oven. The soluble solid content was determined using a Bellingham + Stanley Limited model hand refractometer with a correction for temperature (20°C), and was expressed in °Brix. All the analysis described above followed the A.O.A.C methods [9].

The spectrophotometric quantification of phenolic compounds was performed according to the methodology of Singleton and Rossi [10], using Gallic acid as a standard. For the color reaction, it was used the Folin-Ciocalteu reagent at 10% and sodium carbonate at 7.5%. The result was expressed as mg of Gallic acid equivalents per 100 g of sample.

The content of monomeric anthocyanins was determined using a spectrofluorimeter Tecan Infinite 200, and measurements were performed with a microplate spectrofluorimeter (Infinite® 200, Tecan France SAS, Lyon, France) using 96-well polypropylene plates through the pH differential method described by Giusti and Wrolstad [11]. This method dissolves the sample in two buffer systems: potassium chloride/hydrochloric acid (pH 1.0) and sodium acetate (pH 4.5). The sample after extraction

is diluted and the absorbance is read in the range of 510 nm and 700 nm. The concentration is calculated from Eq. (4):

$$C \text{ (mg/100g)} = \frac{A \times Mw \times DF \times 10^2}{\epsilon \times L} \quad (3)$$

where C is the concentration of anthocyanins expressed as equivalent of cyanidin-3-glucoside per 100 g of sample; $A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})pH_{1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})pH_{1.2}$; Mw (molecular weight) = 449.2 g/mol for cyanidin-3-glucoside; DF (dilution factor) = 10 to 50; ϵ (molar extinction coefficient) = 26 900 l/mol/cm²; l (pathlength) = 0.52 cm (calculated for the specific well geometry with 200 μ l of solution).

The analysis results were evaluated by analysis of variance (ANOVA), Tukey test and the statistical software XLSTAT 7.5.

3. Results and discussion

After carrying out two microfiltration tests, was observed an average initial permeate flux of 169 l/hm² and a final average permeate flux of 95 l/hm² (Fig. 2). The average permeate flux between both tests was 117 l/hm² with a total processing time of five hours yielding a VRF equal to 8.5. During the initial stages of the process there is a slight decrease in permeate flux and this behaviour continue until the end of tests. This behaviour is due to concentration polarization phenomena that occurs by a deposit of particules on the membrane surface that difficult the passage of product and fouling that can obstruct the pores of the membrane reducing the permeation area.

The microfiltration of açai juice resulted in two fractions, retentate and clarified juice, both presenting anthocyanin concentration close to that of the feed content. The content of anthocyanin in the retentate and in

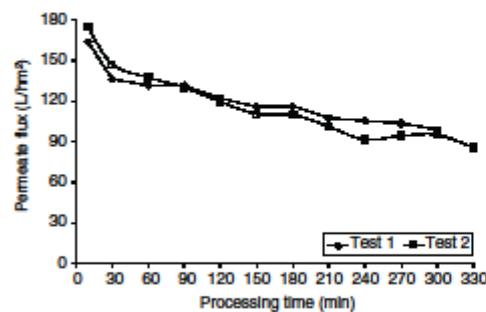


Fig. 2. Evolution of permeate flux during two microfiltration processes of açai juice (duplicate).

the permeate fractions were 85.3 and 61.8 mg/100 g, respectively, representing 124% and 90% of the concentration of anthocyanin in the feed.

There were no significant differences between the filtered juice and the permeate of microfiltration regarding anthocyanins and phenolic content, dry matter and acidity. Anthocyanins are 60% of the total phenolic compounds present in açai samples evaluated. The reduction of phenolic and anthocyanins content in the clarified juice compared to the single strength juice can be explained by the retention of fibers and suspended particles, retained by the membrane, as indicated by the reduction in the dry matter content.

The hydraulic permeability of nanofiltration membranes was determined before and after the experiments with açai juice (Fig. 3). It was found that the permeate flux increased linearly with transmembrane pressure. Each membrane presented different permeate flux values in the range of transmembrane pressures applied. The NF270 membrane had the highest flux in all the pressure range, with a maximum flux at 30 bar, 30% higher than the permeate flux of the membrane NP010, the second highest permeate flux. The membrane MPF 36 exhibited the lowest value of water permeability.

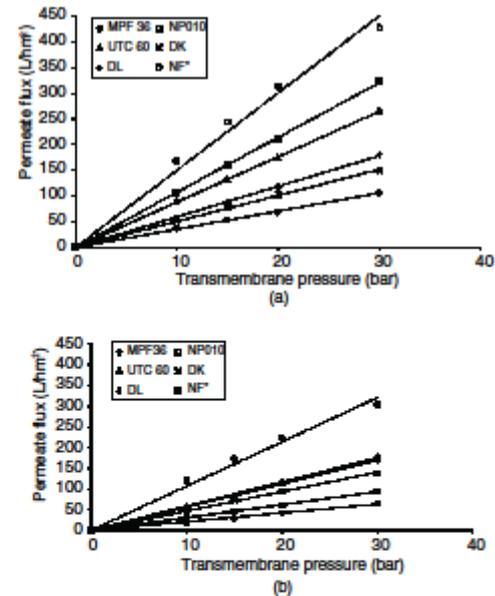


Fig. 3. Hydraulic permeability of nanofiltration membranes before (a) and after (b) tests with açai juice (*Means of three assays).

Table 2
Characterization of açai quality along the clarification process

Parameter	Açai juice	Filtered açai juice	Clarified açai juice	Açai juice retentate
pH	3.9 ± 0.04	4 ± 0.13	3.9 ± 0.01	3.9 ± 0.04
Acidity (g/100 g) ¹	0.30 ^a ± 0	0.28 ^c ± 0	0.28 ^c ± 0.01	0.33 ^b ± 0.01
Soluble solids (°Brix)	2.4 ^b ± 0.05	1.9 ^c ± 0.05	1.6 ^d ± 0.05	2.8 ^a ± 0.05
Dry matter (g/100 g)	2.5 ^b ± 0.13	2.0 ^c ± 0.02	1.8 ^c ± 0.05	3.0 ^a ± 0.21
Total phenolic (mg/100 g) ²	138.8 ^a ± 4.5	111.5 ^b ± 2.37	104 ^b ± 4.17	140.4 ^a ± 12.05
Anthocyanin content (mg/100 g) ³	83.9 ^a ± 9.33	68.7 ^b ± 2.42	61.8 ^b ± 3.09	85.3 ^a ± 12.94

¹expressed in malice acid; ²expressed in Gallic acid equivalent; ³expressed in cyanidin-3-glucoside equivalent. Identical letters in the same line do not differ significantly ($p > 0.05$) among themselves.

The behavior of the membrane with water, however, was unrelated to the membrane behavior observed when complex solutions with different solutes and macromolecules were present. The permeate flux with a real solution made up less than 5% of the flux with pure water. Nevertheless, the hydraulic permeability is the benchmark of integrity and efficiency of the cleaning process of a membrane, ensuring the reproducibility of results [8].

In the evaluation of water permeability after nanofiltration tests, the membrane NF 270 exhibited highest permeate fluxes, including values of 121 l/hm² at 10 bar, 173 l/hm² at 15 bar, 222 l/hm² at 20 bar and 303 l/hm² at 30 bar. Membrane MPF 36 showed the lowest values of permeates flux for both water before and after the trial with açai juice.

The tests performed with açai juice in VRF = 1 showed that the NF270 membrane again exhibited the highest flux in all pressure ranges applied. This behavior was similar to that presented in the tests with pure water. The values of permeate flux were 67 l/hm² at 10 bar, 84 l/hm² at 15 bar, 93 l/hm² at 20 bar and 102 l/hm² at 30 bar (Fig. 4). The membrane MPF 36 exhibited the

lowest permeability, with values of 8.9 l/hm² at 10 bar, 12 l/hm² at 15 bar, 17 l/hm² at 20 bar, 27 l/hm² at 30 bar.

The membranes MPF 36, NP 010 and UTC 60 exhibited a linear increase in the permeate flux for the açai juice with an increasing transmembrane pressure, whereas the membranes DK, DL and NF 270 exhibited a trend toward stabilization of permeate flux with increasing pressure and may reach limit flux. However, this phenomenon was not confirmed due to a restriction on the equipment that did not allow the transmembrane pressure to be increased above 30 bar.

Samples were taken from the permeate streams for each evaluated transmembrane pressure in order to investigate the possible permeation of anthocyanins (Table 3). The analysis showed that the membrane NP 010 was the only one to allow the permeation through the membrane of a measurable quantity of anthocyanins. The value of 1.78 mg/100 g of juice at 10 bar can be considered low, although the membrane should avoid the permeation of any amount of anthocyanins compounds.

Note that by increasing the transmembrane pressure the retention coefficient of anthocyanins increases. This can be explained by the adsorption of the solute in the membrane. When adsorption occur inside the pores,

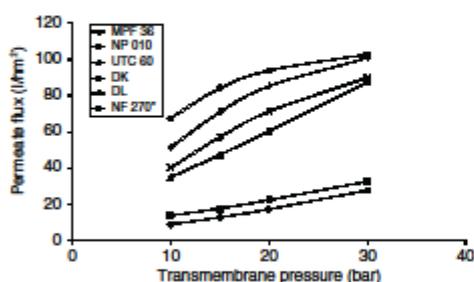


Fig. 4. Nanofiltration membrane behaviour in relationship of açai juice permeate flux (VRF = 1) using different transmembrane pressures (*Means of three assays).

Table 3
Anthocyanins retention coefficient of the 6 evaluated membranes

Membranes	ΔP (bar)	Retention coefficient (%)
MPF36	10–30	>0.99
UTC60	10–30	>0.99
DK	10–30	>0.99
DL	10–30	>0.99
NF270	10–30	>0.99
NP010	10	–0.97
	15	–0.97
	20	–0.98
	30	>0.99

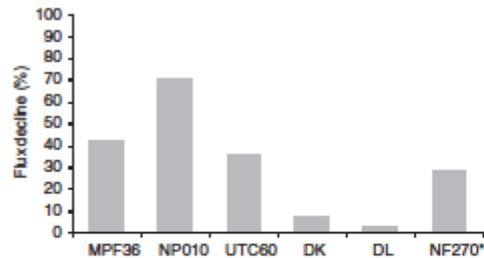


Fig. 5. Nanofiltration membranes flux decline (*Means of three assays).

there are more severe changes for the permeate flux and to the ability of the membrane selectivity. Consequently, the adsorption of molecules on the pore wall decreases the number of effective pores, which causes a drop of the permeate flux and an increase in the rejection by the membrane. The adsorption phenomenon depends crucially on the interactions between the solute in the solution being treated and the membrane material [7].

After evaluating the reduction of permeate flux, it was observed a clear decrease in the permeate flux of all membranes tested (Fig. 5). For NF 270, the reduction values were 27%, 29%, 28% and 29% at transmembrane pressure of 10, 15, 20 and 30 bar respectively, with an average of 28.6%.

The membrane NP 010 exhibited the highest decline in the flux, a reduction of 70%, 70%, 71% and 70% at transmembrane pressure of 10, 15, 20 and 30 bar respectively, with an average reduction of 70.9%. DK and DL membranes had values 10% below in comparison to the decline of permeate flux, averaging 7.4% and 3.5%, respectively. The DL membrane that exhibited intermediate values of permeates flux for pure water before and after tests with açai juice was the membrane that exhibited the lowest decline of permeates flux.

4. Conclusions

This study suggests that by coupling microfiltration and nanofiltration it is possible to retain the anthocyanins

present in açai juice. Microfiltration had retained only 10% of the total anthocyanins of the açai juice, indicating that this process does not severely affect the concentration of these compounds in the clarified juice. Regarding the nanofiltration, five between the six evaluated membranes showed the ability to concentrate de bioactive compounds of açai.

Acknowledgement

The authors thank Bolthouse for the açai juice utilized at tests, INCO project PAVUC for the financial support and CAPES for the scholarship.

References

- [1] H. Rogez. Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da conservação, EDUFPA, (2000) 288.
- [2] J.F. Gonnet. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited. 1: A colorimetric definition using the CIELAB scale. *Food Chem.*, 63 (1998) 409–415.
- [3] R. Brouillard. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) *Anthocyanins as food colors*. New York, New York: Academic Press, (1982) 181.
- [4] L.A. Pacheco-Palencia, C.E. Duncan and S.T. Talcott. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chem.*, 115 (2009) 1199–1205.
- [5] L. Comb. Using nanofiltration in beverage production. *Beverage Industry* 3 (1991).
- [6] B. Gilewicz-ukasik, S. Koter and J. Kurzawa. Concentration of anthocyanins by the membrane filtration. *Sep. Purif. Technol.*, 57 (2007) 418–424.
- [7] M. Mulder. *Basic principles of membrane technology*. [s.l.]: Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers (1996) 564.
- [8] M. Cheryan. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. Lancaster: Technomic, (1998) 527.
- [9] AOAC. *American Official of Analytical Chemists. Official of Analysis of AOAC International*. 17. ed., Washington, (1997).
- [10] V.L. Singleton and J.A. Rossi. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 16 (1965) 144–168.
- [11] M.M. Giusti and R.E. Wrolstad. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In WROLSTAD, R. E. (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: Wiley, (2001).
- [12] N. Muñiz-Mire, R. Vamos, M. Hiraoka, F. Montagnini and R. Mendelsohn. The economic value of managing the Açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in floodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. *Forest Ecol. Manag.*, 87 (1996) 163–173.