

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**CLARIFICAÇÃO DO SUCO DE ACEROLA POR PROCESSO COM  
MEMBRANA**

Larissa Maria Fernandes

Eng Química, UEM, 1996

Orientador: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup> Elisabete Scolin Mendes

Co-Orientador: Prof Dr Sílvio Cláudio da Costa

Dissertação de Mestrado  
submetida à Universidade  
Estadual de Maringá, como parte  
dos requisitos necessários à  
obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química, área de  
Desenvolvimento de Processos.

Maringá – PR – Brasil

20 de Agosto de 1999

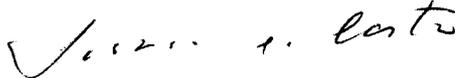
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Larissa Maria Fernandes perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 20 de Agosto de 1999.

COMISSÃO JULGADORA

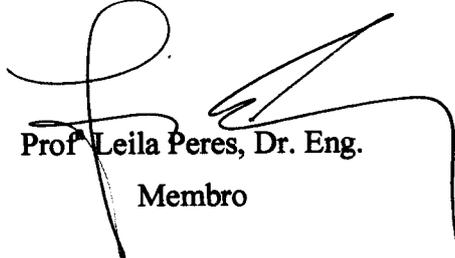
  
Prof<sup>a</sup> Elisabete Scolin Mendes, Dr. Eng.

Orientadora

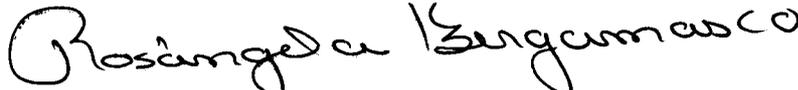


Prof Sílvio Cláudio da Costa, D. Sc.

Co-Orientador

  
Prof<sup>a</sup> Leila Peres, Dr. Eng.

Membro



Prof<sup>a</sup> Rosângela Bergamasco, Dr. Eng.

Membro

FERNANDES, LARISSA MARIA

Clarificação de Suco de Acerola por Processo com Membranas [Paraná] 1999.

XXV, 104 p. 29,7 cm (PEQ/UEM, M.Sc., Engenharia Química, 1999).

Dissertação – Universidade Estadual de Maringá-PEQ

- 1 – Acerola
- 2 – Membrana
- 3 – Clarificação

I. PEQ/UEM II. Título (série)

Não são as perdas,  
Nem as caídas que podem fazer fracassar a nossa vida,  
Senão a falta de coragem para  
Levantarmos e seguirmos adiante.  
*(Samael Aun Weor)*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao meu PAI DIVINO que me concedeu toda a Graça e Paz .

À minha mãe pela paciência, dedicação, amor, compreensão e principalmente pelo zelo que me tem dado em todos os dias da minha existência.

À professora Elisabete Scolin Mendes, pela orientação deste trabalho e pelo carinho que superou todo e qualquer relacionamento acadêmico.

Ao professor Sílvio Cláudio da Costa, por todo o apoio no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Engenharia Química e especialmente ao Professor Petrus da UFSC, ao Professor Drioli, à Professora Hilary da FEA.

Ao Departamento de Bioquímica pelo apoio e amizade, principalmente ao Professor Sérgio Paulo, ao engenheiro Hiroshi, ao químico Sérgio aos técnicos Nunes, Cícero, Osvaldo, à auxiliar de laboratório Donana, que me trataram com tamanho carinho e alegria e colaboraram para o bom andamento experimental desta dissertação.

Aos engenheiros do departamento de engenharia química Lauro, Valmir e Luiza, João Damasceno pelo apoio técnico.

Aos analistas de sistemas Sueleni e Claudemir, pelo apoio técnico e disponibilidade de atender meus pedidos de socorro.

Aos profissionais Edival, Edilma e Marilza, que indiretamente contribuíram para a conclusão de mais uma etapa da minha vida profissional.

Aos meus amigos, que são e serão de extrema importância e tem grande responsabilidade pela realização deste trabalho, Dri, o Lê, An, Clara, Jú, Ellen, Élidinha, Ernandes, Fla, Jô, Paulinho, Roni, Ronald, Silvânia, Ti, Rafa, Fa e Mel, Telminha.

E um agradecimento especialíssimo a Criaturas que Deus me presenteou pela amizade e dedicação, Ana, a Lê, Hare, Kala, Arthur e Piotr.

À CAPES pela concessão da bolsa que foi de suma importância para a realização desta pesquisa.

Ao CNPq e ao PADCT-II pelo apoio financeiro.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e me aguentaram quando virava um monstrinho!

**A todos o meu muito obrigado**

# **CLARIFICAÇÃO DO SUCO DE ACEROLA POR PROCESSO COM MEMBRANAS**

**AUTOR: LARISSA MARIA FERNANDES**

**ORIENTADOR: ELISABETE SCOLIN MENDES**

**CO-ORIENTADOR: SÍLVIO CLÁUDIO DA COSTA**

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46 – 09; CEP: 87020-900-Maringá – PR, Brasil, defendida em 20 de agosto de 1999.

## **RESUMO**

Na ultrafiltração a solução pressurizada flui sobre uma membrana porosa seletiva, permeável ao solvente e solutos de massas moleculares inferiores aos da massa molecular médio de corte da membrana, mas impermeável a moléculas grandes. Permite o processamento simultâneo de fracionamento, concentração e purificação de soluções com diferentes componentes.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a clarificação do suco natural de acerola pelo processo de ultrafiltração, utilizando uma membrana em espiral de celulose regenerada de 30K daltons , num módulo de fluxo tangencial.

Para confirmar que a pectina presente no suco de acerola provoca o entupimento da membrana pela formação de um gel na sua superfície, a ultrafiltração foi realizada com o suco não tratado e submetido a um tratamento enzimático, procurando-se verificar a dependência do fluxo de filtrado com a pressão de operação. Os resultados obtidos confirmam que o aumento na pressão aumenta a fluxo de filtrado e que o tratamento

enzimático também colaborou para este aumento, reduzindo a obstrução na superfície da membrana.

Com o intuito de se verificar o efeito do tratamento enzimático e da variação de pressão de operação nas propriedades físico-químicas e reológicas do suco, foram realizadas análises na alimentação, retido e filtrado verificando-se que estes parâmetros físico-químicos não foram afetados pela enzima.

# **CLARIFICATION OF THE ACEROLA JUICE FOR MEMBRANE PROCESS**

**AUTHOR: LARISSA MARIA FERNANDES**

**SUPERVISOR: ELISABETE SCOLIN MENDES**

**CO-SUPERVISOR: SÍLVIO CLÁUDIO DA COSTA**

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46-09; ZIP CODE: 87020-900-Maringá-PR, Brazil, presented on August 20, 1999.

## **ABSTRACT**

In ultrafiltration the pressurized solution flows on a selective porous membrane, permeable to the solvent and to solutes of relatively low molecular weights, but impermeable to big molecules. It allows the simultaneous processing of division, concentration and purification of solutions with different components.

The objective of the present work was the study of clarification of natural acerola juice by ultrafiltration process, using a 30K daltons regenerate cellulose spiral membrane, in the cross-flow module.

To confirm that the pectine present in acerola juice causes the blockage of the membrane by forming a get at the surface, was carried out with the acerola enzyme-treated juice and the juice without treatment, observing the influence of the operation pressure on the filtrate flow rate. The results confirm that na increase in the pressure increases the filtrate flow rate and that the enzymatic treatment contributed to this increase, reducing the obstruction at he membrane surface.

To verify the effect of the enzymatic treatment and the pressure variation on the reologic and physico-chemical properties of the juice, these properties were evaluated in the feed, retentate and filtrate. However, they were not affected by the enzyme.

## ÍNDICE

<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1 – <i>Origem, Dispersão e Importância Econômica da Acerola.....</i>	3
2.2 – <i>Composição da Acerola.....</i>	7
<b><u>2.2.1 – Ácido Ascórbico (Vitamina C) .....</u></b>	<b>10</b>
2.3 - <i>Composição do Suco de Acerola.....</i>	13
<b><u>2.3.1 – Pectina .....</u></b>	<b>14</b>
2.4 – <i>Clarificação de Sucos de Frutas.....</i>	16
<b><u>2.4.1 – Ultrafiltração.....</u></b>	<b>17</b>
<b>3- MATERIAIS E MÉTODO.....</b>	<b>32</b>
3.1 - <i>Origem, Conservação da Fruta e Preparação da Amostra.....</i>	32
3.2 – <i>Análises realizadas nas amostras.....</i>	32
<b><u>3.2.1 – pH.....</u></b>	<b>33</b>
<b><u>3.2.2 – Acidez Total Titulável .....</u></b>	<b>33</b>
<b><u>3.3.3 – Brix .....</u></b>	<b>33</b>
<b><u>3.3.4 – Brix/Acidez .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.5 – Açúcares Redutores (Método de Feling) .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.6 – Açúcares Não- Redutores (Método de Feling) .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.7 – Açúcares Totais (Método de Feling) .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.8 – Fibras .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.9 - Ácido Ascórbico .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.10 - Ácido Ascórbico .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.11 – Polpa Supensa .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.12 – Sólido Totais .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.13 – Massa Específica .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.14 – Gordura .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.15 – Pectina (Pectato de Cálcio) .....</u></b>	<b>34</b>
<b><u>3.3.16 – Carboidrato Total .....</u></b>	<b>34</b>

<b><u>3.3.17 – Pectina</u></b> .....	34
<b><u>3.3.18 – Glucose</u></b> .....	34
<b><u>3.3.19 – Frutose</u></b> .....	34
<b><u>3.3.20 – Viscosidade</u></b> .....	35
<b><u>3.3.21 – Cor</u></b> .....	35
<b><u>3.3.22 – Turbidez</u></b> .....	35
<b><u>3.3.23 – Rotação Óptica</u></b> .....	35
<b><u>3.3.24 – Viscosidade Intrínseca</u></b> .....	35
<b><u>3.3.25 – Vazão</u></b> .....	35
<i>3.3- Equipamento de Ultrafiltração</i> .....	35
<b><u>3.3.1 – Membrana</u></b> .....	36
<b><u>3.3.2 – Metodologia experimental de cada teste</u></b> .....	37
<i>3.4 - Procedimento Experimental</i> .....	35
<b>4- RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<i>4.1- Caracterização reológica e físico-química do suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático</i> .....	38
<b><u>4.1.1- Comparação dos resultados obtidos nas análises físico-químicas do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático com os da literatura</u></b> .....	39
<b><u>4.1.2- Comparação entre os resultados obtidos nas análises reológicas e físico-químicas para o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático e com tratamento enzimático</u></b> .....	40
<i>4.2 – Resultados obtidos com o suco padronizado sem e com tratamento enzimático na ultrafiltração</i> .....	41
<b><u>4.2.1 – Comparação do comportamento do fluxo de filtrado com o tempo para o suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático nas pressões de 25, 50 e 75 psi</u></b> .....	41
<b><u>4.2.2- Comparação entre as propriedades reológicas e físico-químicas do suco de acerola padronizado sem e com tratamento com os retentados e filtrados nas diversas pressões de operação</u></b> .....	45
<i>4.3- Determinação da massa molar da pectina através da viscosidade</i>	48

<i>intrínseca</i> .....	
4.4- <i>Avaliação do processo de limpeza realizado na membrana</i> .....	51
<b>5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES</b> .....	53
<b>6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	55
<b>7-ANEXOS</b> .....	70
7.1 Anexo I- <i>Gráficos de vazão</i> .....	70
7.2 Anexo II- <i>Métodos analíticos</i> .....	72

## *ÍNDICE DE FIGURAS*

Figura 2.1: Acerolas.....	3
Figura 2.2: Esquema da transformação química do L-Ácido Ascórbico.....	12
Figura 2.3 : Fluxograma operacional da extração do suco de acerola.....	16
Figura 2.4: Esquema da separação com membranas.....	20
Figura 2.5: Esquema ilustrativo dos diferentes mecanismos de transferência de massa em membranas sintéticas.....	21
Figura 2.6: Esquema da membrana em espiral.....	24
Figura 2.7:Esquema de clarificação e concentração de suco de frutas.....	27
Figura 2.8: Diagrama esquemático da clarificação de suco de maçã por: (a) processo convencional , (b) ultrafiltração.....	30
Figura 3.1: Esquema do módulo PROLAB-SYSTEM.....	36
Figura 4.1: Comportamento da vazão de filtrado com o tempo para o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático nas pressões de 25, 50 e 75 psi	42
Figura 4.2: Comportamento da vazão de filtrado com o tempo para o suco de acerola padronizado com tratamento enzimático nas pressões de 25, 50 e 75 psi	44
Figura 4.3: Determinação da viscosidade intrínseca para a pectina obtida a partir do suco de acerola padronizado com 2% de polpa.....	50
Figura 7.1: Comportamento da vazão com o tempo no suco de acerola natural.....	70
Figura 7.2: Comportamento da vazão com o tempo de ultrafiltração no suco de acerola natural e tratado com pectinase a 25 Psi.....	70
Figura 7.3: Comportamento da vazão com o tempo de ultrafiltração no suco de acerola tratado com pectinase.....	71

## *ÍNDICE DE TABELAS*

Tabela 2.1 : Teor de Ácido Ascórbico em frutas.....	5
Tabela 2.2 : Conteúdo de vitamina C em polpa de acerola, oriundas de diferentes localizações geográficas.....	6
Tabela 2.3 : Composição de acerola por 100g de porção comestível.....	7
Tabela 2.4: Características de acerolas em diferentes estágios de maturação.....	8
Tabela 2.5: Características de algumas variedades estudadas de acerola.....	9
Tabela 2.6: Variações na quantidade de vitamina C em acerola (variedade B-17) colhidas em diferentes épocas.....	10
Tabela 2.7: Propriedades físicas do ácido L-Ascórbico.....	11
Tabela 2.8: Distribuição do ácido dehidroascórbico (DHA), ácido dicetogulônico (DKA) e ácido ascórbico (AA) em frutas frescas(FF) e congeladas(FC) de acerola em diferentes estágios de desenvolvimento.....	13
Tabela 2.9 : Característica do suco de acerola em várias variedades de acerola.....	13
Tabela 2.10: Características Físico-Químicas do Suco Integral de Acerola.....	14
Tabela 2.11: Processos de separação com membranas.....	17
Tabela 2.12 : Aplicações de Processos de Separação com Membranas.....	19
Tabela 2.13: Comparação entre os módulos de geometria plana.....	22
Tabela 2.14: Composição do suco de abacaxi simples, clarificado e concentrado por microfiltração.....	26
Tabela 2.15: Diferenças de fluxo a diferentes temperaturas com suco despectinizado e não-despectinizado ( $L/m^2/h$ ).....	29
Tabela 2.16: Composição inicial de suco despectinizado de maçã e de sucos clarificados por ultrafiltração.....	29
Tabela 3.1: Características da membrana.....	36
Tabela 4.1: Caracterização do suco de acerola padronizado com 2% de polpa.....	38
Tabela 4.2: Parâmetros reológicos e físico-químicos do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático e de seus retentados e	46

filtrados nas respectivas pressões.....	
Tabela 4.3: Parâmetros reológicos e físico-químicos do suco de acerola padronizado com tratamento enzimático e de seus retentados e filtrados nas respectivas pressões.....	47
Tabela 4.4: Rendimento de pectina obtida por extração alcóolica do suco de acerola.....	49
Tabela 4.5: Análise da pectina obtida do suco de acerola.....	49
Tabela 4.6: Fluxos de água filtrada na membrana de ultrafiltração.....	51

## ***1 - INTRODUÇÃO***

Há muito tempo o Brasil se destaca como um grande produtor de frutas em nível mundial. Sua privilegiada extensão territorial unida a ótimas condições climáticas e hídricas só vem reforçar a importância dessa nossa produção no cenário internacional.

A acerola ou cereja-das-Antilhas (*Malpighia puniceifolia* L.) é uma pequena fruta avermelhada originária da região das Antilhas, norte da América do Sul e América Central.

No Brasil, foi introduzida na década de 50, proveniente de Porto Rico.

A acerola pode ser considerada a planta da década de 90, visto seu elevado teor de vitamina C, o que motivou o estudo de suas características e benefícios conferidos aos seres humanos quando do seu consumo, por diferentes pesquisadores em diversas partes do mundo, entre outros ASENJO (1947), CLEIN (1956), FRANÇA (1998).

Esta fruta disputa a faixa mercadológica daqueles que preferem produtos naturais, pois sabe-se que apenas 50% da vitamina sintética é consumida pelo organismo humano. Ao se tratar da vitamina natural, esta taxa aumenta para 100% de absorção. Devido à natureza perecível do fruto, o mercado se interessa basicamente pela sua polpa e suco, podendo ser utilizada na fabricação de geléia, xarope, néctar, bala, licor, sorvete, compota, cápsula de vitamina C, produto liofilizado e para enriquecimento de outros sucos de frutas com vitamina C.

A indústria química é, fundamentalmente, uma indústria de transformação e para se chegar aos produtos finais, com as especificações desejadas, é necessário separar, concentrar e purificar as espécies químicas presentes nas diferentes correntes resultantes dessas transformações. Este, sem dúvida, tem sido um dos maiores desafios da indústria química desde os primórdios.

A partir do início da década de 70, em adição aos processos clássicos de separação como destilação, filtração, absorção, troca iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização e outros, surge uma nova classe de processos que utilizam membranas como barreira seletiva.

Os processos que utilizam membranas oferecem vantagens tais como: evitam separações com agentes químicos e mudança de fase, operam em baixa temperatura, têm alta eficiência energética, operam em sistema fechado, apresentam facilidade de “scale up” e são de simples operação.

O uso de membranas tem proporcionado aos cientistas isolar, purificar e fracionar substâncias de misturas complexas com base no tamanho molecular dos componentes da

mistura. Os processos mais comuns são: Osmose Inversa, Ultrafiltração, Microfiltração, Diálise e Eletrodialise. Estes processos vão de encontro a constante preocupação com o problema energético, à busca de produtos alimentícios de melhor qualidade e a valorização de seus subprodutos.

Na escolha de um destes processos, isolados ou em conjunto, devem sempre ser consideradas as características da solução a ser processada e do produto final desejado, sua sensibilidade térmica e comparação com os processos convencionais de separação. Deve-se ainda privilegiar os aspectos econômicos e de qualidade segundo MEINDERSMA e KUCZYNSKI, (1996) citado por MATSUURA (1994).

Na ultrafiltração a solução pressurizada flui sobre uma membrana porosa seletiva, permeável ao solvente e solutos de pesos moleculares relativamente baixos, mas impermeável a moléculas grandes. Permite o processamento simultâneo de fracionamento, concentração e purificação de soluções com diferentes componentes.

Segundo BLANCK (1986) citado por QUITEROS (1995), a ultrafiltração foi introduzida com sucesso na clarificação e refinamento de sucos. Esta tecnologia apresenta um custo efetivo menor quando comparado com o processo de clarificação tradicional, pois entre outros fatores, reduz o consumo de agentes clarificantes e agiliza o tempo de processo. A clarificação de sucos de frutas, como o de maçã, uva, limão, laranja e acerola permite a retirada total de polissacarídeos, parte das enzimas e outros materiais colóidais que provocam a turbidez e levam à formação de gel quando são concentrados a valores próximos a 80<sup>o</sup>Brix.

Na literatura, o número de informações sobre o comportamento destas soluções contendo polissacarídeos, que são processadas por tecnologia de membrana, e em particular a clarificação de suco de acerola, é bastante reduzido, constituindo-se em vasto campo a ser pesquisado.

O objetivo do presente trabalho foi o estudo da clarificação do suco natural de acerola pelo processo de ultrafiltração, utilizando uma membrana em espiral de celulose regenerada de peso molecular médio de corte 30KD. Foram avaliadas as mudanças nas propriedades físico - químicas e reológicas do suco neste processo. Investigada ainda, a influência neste processo, mais especificamente no fluxo de filtrado e nas propriedades do suco de acerola, tratando-o com a enzima pectinase.

## 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 – Origem, Dispersão e Importância Econômica da Acerola

A origem exata da acerola, *Malpighia puniceifolia* L., inicialmente gerou dúvidas. Sabe-se que antes da descoberta da América, os índios a utilizavam na alimentação e se encarregaram de disseminá-la, de ilha em ilha durante suas viagens. A dispersão dessa espécie também foi feita por pássaros migrantes e outros animais. Segundo COUCEIRO (1985), a região de origem compreende: as Antilhas, norte da América do Sul e América Central. A atraente coloração dos frutos, a grande difusão na alimentação dos nativos das Antilhas e a semelhança com a cereja européia (*Cerasus prunus vulgaris*), chamaram a atenção dos primeiros europeus que tomaram contato com a nova terra (COUCEIRO, 1985; MARINO NETTO, 1986).

A fruta de *Malpighia puniceifolia* L., foi inicialmente chamada de acerola e/ou cereja. O nome acerola foi dado, provavelmente, devido a semelhança no tamanho, cor e forma com um fruto originário da Espanha de nome *Crataegus azaroles* L., por exploradores espanhóis em Porto Rico. Da mesma forma, o nome cereja, foi dado por se parecer com a cereja européia segundo LEDIN (1958). Essa fruta apresenta diversos nomes de acordo com o idioma do país, como por exemplo: West Indian Cherry, Barbados Cherry, Jamaica Cherry ou Puerto Rican Cherry nos Estados Unidos; Cereza na Colômbia, Equador e Peru; Semeruco na Venezuela; Cereja-das-Antilhas ou Acerola no Brasil (ASENJO, 1959; MARINO NETTO, 1986).



**Figura 2.1: Acerolas**

Em 1903 a acerola foi introduzida na Flórida, vinda de Cuba, e a seguir em outros países do continente americano (SIMÃO, 1971). No Brasil, foi introduzida no Estado de Pernambuco no ano de 1955, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, procedente de Porto Rico.

Segundo ARAUJO e MINAKI (1994), o Brasil é o maior produtor e consumidor de acerola no mundo, registrando um índice ascendente de consumo no mercado interno, principalmente na região sudeste. BENSIMOM (1991), afirma ser o Brasil o principal país na exportação mundial desta fruta principalmente para o mercado japonês.

Com a implantação de unidades despolpadoras, esta cultura se constitui hoje, em vários estados brasileiros, uma importante alternativa de renda ao pequeno e médio produtor, segundo CASADO (1994).

De acordo com PUPIM (1995) a plantação de acerola na região de Maringá, estado do Paraná, embora pequena vem recebendo incentivo de empresários, universidades e institutos de pesquisas. Este incentivo tem servido de base para implantação de pequenas indústrias de sucos, geléias e balas, dentre outros (VISENTAINER et al., 1997).

O setor agroindustrial é o grande incentivador do plantio de acerola no País e tem buscado a verticalização da produção (plantio, colheita, processamento industrial e comercialização), como uma maneira de controlar a qualidade da fruta, segundo VIGLIO (1993).

Segundo LEDIN (1958), FITTING e MILLER (1958), ASENJO (1980), ALVES (1992) e ARAUJO e MINAKI (1994) a acerola é uma fruta perecível que requer manuseio delicado e poucos dias de estocagem e transporte. A única maneira de ser utilizada com eficiência é o seu consumo “in natura” nos locais de produção ou como subprodutos industriais. Apresenta grande aplicação na fabricação de geléia, suco, xarope, néctar, bala, licor, sorvete, compota, conserva, cápsula de vitamina C, produto liofilizado e no enriquecimento de outros sucos de fruta com vitamina C.

A aceroleira adquiriu importância em nível mundial principalmente devido ao alto conteúdo de vitamina C encontrado em seus frutos, comparável apenas ao do camu-camu, fruto nativo da Amazônia. É considerada uma das maiores fontes naturais de vitamina C, sendo que esses valores são 50 a 100 vezes maiores que os encontrados em frutos cítricos (laranja, limão, tangerina), tradicionalmente considerados como fontes de vitamina C segundo ALVES (1992). Constam na **tabela 2.1** os teores de ácido ascórbico, em miligramas (mg) por 100 gramas de polpa de algumas frutas, de acordo com os dados

colhidos do “Bureau of Humam Nutrition and Home Economics (USDA)”, em 1952 (COUCEIRO 1985, FRANCO 1992, LEDIN 1958).

**Tabela 2.1: Teor de ácido ascórbico em frutas**

<i>Frutas</i>	<i>mg/100 g de suco</i>
Abacate	15,0
Abacaxi	27,2
Acerola	1.000-4.676
Ameixa	6,1
Amora	210,0
Banana	10,0
Caju	147-548
Cabeludinha	706-2.417
Fruta do Conde	23-486
Laranja Doce	37-80
Limão	23-60
Maçã	5,9-8,0
Manga	7,0-147
Mamão	36-109
Melão	12,5-58,7
Melancia	9,0
Morango	41-81
Pêssego	17,7-26,8
Pêra	2,3-3,5
Tangerina	15-56

**Fonte: COUCEIRO, (1985); adaptado de LEDIN, (1958);FRANCO, (1982)**

Esta quantidade de vitamina C presente na acerola, apresenta diferenças de acordo com a variedade, localização geográfica, estágio de maturação do fruto, época de colheita e métodos culturais (MATSUURA, 1994). Esse fato se observa na **tabela 2.2**, que relata os diferentes nomes botânicos da acerola em diversas regiões, com a variação de quantidade de vitamina C.

**Tabela 2.2: Conteúdo de vitamina C em polpa de acerola, oriundas de diferentes localizações geográficas**

<b>Pesquisador e data</b>	<b>País de referência</b>	<b>Nome botânico adotado</b>	<b>Vitamina C na polpa de frutos parcialmente maduros (mg/100g)</b>
Asenjo e Gusmán (1946)	Porto Rico	<b><u>M.punicifolia</u></b>	2247
Luiz et al. (1946)	Cuba	<i>M.glabra</i>	956
Mustard (1946)	Flórida	<i>M.punicifolia</i>	1317
Jaffe et al. (1950)	Venezuela	<i>M.punicifolia</i>	1130
Munsell et al. (1950 a)	Guatemala	<i>M.glabra</i>	15
Munsell et al (1950 b)	México	<i>M.glabra</i>	16
Craviotto (1951)	México	<i>M.punicifolia</i>	2520
Craviotto et al (1951)	Brasil	<i>M.glabra</i>	125
Leme Jr (1951)	Guatemala	<i>M.glabra</i>	560-1540
Gusmán (1953)	Guiana Francesa	<i>M.glabra</i>	26
Floch & Gelard (1955)	México	<i>M.punicifolia</i>	1759
Massien et al. (1955)	Haiti	<i>M.punicifolia</i>	1900
Asenjo (1956)	Colômbia	<i>M.punicifolia</i>	1180
Asenjo & Santamaria	Havaí	<i>M.punicifolia</i>	1100
Fitting & Miller (1958)	Brasil	<i>M.punicifolia</i>	1945
Brune et al. (1966)	Queensland	<i>M.glabra</i>	1570
Brown (1967)	Brasil	<i>M.glabra</i>	1625
Fonseca et al. (1969)	Brasil	<i>M.punicifolia</i>	1975
Leme Jr et al. (1973)	Brasil	<i>M.punicifolia</i>	1050
Alves (1993)		<i>M.emarginata</i>	1822-1021

**Fonte: ALVES (1993), ASENJO(1980), BRUNE et al. (1966), FONSECA et al (1969), LEME JÚNIOR (1951), citados por ARAUJO e MINAMI, (1994)**

## 2.2 – Composição da Acerola

MILLER et al., (1961), através de análises determinaram a composição mineral e vitamínica de frutos de acerola, cujos resultados são apresentados na **tabela 2.3**. Esta fruta é uma fonte pobre de vitaminas do complexo B, tais como tiamina, riboflavina e niacina, fonte regular de provitamina A, excepcional fonte de vitamina C e não é considerada uma fonte de minerais como cálcio, fósforo e ferro.

**Tabela 2.3: Composição de acerola por 100g de porção comestível**

<i>Vitaminas</i>	<i>Miligramas</i>
Caroteno	(408 UI vit A)**
Tiamina	0,028
Riboflavina	0,078
Niacina	0,34
Ácido Ascórbico	2.329
<i>Minerais</i>	<i>Miligramas</i>
Cálcio	8,7
Fósforo	16,2
Ferro	0,17
<i>Composição aproximada</i>	<i>Gramas</i>
Água	91,10
Proteína	0,68
Extrato etéreo	0,19
Fibra Bruta	0,60
Cinza	0,45
Carboidrato (p.d)*	6,98

**Fonte: MILLER et al 1961, citado por ARAUJO e MINAMI, 1994**

\*por diferença

\*\* 1 miligrama de pigmento amarelo equivalente a uma Unidade Internacional de Vitamina A.

ASENJO (1946) e ROCHA (1988), informaram que as análises físico-químicas da acerola têm sido realizadas na maioria das vezes, nos frutos em dois estágios de maturação: estágio 1 - frutas com casca de coloração amarelada passando para vermelho intenso, estágio 2 - frutas maduras que apresentam coloração vermelha intensa. Algumas características da fruta nos dois estágios podem ser vistas na **tabela 2.4**.

**Tabela 2.4: Característica de acerolas em diferentes estágios de maturação**

<i>Característica</i>	<i>(Estágio 1)</i>	<i>(Estágio 2)</i>
Peso (g)	3,1	4,7
Diâmetro (cm)	1,7	2,2
Suco obtido por maceração (% de peso de fruto)	55,3	69,6
Água em todo o fruto (%)	83,3	83,4
Sólidos no suco (%)	5,99	5,85
pH do suco	3,2	3,3
Ácidos totais (mL de NaOH 0,1 N/100 mL de suco)	162,3	135,9
Açúcares redutores (após a correção de ác. Ascórbico como glucose (g/100mL de suco)	3,2	4,1
Ác. Ascórbico no suco, mg/100 ml de suco (2,6 diclorofenol indofenol titraciona)	1713	1200

**Fonte: ASENJO (1980), adaptado de ASENJO e MOSCOSO (1950), citado por ARAUJO e MINAMI, (1994)**

Nota-se claramente a redução do conteúdo de vitamina C e aumento de açúcares redutores no fruto maduro. FENNEMA (1982), comenta que o °Brix da acerola, apresenta valores menores nos frutos no estágio 1 em relação aos do estágio 2, isto devido aos processos bioquímicos de produção de açúcares solúveis a partir do amido resultantes do amadurecimento da fruta.

A acidez total da acerola, varia proporcionalmente, com a quantidade ácido ascórbico presente, mas não de forma linear. Isto ocorre devido à presença de outros ácidos, em particular, o ácido levomálico, que constitui 25 a 50% do total de ácidos presentes na acerola (SANTINI, 1952). A avaliação quantitativa mostra que o ácido

levomálico representa 50%; ácido ascórbico 24%, ácido dehidroascórbico 13% e ácidos não identificados 13% (SANTINI, 1952).

Segundo NETO e SOARES (1994), em nível mundial as variedades de acerola são classificadas em doces e ácidas, sendo as últimas mais ricas em ácido ascórbico. Essas variações das características entre acerolas doces e ácidas são demonstradas na **tabela 2.5**.

**Tabela 2.5: Característica de algumas variedades estudadas de acerola**

<i>Variedades</i>	<i>Peso dos frutos(g)</i>	<i>° Brix</i>	<i>Ácido Ascórbico (mg/100gsuco)</i>
<b>Doces:</b>			
4-43	6,2	10,0	1537
9-68	7,2	9,0	1437
10-36	5,7	9,3	1440
4A-8	5,9	8,5	1521
8E-32	6,1	9,6	1577
9-11	5,2	11,0	1487
Florida Sweet	5,9	9,9	1464
<b>Ácidas:</b>			
8	4,3	8,9	1500-2650
3B-21	6,9	11,0	2200-3200
22-40	6,2	8,3	1600-2600
21-28	5,5	11,1	1700-3100
20-26	3,3	8,7	1700-2900
3B-1	9,3	8,7	1700-2800
2A-4	4,9	6,9	1200-2600
19B-16	5,2	9,1	1500-2650
3A-8	4,5	8,2	1400-2900
3A-4	5,1	9,0	1600-2600
269-2	6,7	6,8	1400-2300

**Fonte: NAKASONE et al. (1968) citado por MATSUURA (1994)**

AROSTEGUI et al. (1955), citado por MATSUURA (1994), estudaram o clone B-17 coletado em diferentes épocas, selecionado pela Universidade de Porto Rico, e relataram as variações no teor de Vitamina C (ácido ascórbico+dehidroascórbico) das frutas. Os resultados deste estudo são mostrados na **tabela 2.6**.

**Tabela 2.6: Variações na quantidade de vitamina C em acerola (variedade B-17) colhida em diferentes épocas**

<b>Identificação</b>	<b>Data de Colheita</b>	<b>Vitamina C (mg/100g suco)</b>
119	08 de junho	1.375
	03 de agosto	1.950
120	08 de junho	1.400
	03 de agosto	2.125
121	08 de junho	1.400
	03 de agosto	2.125
123	08 de junho	1.450
	03 de agosto	2.200
124	08 de junho	1.325
	03 de agosto	2.250

**Fonte: AROSTEGUI, (1955) citado por MATSUURA, (1994)**

A tabela mostra a variação de vitamina C em duas épocas de colheitas, num mesmo estágio de maturação da fruta. Segundo MATSUURA (1994) citado NAKASONE et al., (1966) quanto maior a exposição de luz solar direta, maior será a quantidade de vitamina C.

### **2.2.1 – Ácido Ascórbico (Vitamina C)**

Segundo ANDRESON (1991) citado por MATSUURA (1994), a vitamina C exerce uma função importante no aumento da resistência imunológica, incrementando a atividade antimicrobiana e agindo na reconstituição dos leucócitos em períodos de queda de

resistência. Por este motivo, é considerada fundamental co-agente imunofarmacológico, na profilaxia e terapia de indivíduos imunocomprometidos.

MATSUURA (1994), cita a importância desta vitamina na biossíntese de corticóides, na síntese e manutenção dos tecidos, na formação de ossos, dentes e sangue além da propriedade de transferir íons de hidrogênio, envolvidos em processos de hidroxilação.

Estudos referentes às necessidades diárias de vitamina C mostraram que em neonatos e durante o crescimento de crianças e adolescentes são necessários 6 mg/Kg de peso, enquanto que para adultos doses de 100 a 200 mg diários são consideradas satisfatórias. Doses excessivas de ácido ascórbico podem causar deficiência na absorção de ferro, além de provocarem diarreia e formação de cálculos renais (ARAUJO e MINAKI,1994).

ELEUTÉRIO e SALGADO, (1997) citado KLAUI e PONGRACZ, (1982), afirmam que uma das principais características biológicas do ácido ascórbico e a sua capacidade de eliminar os radicais livres, produzidos durante o metabolismo oxidativo, pela ação da irradiação solar e pelo hábito de fumar. Esta propriedade é particularmente importante nos olhos e fluidos extracelulares, principalmente no pulmão.

Segundo ELEUTÉRIO e SALGADO (1997), a vitamina C está presente nos tecidos vegetais, principalmente na forma de ácido ascórbico.

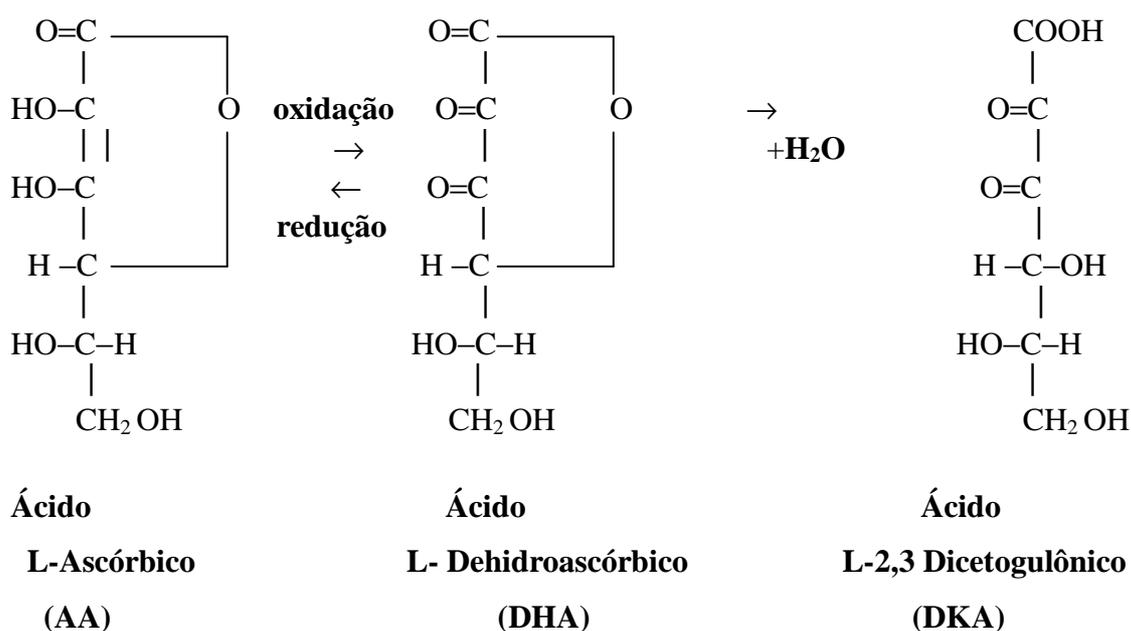
QUINTEROS (1995), citado MOSER e BENDICH (1991), mostrou algumas propriedades físico-químicas do ácido ascórbico. Estas propriedades podem ser vistas na **tabela 2.7**.

**Tabela 2.7: Propriedades físicas do ácido L-ascórbico**

<i>Propriedades</i>	<i>Características</i>
Aparência	Sólido branco, cristalino, inodoro
Fórmula	$C_6 H_8 O_6$
Massa Molecular (g/mol)	176,13
Forma Cristalina	Monoclínico
Ponto de fusão ( $^{\circ}C$ )	190-192
Massa Específica (g/cm <sup>3</sup> )	1,65

**Fonte: QUINTEROS (1995), citando MOSER e BENDICH (1991)**

O ácido ascórbico é um composto com seis carbonos, relacionados com a glicose e outras hexoses. Inicialmente, apresenta-se em equilíbrio reversível com o ácido dehidroascórbico e mais tarde este composto pode sofrer hidratação a ácido 2,3-dicetogulônico. Esta última reação é irreversível. Ácidos diceto tendem a sofrer decarboxilação muito facilmente. Esta reação leva à formação de CO<sub>2</sub> e outros produtos de decomposição, além de perda de vitamina C (MATSUURA, 1994). Na **figura 2.2** temos o esquema da transformação química descrita.



**Figura 2.2:** Esquema da transformação química do Ácido L-Ascórbico

Ácido ascórbico(AA), ácido dehidroascórbico (DHA) e ácido dicetogulônico (DKA) geralmente ocorrem nessa ordem decrescente nos tecidos das plantas frescas.

Em estudos realizados por DEL CAMPILLO e ASENJO (1957), em todos os estágios de desenvolvimento da fruta, a quantidade de ácido ascórbico medida nunca foi menor que 90% da soma dos três. DHA ou DKA nunca apresentaram valores maiores que 6%, entretanto a quantidade de DHA foi sempre ligeiramente maior que DKA. Em frutos congelados, a quantidade medida de DKA foi maior que o de DHA, como pode ser visto na **tabela 2.8**.

ITTO et al. (1990) confirmaram os resultados citados anteriormente e verificaram ser ao redor de 90% a proporção de ácido ascórbico reduzido em relação ao total de ácido ascórbico em acerola.

**Tabela 2.8: Distribuição do ácido dehidroascórbico (DHA), ácido dicetogulônico (DKA) e ácido ascórbico (AA) em frutas frescas (FF) e congeladas (FC) de acerola em diferentes estágios de desenvolvimento.**

<i>Estágio de Desenvolvimento</i>	<i>DHA</i>	<i>DKA (mg/100g)</i>	<i>AA</i>	<i>Total como AA</i>
FF - Fruta verde (40%*)	166,0	109,2	2503,03	2778,5
FF - Fruta verde (70%)	98,9	75,5	2802,0	2976,4
FF - Fruta madura	92,0	59,2	1759,0	1910,2
FC - Fruta verde (40%*)	57,2	123,2	2378,0	2558,7
FC - Fruta verde (70%)	81,2	138,6	2505,0	2724,8
FC - Fruta madura	87,5	123,4	1412,0	1622,9

\*: % do tamanho em relação ao tamanho da fruta madura.

**Fonte: DEL CAMPILLO e ASENJO, (1957)**

### **2.3.- Composição do Suco de Acerola**

ASENJO e MOSCOSO (1950) relatam algumas características físico-químicas do suco de acerola em várias variedades. As características por eles estudadas foram: *ST* - Sólidos Totais (%), *pH*, *AT* - Acidez Total (ml de 0,1 N NaOH/ mL), *AR* - Açúcares Redutores (%), *ÁA1* - Ácido Ascórbico (mg/100 mLsuco ) e *ÁA2* - (mg/100 mL na fruta) Estas características são mostradas na **tabela 2.9**.

**Tabela 2.9: Características do suco de acerola em várias variedades de acerola**

<i>Variedade</i>	<i>ST</i>	<i>pH</i>	<i>AT</i>	<i>AR</i>	<i>ÁA1</i>	<i>ÁA2</i>
A-14	5,89	3,3	140,0	3,0	1613	1430
A-21	6,60	3,1	208,4	3,7	2360	1916
B-6	5,84	3,2	156,2	3,0	1920	1426
B-7r	4,57	3,2	110,2	3,0	1051	956
B-8r	4,66	3,3	81,6	3,6	686	577
B-15r	5,62	3,1	188,5	3,7	1325	1040

**Fonte: ASENJO e MOSCOSO (1950)**

MATSUURA (1994), realizaram análises físico-químicas em suco de acerola obtido dos pomares da região de Campinas, Estado de São Paulo. Alguns dos resultados obtidos são apresentados na **tabela 2.10**.

**Tabela 2.10: Características Físico-Químicas do Suco Integral de Acerola**

<i>Análises</i>	<i>Resultados</i>
pH	3,46
Brix (20°C)	7,5
Acidez Total Titulável*	0,87
Brix/Acidez	8,6
Açúcares Redutores (%)	3,32
Açúcares Não Redutores (%)	1,16
Açúcares Totais (%)	4,48
Ácido Ascórbico (mg/100g)	1364
Fibras (%)	0,49
Sólidos Totais (%)	9,63
Teor de Polpa (%)	67,5
Massa Específica (g/cm <sup>3</sup> )	1,06
Gordura (%)	0,11
Pectina (%)	0,59

\*Equivalente em ácido málico

**Fonte: MATSUURA (1994)**

LEME Jr. (1973) a partir de estudos com diversas frutas, fez entre outras a seguinte consideração sobre a acerola: é rica em pectina, o que possibilita uma geléia consistente, que após um ano de prateleira apresentou cerca de 325mg de ácido ascórbico em 100g.

### **2.3.1 – Pectina**

De maneira geral, a pectina pode ser definida como um polissacarídeo que forma o material estrutural das paredes celulares dos vegetais, juntamente com a celulose e hemicelulose. Com o envelhecimento do vegetal, a pectina é enzimaticamente degradada

com perda de rigidez do material estrutural, em parte compensada pela formação de lignina que torna o tecido vegetal duro (BOBBIO, 1995).

A pectina é formada por cadeias de ácido D-galacturônico, existindo também moléculas de ramnose quebrando a linearidade da estrutura molecular, incluindo-se pequenas ramificações de xilose e arabinose.

Segundo BOBBIO (1995), os ácidos poligalacturônicos podem ter :

- Grandes números dos grupos carboxílicos metilados: são ácidos pectínicos e formam géis;
- Grande número dos seus grupos carboxílicos não-metilados: são os ácidos péctinos; não geleificam;
- Grau variável de grupos carboxílicos metilados: são as pectinas que gelificam.

As pectinas são comercialmente classificadas em pectinas de alto teor de grupos metoxílicos quando contêm acima de 50% de seus grupos carboxílicos esterificados e de baixo teor, quando somente 50% ou menos, estão esterificados.

Pectinas com teor de grupos metoxílicos superior a 70% são chamadas pectinas rápidas por gelificarem a temperatura mais alta do que as pectinas de baixo teor de grupos metoxílicos. A rigidez do gel está intimamente relacionada com a massa molar da pectina, crescendo com o aumento da massa molar.

MALOVIKOVA et al. (1973), relatam o método para a determinação da viscosidade intrínseca de substâncias pécticas, para obtenção da massa molar da pectina.

#### ***2.4 – Clarificação de Sucos de Frutas***

A produção e comercialização de diferentes tipos de sucos de frutas visa atender às necessidades e exigências do mercado consumidor, uma vez que, para cada um deles, devem ser mantidos certos padrões. Por exemplo, no suco de laranja a turbidez é desejável enquanto que nos de uva, maçã e acerola não, eles são normalmente lípidos. A turbidez nos sucos é devida à presença de substâncias em suspensão, tais como lipídios, amido, celulose, taninos e principalmente pectinas. A necessidade de mercado para a obtenção de sucos clarificados, minimizando as perdas de suas características organolépticas e nutricionais levou pesquisadores a estudarem processos de clarificação.

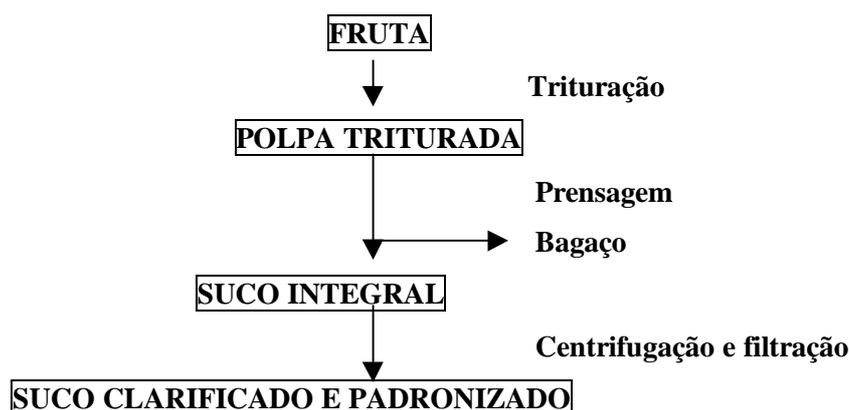
Segundo PETRUS (1997), a clarificação de sucos cuja polpa não é fundamental para seu sabor ou aceitação, como os de limão, uva, maçã ou acerola, pode se dar através

dos seguintes processos ou uma associação deles, para se obter em melhores resultados:

- Processos físicos: decantação, centrifugação e filtração;
- Processos bioquímicos: utilização de enzimas como as pectinases, amilases, celulases e arabanases;
- Processos químicos: agentes de refinamento como PVPP-polivinilpolipirrolidona, terra diatomácea e gelatina.

Afirma ainda, os sucos de frutas recém extraídos, antes de sofrerem qualquer tratamento, são constituídos por um sistema coloidal bastante complexo, contendo moléculas em solução verdadeira e partículas em suspensão, variando, principalmente entre 0,1 e 100  $\mu\text{m}$ . Partículas maiores que 100  $\mu\text{m}$  podem decantar rapidamente e outras na forma de dispersão coloidal, mantidas em suspensão devido à mútua repulsão de suas cargas e pela sua estabilização coloidal, devem ser removidas por centrifugação ou filtração convencional. Entretanto, é difícil ou mesmo impossível remover partículas em dispersão coloidal com dimensões da ordem de 0,01 a 0,1  $\mu\text{m}$ , através destes processos. Normalmente, se utilizam agentes coadjuvantes na filtração, como terra diatomácea e gelatina após tratamento (pectinases, amilases e celulolases), para coagulação e decantação de polissacarídeos.

ASENJO (1959) citado SÁNCHEZ-NIEVA (1955), afirma que o suco de acerola se extrai segundo o fluxograma mostrado na **figura 2.3**. A recuperação do suco varia entre 59 e 73% em massa em relação à fruta. O rendimento, depende da pressão que se aplica na prensa e do estado de maturação da fruta.



**Figura 2.3: Fluxograma operacional da extração do suco de acerola**

BAKER (1976), utilizou ácido poligalacturônico para a clarificação de suco de maçã e de laranja, observando diminuição da turbidez entre 30 a 38%. Foram consideradas

como ótimas as concentrações entre 75 e 500 ppm de ácido em pH entre 2,8 e 4,0, parecendo que o pH adequado varia diretamente com a massa molar do ácido utilizado.

ROMBOUTS e PILNIK (1978), citaram o uso de pectinase na extração de sucos de frutas. Quanto à clarificação de sucos, observaram rápida queda na viscosidade e formação de partículas aglomeradas, formando flocos.

O processo convencional de clarificação de sucos de frutas, além de demorado (20-30 horas) requer coadjuvantes de filtração e diversas etapas que acabam envolvendo muitos equipamentos e muita movimentação do produto, com conseqüente elevação dos custos e possibilidade de perda no atributo qualidade.

Na última década, algumas indústrias têm implantado o sistema de ultrafiltração, que é um processo de separação com membranas, com o objetivo de substituir as etapas de centrifugação, filtração e decantação do processo convencional. As vantagens da ultrafiltração, quando comparada com o processo convencional de clarificação de sucos são: maior rendimento na recuperação de sucos, redução nos custos operacionais e de resíduos acumulados durante a clarificação.

#### **2.4.1 – Ultrafiltração**

Na Ultrafiltração, a solução pressurizada flui sobre uma membrana porosa seletiva, permitindo o processamento simultâneo do fracionamento, concentração e purificação de soluções com diferentes componentes. É um dos processos de separação com membranas que usa como força motriz o gradiente de pressão ( $\Delta P$ ), como pode ser visto na **tabela 2.11**

**Tabela 2.11: Processos de separação com membranas**

<i>Processo</i>	<i>DP (atm)</i>	<i>Permeado</i>	<i>Retido</i>
<b>Microfiltração (MI)</b>	0,5 – 2	água e sólidos dissolvidos	material em suspensão, bactérias, PM>500.000
<b>Ultrafiltração (UF)</b>	1 - 7	água (solvente), sais solúveis de baixo PM	colóides, macromoléculas, PM>5000
<b>Nanofiltração (NF)</b>	5 - 25	água, sais e moléculas de baixo PM	moléculas de PM médio 500<PM<2000
<b>Osmose Reversa (OI)</b>	15 - 80	água	material solúvel ou em suspensão

**Fonte: HABERT et al. (1997)**

HABERT et al. (1997), relatam que os processos de MI, UF, NF e OI podem ser entendidos como extensão dos processos de filtração clássica que utilizam nesta sequência, meios filtrantes (membranas) cada vez mais fechados, ou seja, com poros cada vez menores (no caso da osmose inversa admite-se que não haja poros na superfície da membrana). Estes processos têm como principal característica a capacidade de serem operados em fluxo cruzado, além da operação clássica do tipo “dead end filtration”, minimizando o efeito da polarização da concentração.

Segundo estes mesmos autores, até meados de 80 as separações com membranas ocupavam modestos papéis na separação, recuperação, concentração e purificação de produtos obtidos nos processos clássicos. Recentes desenvolvimentos em várias frentes têm alterado esta situação, ao menos, a tecnologia de membranas é hoje reconhecida como competitiva em relação às tradicionais operações unitárias. Tem-se verificado um grande esforço dos grupos de pesquisa na área de membranas voltado principalmente ao desenvolvimento de novas membranas e novos processos de separação com membranas com aplicações em diferentes áreas do conhecimento.

Segundo CABRAL (1998), os processos como microfiltração, ultrafiltração, osmose inversa e diálise, do ponto de vista econômico se encontram mundialmente desenvolvidos, apresentando vários processos industriais. Internacionalmente, o setor de laticínios é o que mais vem utilizando esta tecnologia, principalmente a ultrafiltração, no fracionamento das proteínas presentes no leite e soro do leite. Considerada como uma alternativa econômica para muitos processos de separação tradicionais, a tecnologia de filtração com membranas já encontrou grande aceitação dentro de muitos setores da indústria de alimentos. Embora o total de instalações na América Latina seja relativamente pequeno em comparação com o resto do mundo, este total ainda pode ser considerado um significativo número. O potencial para a instalação de novos sistemas de membranas é muito grande, uma vez que somente uma pequena parcela do mercado identificado está utilizando a tecnologia de membranas. Dentro desta pequena parcela podemos citar: recuperação e concentração de proteínas de hidrolisados de soja, produção de produtos protéicos a partir de efluentes do processamento de amido, concentração de clara de ovo em substituição à concentração térmica, concentração de leite e concentração de proteínas no processo de obtenção de gelatinas.

Atualmente os processos de separação por membranas têm sido utilizados nos mais diferentes setores de atividade. Na **tabela 2.12** são apresentados exemplos de aplicação de processos com membranas em algumas áreas .

Tabela 2.12 : Aplicações de Processos de Separação com Membranas

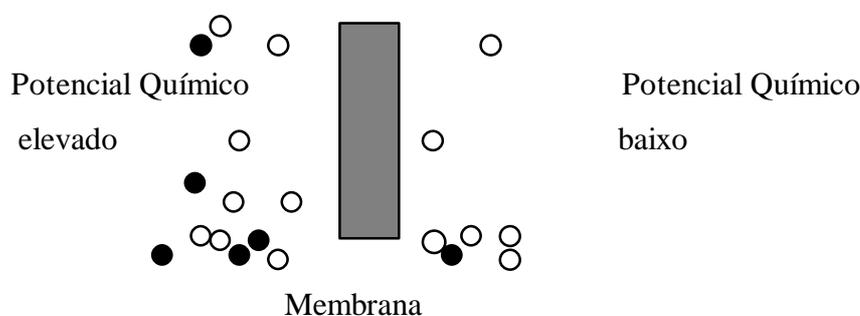
<i>ÁREA</i>	<i>APLICAÇÕES</i>
QUÍMICA	Quebra do azeótropo benzeno/hexano
	Recuperação de H <sub>2</sub> - Síntese da Amônia
	Fracionamento de CO <sub>2</sub> /CH <sub>4</sub>
	Fracionamento do ar
BIOTECNOLOGIA E FARMACÊUTICA	Separação de substâncias termolábeis
	Desidratação de etanol
	Purificação de enzimas
	Fracionamento de proteínas
ALIMENTÍCIA E BEBIDAS	Esterilização de meios de fermentação
	Bio-reatores a membranas
	Concentração de leite e de soro de queijo
	<b>Clarificação e Concentração de suco de frutas</b>
TRATAMENTO DE ÁGUAS	Clarificação de vinhos e cervejas
	Desalcoolização de vinhos e cervejas
	Dessalinização de águas
	Eliminação de traços orgânicos
TRATAMENTO DE DESPEJOS INDUSTRIAIS	Tratamento de esgotos municipais
	Desmineralização de águas p/ caldeiras
	Água ultrapura p/ indústria eletrônica
	Separação água/óleo
	Recuperação de índigo-Têxtil
MEDICINA	Recuperação de PVA - Têxtil
	Recuperação de íons metálicos- Couro
	Recuperação de proteínas-Laticínio
	Tratamento de águas-Papel e Celulose
	Rim artificial-Hemodiálise
	Pulmão artificial-Oxigenadores
	Ar enriquecido em oxigênio
	Esterilização de soluções injetáveis

Fonte: HABERT et al. (1997)

Uma das áreas citadas na **tabela 2.12** é a de bebidas e alimentos, tendo como uma das aplicações a clarificação e concentração de sucos de frutas.

Segundo CABRAL (1998), quando se fala em suco de fruta, as suas características sensoriais dependem das substâncias que compõem o sabor e o aroma do mesmo. Estas são substâncias voláteis, termosensíveis e largamente afetadas pelo processamento térmico. Com relação à qualidade nutricional, dada principalmente pelas vitaminas presentes na fruta, ocorre o mesmo. Nesta área então, o uso da tecnologia de membranas torna-se bastante interessante, pois os processos com membranas ocorrem frequentemente à temperatura ambiente.

Uma representação esquemática da separação com membranas é dada na **figura 2.4**, que mostra que a passagem preferencial é do potencial químico mais elevado para o mais baixo potencial químico.



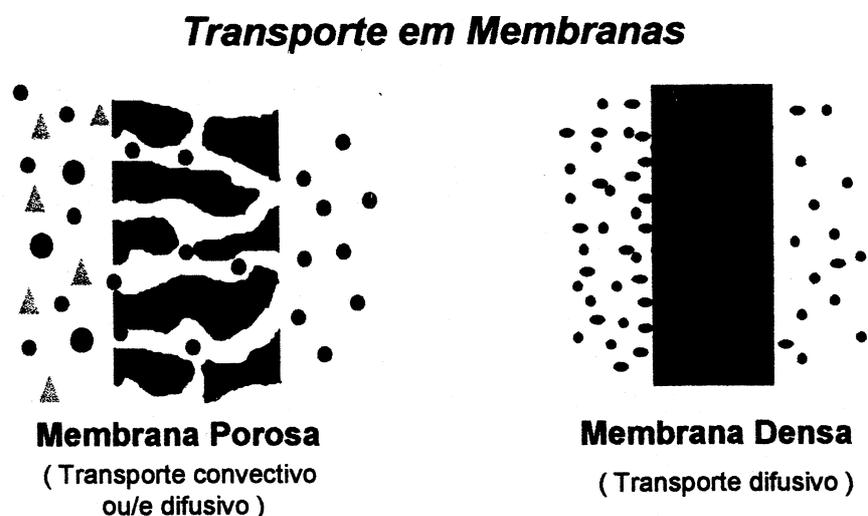
**Figura 2.4:** Esquema da separação com membranas

Os processos de separação com membrana se baseiam na permeabilidade seletiva de um ou mais componentes de uma mistura através de uma membrana e como toda separação fornecem um produto desfalcado de certos componentes e um outro produto concentrado nestes componentes.

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

Em função do tipo de morfologia da membrana e do tipo de força motriz empregada, o transporte das diferentes espécies através da membrana pode ocorrer pelo

mecanismos convectivo, difusivo, ou convectivo e difusivo associados, como visto na figura 2.5.



**Figura 2.5: Esquema ilustrativo dos diferentes mecanismos de transferência de massa em membranas sintéticas**

Em processos que utilizam membranas porosas a seletividade é definida pela relação de tamanho entre as espécies presentes e os poros da membrana (exemplo: microfiltração e ultrafiltração) e as espécies presentes devem ser, na medida do possível, inertes em relação ao material que constitui a membrana. Para membranas porosas, em função do tipo de força motriz aplicada, o transporte das espécies através da membrana pode ser tanto convectivo como difusivo. No caso da ultrafiltração e microfiltração, para os quais a força motriz é o gradiente de pressão através da membrana, o fluxo de permeado é fundamentalmente convectivo. Neste caso as espécies se difundem pelos poros da membrana.

As membranas sintéticas comerciais são produzidas a partir de duas classes distintas de material: os polímeros, na sua grande maioria materiais orgânicos, e os inorgânicos, como metais e cerâmicos (HABERT et al., 1997).

As membranas utilizadas na clarificação de sucos são confeccionadas com polímeros inertes com diferentes cortes de membrana ou peso molecular médio de corte (molecular weight cut-off), que significa o maior tamanho de molécula que pode atravessá-la. (SHORT, 1983).

SCOTT e HUGHES (1966) citado LOEB e SOURIRAJAN (1955), relatam que estes autores foram os pioneiros em produzir membranas assimétricas de osmose inversa usando acetato de celulose. As membranas foram formadas a partir de misturas de diacetato de celulose e triacetato de celulose pela técnica de inversão de fase. A vantagem do acetato de celulose é que ele é relativamente barato e possui caráter hidrofílico, o que resulta numa boa resistência ao entupimento sob determinadas condições, particularmente quando gorduras e proteínas estão presentes. O acetato de celulose apresenta limites de resistência ao uso de soluções de cloro e hipoclorito. A desvantagem é a tendência à hidrólise para valores de pH abaixo de 3, ou acima de 7 e para temperaturas acima de 30-35 °C. Necessita de cuidados especiais para a limpeza e armazenamento, pois micróbios podem destruir a membrana por digestão.

Utilizando-se membranas, no caso da ultrafiltração e microfiltração, nota-se a que do fluxo de filtrado ao longo de tempo, geralmente acompanhado por uma diminuição na rejeição de soluto. Esse fenômeno é atribuído a polarização de concentração e uma série de outros fenômenos, conhecidos por “fouling”(HABERT et al., 1997).

Comercialmente as membranas são fabricadas na geometria plana e cilíndrica (HABERT et al., 1997). Os principais aspectos a serem considerados na seleção da geometria adequada são as variáveis do processo e as características da mistura a ser fracionada. Estas membranas são usadas em módulos específicos, desenvolvidos para contemplar uma melhor eficiência de escoamento da alimentação. As membranas planas são empregadas em módulos de placa-quadro e espiral, enquanto as cilíndricas são usadas em módulos capilares, fibras ôca e tubulares.

DOBSON (1994), faz uma comparação, que é mostrada na **tabela 2.13**, entre os módulos da geometria plana, placa-quadro e espiral.

**Tabela 2.13: Comparação entre os módulos da geometria plana**

<i>Módulo Planca-quadro</i>	<i>Módulo em Espiral</i>
<p>Vantagens:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bom “design” sanitário e baixo “biofouling”;</li> <li>• Fácil limpeza e desinfetação;</li> <li>• Boa operação com substâncias com alta viscosidade;</li> <li>• Larga variedade e combinação de membranas.</li> </ul>	<p>Vantagens:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Área compacta, e pequeno espaço;</li> <li>• Baixo consumo de energia;</li> <li>• Baixo capital.</li> </ul>

## Desvantagens:

- Alto custo;
- Área pequena e grande espaço.
- Baixa relação área/volume

## Desvantagens:

- Pequena flexibilidade de:
  - Variedade de membrana,
  - Combinação de membrana.
- Dificuldades em substâncias com alta viscosidade;
- Alto fouling para correntes com grande quantidade de sólidos suspensos.

**Fonte: DOBSON (1994)**

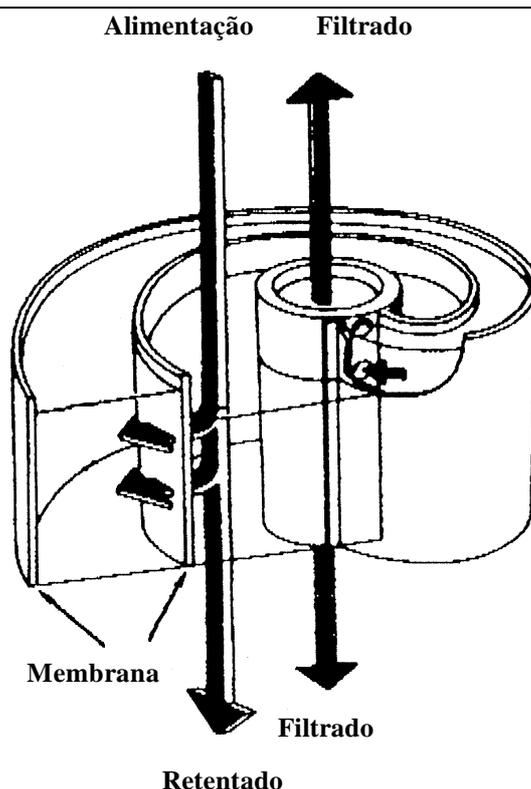
Segundo SILVA (1995) citado MALDONADO (1991), o módulo em espiral, dentre as membranas de superfície plana, constitui-se o mais popular, principalmente por oferecer maior relação área/volume.

No módulo espiral, apresentado na **figura 2.6**, utiliza-se a membrana entre dois espaçadores. Um destes serve como um canal coletor para o filtrado ou clarificado, enquanto o outro fornece espaço para escoar a solução de alimentação. As membranas conjuntamente com os espaçadores são enroladas em torno de um duto perfurado, para o qual o permeado escoa. O conjunto é selado externamente com resina epoxi.

Ainda existem problemas na ultrafiltração que precisam ser enfrentados, tais como a redução no fluxo permeado ao longo do processamento, devido ao acúmulo de material retido na superfície da membrana (polarização de concentração); dificuldades no desenvolvimento de novas membranas com alto fluxo e alta seletividade; pequena vida útil das membranas e alto custo de reposição das mesmas (CABRAL, 1998).

No processo de ultrafiltração de suco de frutas, o material pectínico presente no mesmo exerce uma forte influência sobre o desempenho da ultrafiltração. Esse tipo de material tem o potencial de formar aglomerado, tornando-se assim uma placa de gel na superfície da membrana reduzindo sua eficiência. São usadas as enzimas pectinases para a despectinização.

No Brasil, as indústrias que produzem suco de frutas clarificado, utilizando a ultrafiltração, somam uma capacidade total superior a 80.000 L/h. Dentre elas temos, processando o suco de laranja, a Critrovita, Frutesp e Cargil. Utilizam a ultrafiltração como etapa de clarificação do suco secundário considerado de segunda linha, combinado com colunas de adsorção e/ou troca iônica para obter um suco de qualidade superior ao processado tradicionalmente (FREITAS, 1996).



**Figura 2.6: Esquema da membrana em espiral**

Segundo FOGARTY e WARD (1974), na Alemanha desde 1930 utilizam-se enzimas pectinases para a desintegração de polpas de frutas, e os sucos onde a utilização de enzimas é mais ampla, são os sucos de uva e maçã.

As enzimas são proteínas especializadas na catálise de reações biológicas. Elas estão entre as biomoléculas mais notáveis devido à sua extraordinária especificidade e poder catalítico, que são muito superiores aos dos catalisadores produzidos pelo homem (LEHNINGER, 1976).

Segundo MATIOLI (1991) citado DIXON e WEBB (1979), a ação catalítica das enzimas, é semelhante à dos catalisadores inorgânicos, uma vez que elas não são consumidas na reação. Contudo, o que distingue uma enzima de um catalizador inorgânico, é a sua capacidade de catalisar uma reação sob condições suaves, como em soluções aquosas a temperatura e pressão normais, com diminuição do risco de desnaturação térmica dos compostos termolábeis, redução das necessidades energéticas e dos efeitos corrosivos.

HEATHERBELL (1977), comparou o suco clarificado obtido pelo processo convencional ao suco obtido pela ultrafiltração. Neste trabalho o suco centrifugado foi ultrafiltrado através de membranas de fibra ôca Romicon (XM-50). Essencialmente todo material polissacarídico tal como a pectina e amido, que são responsáveis pela turbidez e formação de sedimentos, foram seletivamente removidos sem afetar outros constituintes do suco.

KIRK et al. (1983), aplicaram o processo de ultrafiltração para clarificar o suco de pêra e obtiveram um suco claro de cor âmbar. Foram utilizadas membranas de fibra ôca de tamanhos de corte molecular diferentes (50.000, 30.000 e 10.000 daltons), e concluíram que o tamanho dos poros das membranas tinha pouca influência sobre a cor do suco permeado e sobre parâmetros ótimos do processo.

YU et al. (1986), investigaram a distribuição de aromas do suco de maracujá, e a habilidade da ultrafiltração na recuperação dos compostos aromáticos do suco. Eles observaram que a retenção de açúcares e ácidos, em geral foi muito baixa, mas que as membranas de ultrafiltração retiveram alguns importantes compostos voláteis, e sugeriram a concentração do filtrado por outros meios, assim como a mistura do retentado ao permeado para obtenção do suco concentrado.

RAO et al. (1987), clarificaram suco de maçã fresco, numa unidade piloto de ultrafiltração. Foram utilizadas membranas de polisulfona e poliamida, em módulos tipo quadro e placas em tambor de vácuo. A retenção de odores voláteis ativos no permeado da membrana de poliamida, foi maior em relação ao permeado da membrana de polissulfona e maior para o módulo de quadro e placas. RAO et al. (1987), objetivando determinar qual sistema de membrana usar na clarificação de suco integral despectinizado de maçã, concluíram que as membranas de polissulfona e poliamida, com porosidade de 30.000 e 50.000 Daltons respectivamente, conservariam melhor os compostos voláteis do suco. Observaram ainda que o fluxo de permeado foi mais elevado na membrana de polissulfona com pressão de transmembrana (soma das pressões de entrada e saída da solução dividida por 2) de 21 psi; sendo também a manutenção no filtrado de compostos voláteis melhor nesse tipo de membrana.

SHEU et al (1987), utilizaram a ultrafiltração na clarificação de suco de maçã, previamente tratado com pectinase, e membranas com porosidade de 50.000 Daltons. Como parâmetros operacionais, foi utilizada pressão de 5 Bar e temperatura de 50 ° C, obtendo-se recuperação de 99,5% de sólidos solúveis e dos ácidos tituláveis no filtrado,

constatando que o processo não foi influenciado pela variação do grau de maturação dos frutos.

THOMAS et al (1987), trataram o purê de maçã para produzir sucos clarificados, com várias quantidades de enzimas comerciais de liquefação (pectinase e celulase, 0%-0,066%) por 2 horas a 50°C e ultrafiltraram através de membrana de óxido metálico. Todos tratamentos com a enzima reduziram a viscosidade 70-80% dentro de uma hora, mas o fluxo em estado estacionário aumentou com a maior concentração de enzimas.

ITOUA-GASSAYE et al. (1991), estudaram as modificações de açúcares e aroma, durante o processamento de suco de abacaxi, utilizando-se de membranas minerais e orgânicas durante a clarificação do mesmo. Observaram que, a baixas temperaturas (30 °C), minimizava-se a degradação dos sucos quanto ao escurecimento (Maillard), justificando a utilização do processamento a frio. A retenção de aromas, apesar do tratamento enzimático prévio, é explicada pelo fato de os compostos suscetíveis de serem retidos pelas fortes interações com as macromoléculas, tais como pectina, existirem em baixas concentrações. Concluíram que a Microfiltração e Ultrafiltração permitem a obtenção de suco de abacaxi clarificado, como se observa na **tabela 2.14**.

**Tabela 2.14: Composição do suco de abacaxi simples, clarificado e concentrado por microfiltração**

<i>Composição</i>	<i>Suco Simples</i>	<i>Clarificado</i>	<i>Concentrado</i>
<b>Brix</b>	11,50	11,50	11,50
<b>Sacarose(%)</b>	2,90	2,80	2,99
<b>Glicose(%)</b>	3,82	3,70	3,90
<b>Acidez em ácido cítrico(mg/100mL)</b>	0,75	0,72	0,76
<b>Extrato Seco(%)</b>	10,45	10,40	10,80
<b>Turbidez(NTU)</b>	2.200,00	0,36	2.500,00
<b>Cor(420 nm)</b>	8,60	0,109	8,091

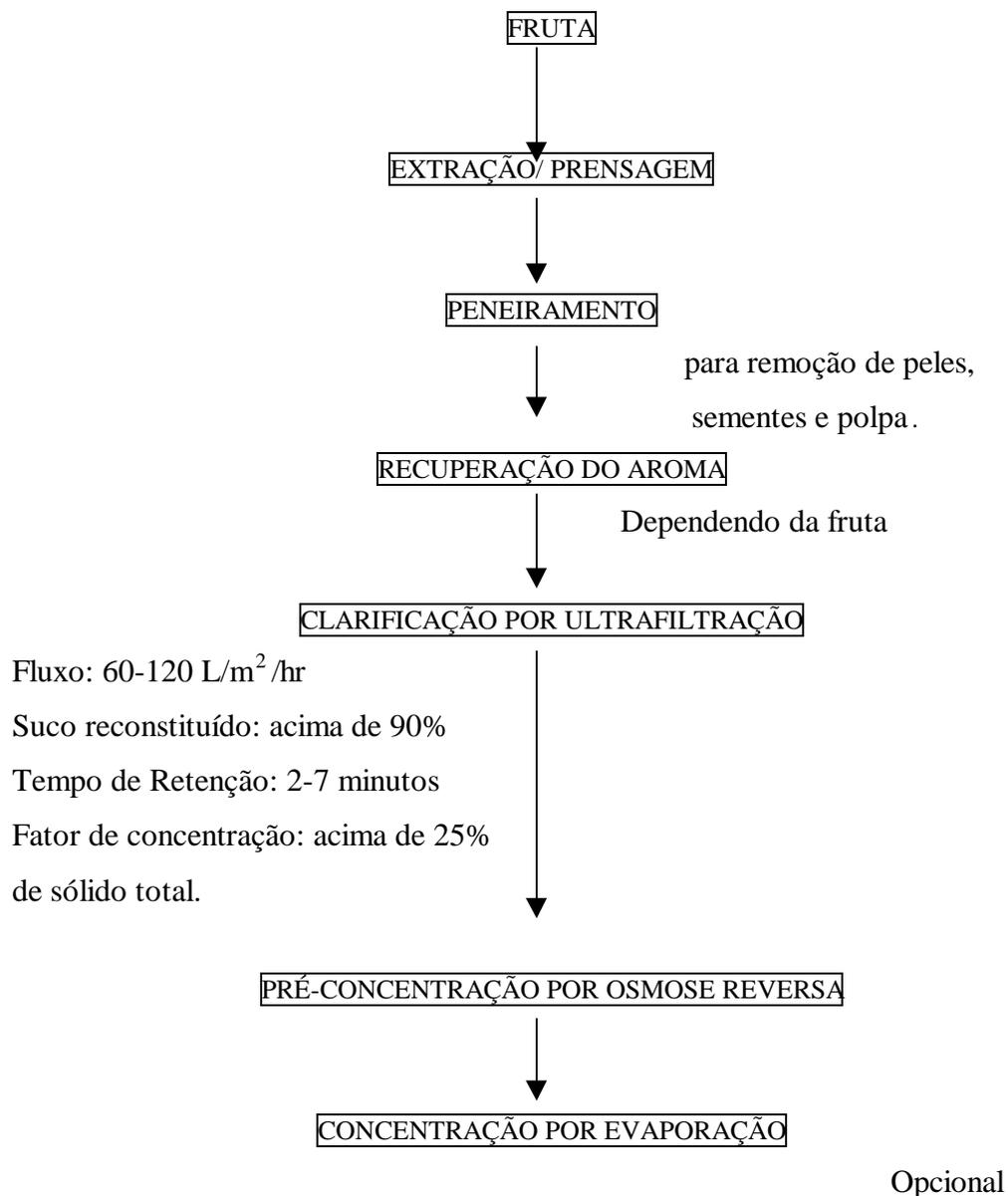
**Fonte: ITOUA-GASSAYE et al. (1991)**

BARROS et al (1992), comprovaram a eficácia da clarificação do suco de laranja, por fibra oca e não detectaram a atividade da enzima pectinase. Estudaram também o efeito

de sólidos solúveis, sólidos suspensos e aroma em suco de laranja, obtendo na ultrafiltração uma boa retenção dos mesmos.

CAPANELLI et al. (1992), obtiveram um suco clarificado de boa qualidade, a partir do suco fresco de laranja e limão, utilizando um número de diferentes tipos e configurações de membranas. A polpa, pectina e óleos essenciais, foram quase que totalmente retidos pelas membranas.

Segundo DOBSON (1994), de maneira geral a clarificação (UF) e concentração (OI) de suco de fruta pode ser esquematizada da forma mostrada na **figura 2.7**:



**Figura 2.7: Esquema de clarificação e concentração de suco de fruta**

MATSUURA (1994), citado por KAREL (1975), afirma que a ultrafiltração é similar à osmose reversa, mas se utiliza de uma membrana mais porosa. Portanto, na ultrafiltração apenas moléculas grandes são retiradas pela membrana, enquanto a maioria das moléculas de soluto, incluindo sais, açúcares, ácidos e a maioria dos compostos do aroma são permeáveis.

CAPANELLI (1994) apresentou os resultados da continuidade do trabalho anterior de 1992, utilizando uma planta piloto. Ultrafiltrou os sucos de laranja e limão a concentrações constantes, usando membranas cerâmicas e poliméricas de configuração tubular. As membranas cerâmicas resultaram em fluxos de permeado mais altos, a baixos Reynolds, do que as membranas poliméricas, sugerindo assim maior eficiência de energia para aplicação industrial da membrana cerâmica do que da polimérica.

DRIOLI e CALABRÒ (1992) relatam a integração de membranas de destilação, microfiltração juntamente com a ultrafiltração para o suco de laranja. Conseguindo na ultrafiltração uma boa remoção da polpa suspensa do suco e redução de agregados de pectinas. Na ultrafiltração, usando um alto número de Reynolds conseguiu-se separar as pectinas do suco, sem significativo aumento da transferência de massa. A membrana de destilação, permitiu a concentração deste suco clarificado com baixa viscosidade com redução significativa no consumo de energia.

CARVALHO (1994), citado por PADILLA e MCLELLAN (1989), relata a utilização de membranas tubulares, de polissulfona, com diferentes tamanhos médios de poro, na clarificação de suco de maçã despectinizado com Klerzyme A2, visando observar a qualidade do produto final e sua estabilidade. Foram realizadas análises no suco clarificado para verificar a estabilidade, presença de amido, pH, acidez total, sólidos totais e solúveis, turbidez, escurecimento, fenóis totais e atributos sensoriais. As amostras foram estocadas por 6 meses, a temperatura de 18 e 43 ° C e avaliadas mensalmente. Nas amostras estocadas a 18° C não ocorreram modificações físico-químicas significativas, ao contrário das amostras estocadas a 43 ° C, onde ocorreram aumento na turbidez, escurecimento e cor.

CARVALHO (1994), citado por MILNES et al. (1986), afirma que os fatores que afetam o fluxo do permeado no sistema de Ultrafiltração/Microfiltração são a temperatura e a viscosidade do suco. Na **tabela 2.15**, podem-se observar os resultados da utilização de diferentes temperaturas no suco despectinizado e não despectinizado, mostrando a variação de fluxo. Na **tabela 2.16** são apresentados a composições inicial e final do suco de maçã

despectinizado ultrafiltrado, de acordo com o percentual de volume filtrado. Os sucos foram tratados com enzima comercial.

**Tabela 2.15 : Diferenças de fluxo a diferentes temperaturas com suco despectinizado e não-despectinizado (L/m<sup>2</sup>/h)**

<i>Temperatura</i>	<i>Não-despectinizado</i>	<i>Despectinizado</i>
18 °C	25,46	42,44
50 °C	50,93	84,89
75 °C	76,40	118,84

**Fonte: CARVALHO (1994) citando MILNES et al. (1986)**

**Tabela 2.16: Composição inicial de suco de maçã despectinizado e de sucos clarificados por ultrafiltração**

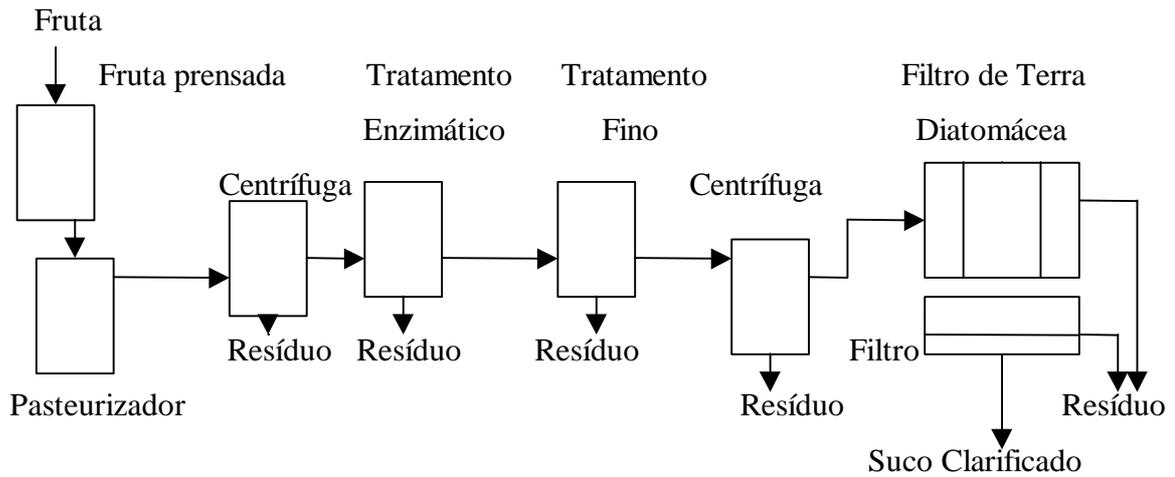
	<i>Suco de Maçã</i>	<i>Suco Permeado</i>	<i>Suco Permeado</i>
<b>Composição</b>		50%	90%
<b>pH</b>	3,5	3,5	3,5
<b>Brix</b>	12,00	12,00	12,00
<b>Pectina(mg/100mL)</b>	-	< 10	< 10
<b>Amido</b>	-	< 0	< 0
<b>Cor(420nm)</b>	-	0,3- 0,6	0,3-0,6
<b>Limpidez(650nm)</b>	-	< 0,2	< 0,2

**Fonte: CARVALHO & SILVA (1994) citando MILNES et al. (1986)**

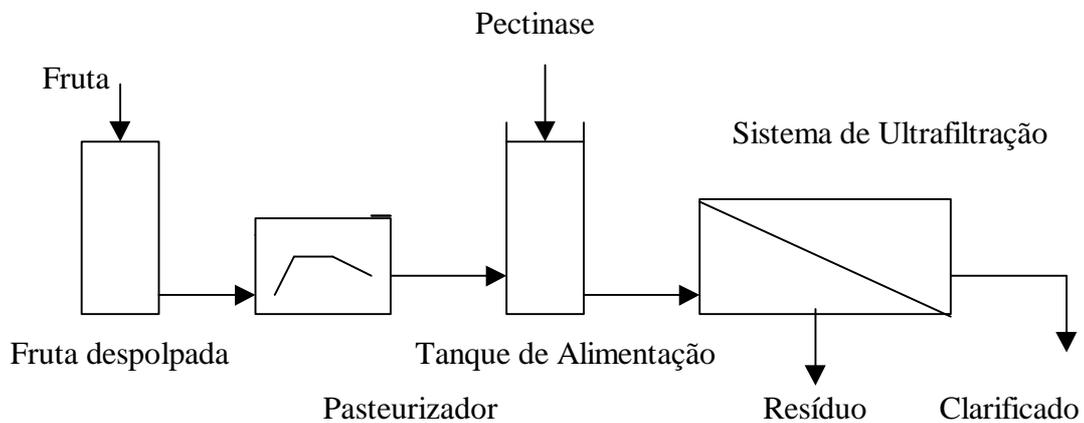
FREITAS (1995) estudou a clarificação do suco de laranja por ultrafiltração, conseguindo uma boa recuperação de substâncias voláteis no filtrado.

JOHNSON et al. (1996) estudaram a perda de compostos voláteis durante a ultrafiltração do suco de laranja e subsequente evaporação. Concluíram que álcoois e ésteres predominam no permeado, enquanto terpenos (d-limoneno e valencence) e aldeídos não polares (octanol e decanol) estavam distribuídos no retentado do sistema de ultrafiltração. Uma essência da fase aquosa foi recuperada do permeado durante a concentração por evaporação. A eficiência de recuperação de compostos individuais foi de 3 a 13% quando concentrado e permeado e menor que 5% quando concentrado todo o suco.

PETRUS (1997) e CHERYAN e ALVAREZ (1995), ambos citando KÖSEOGLU et al. (1990), comparam o processo convencional com o processo com membrana (ultrafiltração) para a clarificação do suco de maçã. Esta comparação pode ser vista na **figura 2.8**. Afirmam que com o uso da ultrafiltração o processo de clarificação fica consideravelmente simplificado. Além do tempo ser reduzido, o custo também desce já que o número de operações unitárias se reduz.



(a)



(b)

**Figura 2.8: Diagrama esquemático da clarificação de suco de maçã por: (a) processo convencional, (b) ultrafiltração**

**Fonte: PETRUS (1997) e CHERYAN e ALVAREZ (1995), ambos citando KÖSEOGLU et al. (1990)**

CABRAL (1998) relata que a alternativa de clarificação enzimática vem sendo usada com sucesso na ultrafiltração de sucos utilizando-se membranas. Neste caso, as substâncias responsáveis pela turbidez do suco são retiradas pela membrana, e o produto permeado é o suco clarificado.

### **3 - MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 - Origem, Conservação da Fruta e Preparação da Amostra**

A acerola, matéria-prima utilizada neste trabalho, foi colhida nos pomares da região de Maringá e despulpada. A polpa foi acondicionada em galões de 25 litros e armazenada na temperatura de -8° C.

A polpa descongelada foi primeiramente passada por peneira doméstica e em seguida centrifugada. A centrífuga utilizada foi da marca Fanen, modelo Excelsa Baby II 206- R com bateladas de 400mL, na rotação de 50 rpm por 10 minutos, resultando num suco com no máximo 2% de polpa, padronizado. Utilizou-se este teor de polpa devido às limitações da membrana, especificadas pelo fabricante.

Parte deste suco foi tratada com enzima pectolítica Citrozym Ultra L da Novo Nordisk, na concentração de 75µL/L de suco. Este tratamento consiste na adição da enzima ao suco e posterior ativação e incubação em temperatura de 40 °C por 1 hora e 30 minutos.

#### **3.2 – Análises realizadas nas amostras**

As análises reológicas e físico-químicas realizadas nas amostras do suco padronizado, com seus respectivos métodos, se encontram no Anexo II.

##### **3.2.1 - pH**

Medidas de pH foi feita através de pHmetro Digimed DM 20, feito anteriormente a calibração com soluções padrões de pH 4 e 7, à 25 ° C.

##### **3.2.2 – Acidez Total Titulável**

AOAC.1984, expressos em porcentagem de ácido málico, n° 22.038.

##### **3.2.3 – Brix**

Refratômetro Shimadzu (Blawsch & Lomb), com correção de temperaturas.

### **3.2.4 - Brix/ Acidez**

Razão entre valor de Brix pela Acidez Total Titulável.

### **3.2.5 - Açúcares Redutores(Método de Fehling)**

Normas Analítico do Instituto Adolfo Lutz, 1985, expresso em porcentagem de glucose (p/p).

### **3.2.6 - Açúcares Não-Redutores(Método de Fehling )**

Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1985, expresso em porcentagem de sacarose (p/p).

### **3.2.7 - Açúcares Totais**

Obtido pela soma direta entre Açúcares Redutores e Não-Redutores.

### **3.2.8 – Fibras**

V.Soest e .Wine, 1968, resultado em porcentagem p/p.

### **3.2.9 - Ácido Ascórbico**

Polesello e Rizzolo, 1990, resultado dado em mg/mL, feita através de CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).

### **3.2.10 - Ácido Ascórbico**

AOAC. 1984, nº 43.056, ,dado em mg/100 mL.

### **3.2.11 - Polpa Suspensa**

Centrífuga Fanen Excelsa Baby II: 206- R , expresso em (v/v).

**3.2.12 - Sólidos Totais**

AOAC.1984, nº 22.018, resultados expressos em (p/p).

**3.2.13 – Massa Específica**

picnômetro, dado em g/ml

**3.2.14- Gordura**

Bligh e Dyer, 1959, dado em porcentagem (p/p).

**3.2.15 - Pectina (Pectato de Cálcio)**

Person, 1970, resultados expressos em porcentagem (p/p).

**3.2.16 - Carboidrato Total**

Chaplin e Kennedy, 1987, resultados expressos em mg/100 ml.

**3.2.17 - Pectina**

Chaplin e Kennedy, 1987, resultados expressos em mg/100 ml, em Ácido Urônico.

**3.2.18 - Glucose**

Chaplin e Kennedy, 1987, resultado expresso em mg/ml.

**3.2.19 - Frutose**

Chaplin e Kennedy, 1987, resultado expresso em mg/ml.

### **3.2.20 - Viscosidade**

Reômetro Rheotest 2.1, resultado expresso em cp.

### **3.2.21 - Cor**

Portable Datalogging Spectrophotometer, resultado expresso em (APHA), 455 nm.

### **3.2.22 - Turbidez**

Portable Datalogging Spectrophotometer resultado expresso em (FAU), 455 nm.

### **3.2.23 – Rotação Óptica**

Portable Datalogging Spectrophotometer resultado expresso em (%T) (440 nm).

### **3.2.24 – Viscosidade Intrínseca**

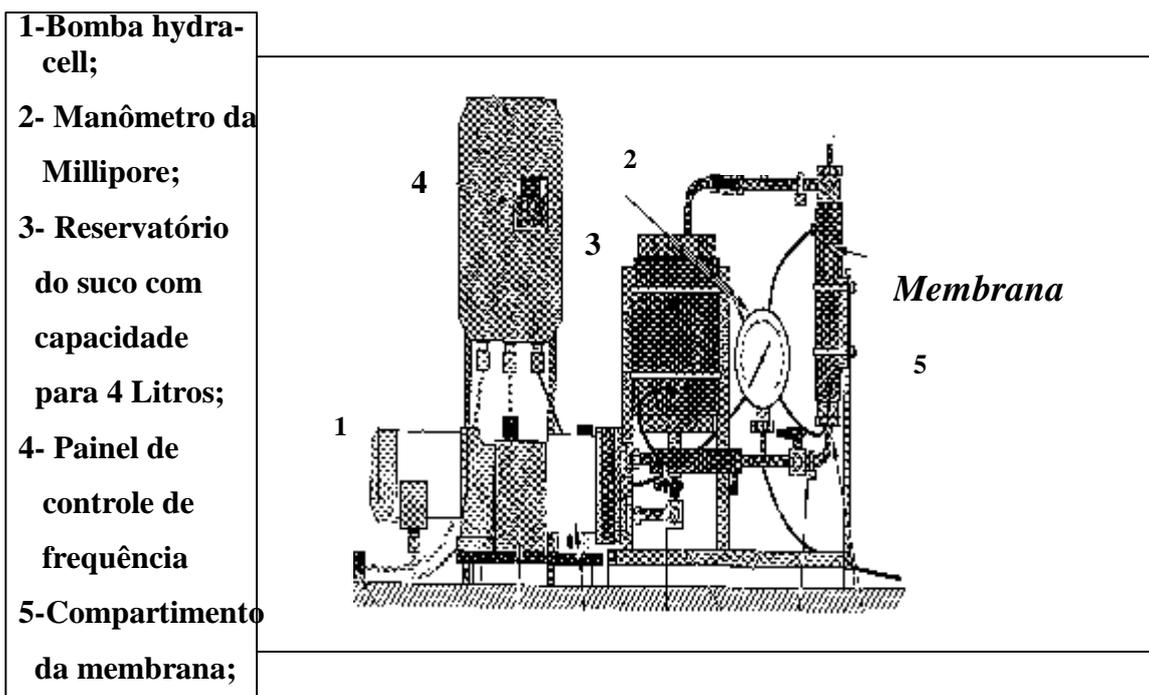
Malovikova et al., resultado em mL/g.

### **3.2.25 – Vazão**

Razão entre o volume coletado em proveta pelo tempo cronometrado. O fluxo foi obtido através da divisão da vazão pela área da membrana.

## ***3.3 Equipamento de Ultrafiltração***

O módulo PROLAB-SYSTEM utilizado neste trabalho, construído em aço inoxidável é mostrado na **Figura 3.1**. Consiste de uma bomba de diafragma, cuja pressão pode ser controlada através de uma válvula. No painel de controle, há um ajustador de frequência, sendo o máximo de 60 Hz. As medidas de vazão de filtrado foram feitas somente depois de 20 minutos, e retiradas para análise físico-química e reológica, até um volume de 3L. Restando-se assim 1 L de retido no tanque do módulo.



**Figura 3.1:** Esquema do módulo PROLAB-SYSTEM

### 3.3.1 - Membrana

Foi utilizada uma membrana de acetato de celulose regenerada da Millipore, em espiral, com as características descritas na **tabela 3.1**.

**Tabela 3.1:** Características da membrana

<i>Membrana de Ultrafiltração</i>	
<i>Material</i>	Celulose Regenerada
<i>Ponto de corte (Daltons)</i>	30.000
<i>Temperatura de Operação (° C)</i>	4 a 60
<i>Pressão de Operação(Psi)</i>	0 a 100
<i>Vazão(L/min) recomendada</i>	5,6 a 7,6
<i>pH</i>	Contínuo: 2 a 12 Intermitente: 12 a 13
<i>Pressão máxima de alimentação(Psi)</i>	200
<i>Área (m<sup>2</sup>)</i>	0,3
<i>Altura (mm)</i>	305
<i>Diâmetro(mm)</i>	51

A membrana se restringe ao uso apenas de soluções com 95 a 98% de água

### **3.3.2 - Procedimento experimental em cada teste**

Em cada teste o suco de acerola padronizado, foi acondicionado no reservatório (3) do módulo e recirculado, passando pela membrana, durante 20 minutos, ou seja o que era ultrafiltrado voltava para o recipiente de alimentação. Foram realizadas medidas de vazão do filtrado ao longo de cada teste e de temperatura, após sua estabilização. Ao final de cada teste foram retiradas amostras do retido e do filtrado para análises.

Após cada teste foi feita a limpeza da membrana, inicialmente com água e depois com NaOH e HCl em concentração de 0,1 N, como especificado pelo fabricante da membrana.

### ***3.4 – Procedimento Experimental***

A metodologia seguida neste trabalho foi:

- 1- Testes de ultrafiltração, nas pressões de 25, 50 e 75 psi, com o suco padronizado;

Primeiramente a 25 psi, depois 50 psi e logo em seguida 75 psi, em cada teste a membrana foi limpa com água e solução de NaOH e HCl e não foi alcançado a vazão inicial em nenhum dos testes.

- 2- Análises reológicas e físico-químicas de suco padronizado;
- 3- Determinação da massa molar da pectina do suco padronizado, através da medida da viscosidade intrínseca;

A extração foi realizada em 300 mL de suco padronizado com 2% de polpa, na proporção de 1:3 (volume:volume) em álcool doméstico. O material flotado em solução alcóolica, com características de substâncias pécticas foi separado de acordo com metodologia descrita para a separação de pectinas.(CHAPLIN e KENNEDY, 1987). A viscosidade relativa foi obtida através de um viscosímetro capilar, e posteriormente convertida a viscosidade reduzida para obtenção da viscosidade intrínseca.

- 4- Testes de ultrafiltração, nas pressões de 25, 50 e 75 psi, com o suco padronizado e tratado com a enzima;

Primeiramente a 25 psi, depois 50 psi e logo em seguida 75 psi, em cada teste a membrana foi limpa com água e resconstituída sua vazão inicial.

- 5- Análises reológicas e físico-químicas do suco padronizado e tratado com a enzima.

#### 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1 - Caracterização reológica e físico-química do suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático

O suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático, teve a sua reologia e uma série de parâmetros físico-químicos analisados. Os resultados são apresentados na **tabela 4.1**.

**Tabela 4.1: Caracterização do suco de acerola padronizado com 2% de polpa**

<i>Análise</i>	<i>Não Tratado</i>	<i>Tratado</i>
<b>pH</b>	3,5	3,5
<b>Acidez Total Titulável(%)*</b>	0,83	0,80
<b>° Brix</b>	7,5	7,2
<b>Brix/ Acidez Total Titulável (%)</b>	9,03	9,00
<b>Açúcares Redutores (%)</b>	3,30	4,90
<b>Açúcares Não Redutores (%)</b>	1,10	1,50
<b>Açúcares Totais (%)</b>	4,40	6,40
<b>Fibras (%)</b>	0,20	0,20
<b>Ácido Ascórbico (mg/mL) pela AOAC</b>	23,31	30,00
<b>Ácido Ascórbico (mg/mL) pelo CLAE</b>	20,24	26,00
<b>Polpa Suspensa (%)</b>	2,0	2,0
<b>Sólidos Totais (%)</b>	0,85	0,85
<b>Massa Específica (g/mL)</b>	1,1	1,1
<b>Gordura (%)</b>	0,09	0,05
<b>Pectina( Pectato de Cálcio) (%)</b>	0,20	0,40
<b>Carboidrato Total(mg/100mL)</b>	44,9	56,0
<b>Pectina(Ácido urônico) (mg/100mL)</b>	18,1	74,0
<b>Glucose (mg/mL)</b>	1,73	0,48
<b>Frutose (mg/mL)</b>	3,52	0,99
<b>Viscosidade (cp)</b>	1,23	1,21
<b>Cor (APHA)</b>	2695	2695
<b>Turbidez(FAU)</b>	840	840
<b>Absorbância(%T)</b>	4,05	4,05

\*Equivalente ao ácido málico

Estes parâmetros são comumente empregados na padronização de sucos, pois permitem avaliar características organolépticas e nutricionais dos mesmos.

A porcentagem de polpa do suco padronizado foi fixada em 2% com o objetivo de garantir que o material de partida apresentasse teor de sólidos totais abaixo de 2%, uma exigência da membrana, e com isto a quantidade de sólidos suspensos também foi reduzida.

O teor de sólidos solúveis varia de acordo com o grau de maturação, variedade, localização e cuidados culturais.

#### **4.1.1 – Comparação dos resultados obtidos nas análises físico- químicas do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático com os da literatura**

Os resultados obtidos para o suco de acerola padronizado sem tratamento foram comparados com os valores da literatura e apresentaram um bom nível de concordância:

- O valor de pH obtido (3,5) é similar aos valores de 3,3 e 3,7 encontrados respectivamente por ROCHA (1988) e por MATSUURA (1994).
- O valor de ° Brix obtido (7,5) é semelhante aos valores de 6,0 e 7,5 relatados respectivamente por ROCHA (1988) e por MATSUURA (1994).
- O valor de 0,83 % obtido para a acidez total titulável é concordante com o de ROCHA (1988) e de ASENJO e MOSCOSO (1950) respectivamente 0,80% e 0,91%, embora MATSUURA (1994) tenha encontrado valores maiores (1,76%).
- Açúcares redutores (3,30%), não-redutores (1,10% ) e açúcares totais (4,40%), estão de acordo com valores de ASENJO (1959), que são 3,20% para os redutores e 5,00% para os açúcares totais e de MATSUURA (1994) 3,32% para os redutores, 1,16% para os não redutores e 4,48% para os totais.
- O valor de fibras (0,20%) é semelhante ao de MUSELL et al (1950) que citam valores na faixa de 0,03% a 0,18%, ao contrário de DERSE e ELEHJEM (1954), que determinaram 0,43%.
- Quanto ao ácido ascórbico, mesmo com a pequena diferença obtida entre os métodos AOAC (23,31 mg/mL) e CLAE (20,24 mg/mL), estes valores são superiores aos obtidos por ASENJO e MOSCOSO (1950), FRANÇA (1998) e MATSUURA (1994) respectivamente 11,00 mg/mL, 15,00 mg/mL e 13,64 mg/mL. Sabemos que esse parâmetro depende muito da espécie e conservação da acerola.

- O valor de gordura obtido (0,20%), como era de se esperar é pequeno, como relata MATSUURA (1994), que obteve 0,24 %.
- O teor de carboidratos totais obtido (44,9 mg/mL) é semelhante aos teores de 46,0 mg/mL e 56,5% mg/mL relatados respectivamente por BROWN (1966) para acerola, e por HEATHERBELL (1977) para maçã.
- O valor de pectina, obtido pelo método de pectato de cálcio (0,20 por MATSUURA (1994) pelo mesmo método, um valor de 0,59% no suco de acerola.

#### **4.1.2 – Comparação entre os resultados obtidos nas análises reológicas e físico-químicas para o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático e com tratamento enzimático**

- Os valores obtidos para o pH, Brix, acidez total titulável, fibras, sólidos totais, densidade, cor, turbidez e absorvância no suco padronizado sem tratamento, foram semelhantes aos obtidos para o suco padronizado com tratamento enzimático.
- Os valores de vitamina C (ácido ascórbico) 20,24 mg/mL pelo método CLAE e 23,31 mg/mL pelo método AOAC, do suco sem tratamento, não podem ser comparados com os valores obtidos de 26,0 mg/mL pela CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) e 30,0mg/mL pelo método AOAC para o suco tratado, porque as amostras ficaram estocadas por tempos diferentes e em lugares distintos. Sabe-se segundo MATSUURA (1994) que as amostras perdem o ácido ascórbico se não forem bem acondicionadas.
- Açúcares, como frutose e glucose foram inferiores, quando comparados aos suco natural sem tratamento. Devido ao descongelamento contínuo de um mesmo galão de amostra, pode ter ocorrido a formação de microorganismo que consumiram parte destes açúcares.
- Os valores de açúcares redutores (4,90%) e não redutores (1,50%) na amostra de suco com tratamento foram aumentados se comparados ao suco padronizado sem tratamento com valores de açúcares redutores (3,30%) e não redutores (1,10%), comprovando a atividade da enzima. O mesmo se aplica aos valores de carboidratos totais, e pectina.
- O comportamento reológico, do suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático com este teor de polpa, é newtoniano e apresenta viscosidade absoluta ou dinâmica próxima à da água, 1,23cp e 1,21cp respectivamente. Vale ressaltar uma ligeira diminuição da viscosidade, devido ao tratamento enzimático. Segundo BURNS

(1991) o tratamento enzimático quebra a pectina em moléculas menores e conseqüentemente a viscosidade diminui.

- O valor de gordura no suco já era muito pequeno (0,09%) e diminuiu um pouco mais, para 0,05%, com o tratamento.

#### ***4.2- Resultados obtidos com o suco padronizado sem e com tratamento enzimático na ultrafiltração***

Devido à especificação da membrana, que suporta a pressão máxima de 100 psi, foram escolhidas para teste três pressões distintas, 25, 50 e 75 psi, evitando-se assim os extremos, com o objetivo de conservar a membrana por mais tempo. Para cada teste foram verificadas as variações no comportamento do fluxo de filtrado com o tempo e nas características reológicas e físico-químicas do filtrado e retentado. Os testes foram realizados com o suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático.

##### **4.2.1- Comparação do comportamento da vazão de filtrado com o tempo para o suco de acerola padronizado sem e com tratamento enzimático nas pressões de 25, 50 e 75 psi**

Na **figura 4.1** temos o comportamento do fluxo de filtrado a 25, 50 e 75 psi em função do tempo, para o suco padronizado sem tratamento enzimático. Nota-se que os fluxos iniciais foram em torno 45, 32 e 45 L/hm<sup>2</sup>, realizadas respectivamente em 25, 50 e 75 psi. O fluxo estabilizou em 15 L/ hm<sup>2</sup> para a pressão de 25 psi e 20 L/ hm<sup>2</sup> e 25 L/ hm<sup>2</sup> para os experimentos realizados sob 50 e 75 psi. Portanto, o aumento de pressão de 25 para 50 psi teve influência positiva sobre o fluxo de filtrado, enquanto que de 50 para 75 psi não houve grande interferência.

O fluxo inicial de filtrado foi de 32 L/ hm<sup>2</sup> a 50 psi, contra 45L/ hm<sup>2</sup> a 25 psi; esta redução do fluxo inicial do filtrado com o aumento de pressão poderia ser justificada por um processo de limpeza não eficiente, verificado através da medida de vazão de água a cada limpeza da membrana, nas nos teste com variação de pressão.

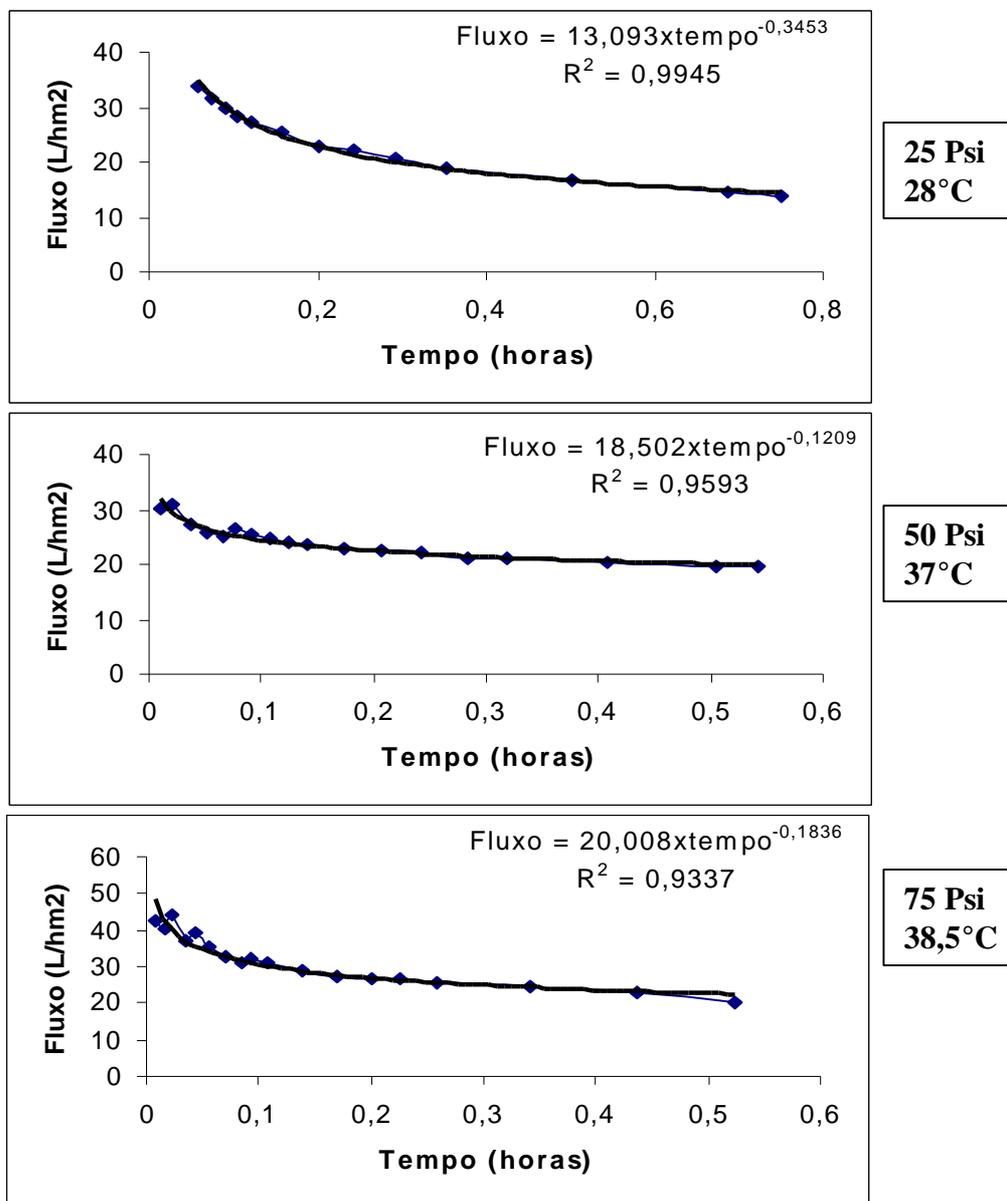


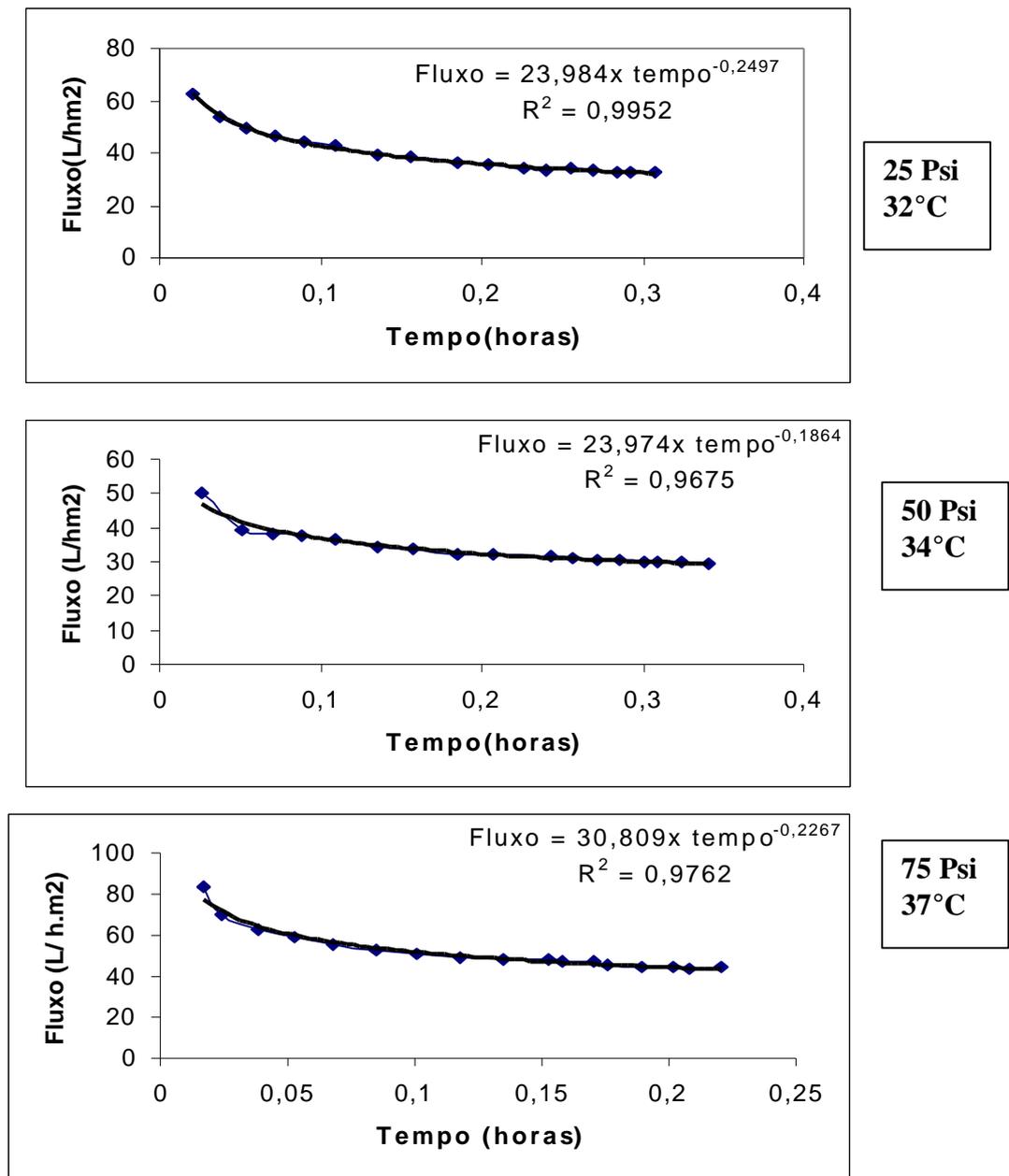
Figura 4.1: Comportamento do fluxo de filtrado com o tempo para o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático nas pressões de 25, 50, 75 psi

Nos experimentos realizados sob diferentes valores de pressão um aspecto relevante foi a dificuldade encontrada para a realização da limpeza da membrana e recuperação do fluxo de filtrado inicial. Com o objetivo de identificar a substância ou substâncias que estariam dificultando o processo de limpeza, amostras dos lavados foram concentradas em rota-evaporador, e submetidas a uma série de análises para identificação do material impregnado na membrana. Tais análises, como por exemplo, a dosagem de ácidos urônicos, revelaram a presença de pectinas mesmo após a passagem de grandes volumes de água pela membrana. O fato da limpeza com solução de hidróxido de sódio ter se mostrado mais efetiva, confirma a natureza péctica da substância impregnada na mesma. Isto nos levou à realização de testes para caracterização das substâncias pécticas de acerola (**item 4.3**) e ainda à realização de testes com o suco de acerola padronizado com 2% de polpa e tratado enzimaticamente com pectinase fornecida pela Novo Nordisk, objetivando melhorar o fluxo de filtrado, recuperação de sólidos de baixa massa molar e facilitar o processo de limpeza da membrana.

Na **figura 4.2** temos o comportamento do fluxo de filtrado a 25, 50 e 75 psi em função do tempo, para o suco padronizado com tratamento enzimático. Nota-se que os fluxos iniciais foram em torno 65, 52, 90 L/ hm<sup>2</sup> realizadas respectivamente em 25 psi, 50psi e 75 psi. O fluxo estabilizou em 40 L/ hm<sup>2</sup>, para a pressão de 25 psi, 45 L/ hm<sup>2</sup> para a pressão de 50 psi e 50 L/ hm<sup>2</sup> para os experimentos realizados a 75 psi. Portanto, o aumento de pressão de 25psi para 50psi e depois para 75 psi teve influência positiva sobre a fluxo de filtrado, no caso do suco tratado.

Fenômenos como “fouling” e a polarização de concentração aliados às características do suco de acerola podem ser os responsáveis pela queda do fluxo de filtrado com o tempo no suco padronizado sem tratamento enzimático. As moléculas de pectinas poderiam ser em parte as responsáveis por tal fenômeno, já que individualmente passariam pelo poro da membrana, mas com a aglomeração de suas moléculas, há a formação de uma camada impossibilitando uma fluxo razoável ao longo do tempo, inclusive impregnando a membrana. No caso do suco sem tratamento a queda do fluxo de filtrado se deve principalmente aos fenômenos de “fouling” polarização.

As amostras do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático, no início do teste estavam a temperatura ambiente mas durante a ulfiltração verificou-se um aumento na temperatura do sistema com a pressão: 28 °C - 25 psi, 37°C – 50 psi e 38,5 °C - 75 psi. O mesmo aconteceu com as amostras do suco de acerola padronizado com tratamento enzimático: 32 °C - 25 psi, 34°C – 50 psi e 37°C - 75 psi. Isto devido às forças de atrito.



**Figura 4.2:** Comportamento da vazão com o tempo para o suco de acerola padronizado com tratamento enzimático nas pressões de 25, 50, 75 psi

#### **4.2.2 - Comparação entre as propriedades reológicas e físico-químicas do suco de acerola padronizado sem e com tratamento com os retentados e filtrados nas diversas pressões de operação**

Na **tabela 4.2** temos as propriedades reológicas e físico-químicas do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático, do retentado e do filtrado nas diversas pressões de operação. Os mesmo parâmetros são apresentados na **tabela 4.3**, só que para o suco com tratamento enzimático.

Observou-se para ambos os sucos:

- O comportamento das propriedades medidas de pH; acidez total titulável, que mede o grau de maturação da fruta; Brix; fibras; polpa; densidade; gordura; cor; turbidez e absorvância do retido e filtrado nas diversas pressões não se alteraram com o tratamento enzimático.
- Durante cada teste a temperatura aumentou com o aumento de pressão. Comparando-se o teor de ácido ascórbico no suco com a soma dos teores no retido e no filtrado, constata-se que não houve degradação significativa do mesmo durante cada teste.

Para o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático:

- Houve a retenção total da polpa suspensa e cerca de 90% das substâncias pécticas. Portanto, a ultrafiltração reduziu sensivelmente a presença no filtrado de substâncias que têm influência sobre a vazão e o comportamento reológico do fluido. Assim evidentemente, a viscosidade do retido é maior quando comparada com as viscosidades do suco e do filtrado. Os valores referentes à aparência que são enormemente influenciados pela quantidade de polpa, como cor, turbidez e absorvância foram maiores no retido. O aumento de pressão de 25 para 75 psi não teve efeito sobre a recuperação de polpa no filtrado e nem aumento de recuperação para as substâncias pécticas no filtrado.
- Considerando-se o ponto de corte da membrana, como fator principal pela não recuperação de pectinas no filtrado, concluímos que as substâncias pécticas apresentam valores de massa molar média superiores a 30.000 daltons, que é o ponto de corte da membrana, ou então estão na forma de agregados supramoleculares com massa molar superior ao ponto de corte da membrana. Substâncias pécticas podem formar agregados superiores a 500.000 daltons segundo MALOVIKOVA, (1973).

**Tabela 4.2: Parâmetros reológicos e físico-químicos do suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático e de seus retentados e filtrados nas respectivas pressões**

<i>Análise</i>	<i>Inicial</i>	<i>R25</i>	<i>R50</i>	<i>R75</i>	<i>F25</i>	<i>F50</i>	<i>F75</i>
<b>pH</b>	3,5	3,7	3,6	3,7	3,8	3,7	3,8
<b>ATT(%)*</b>	0,83	0,82	0,83	0,82	0,81	0,83	0,82
<b>Brix</b>	7,5	6,88	6,65	6,78	4,74	4,61	4,71
<b>Brix/ A T T(%)</b>	9,03	8,39	8,01	8,27	5,85	5,55	5,74
<b>Açúcares Redutores (%)</b>	3,30	1,00	0,90	1,01	3,00	2,80	3,00
<b>ANR (%)</b>	1,10	0,28	0,21	0,31	0,98	0,90	0,98
<b>Açúcares Totais (%)</b>	4,40	1,28	1,11	1,32	3,38	3,17	4,08
<b>Fibras (%)</b>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,01	0,01	0,01
<b>AA(mg/mL) pela AOAC</b>	23,31	16,03	11,01	20,01	24,78	23,99	20,31
<b>AA(mg/mL) por CLAE</b>	20,24	15,94	7,38	21,02	40,29	33,69	33,69
<b>Polpa Suspensa (%)</b>	2,0	2,9	2,7	2,8	0,0	0,0	0,0
<b>Sólidos Totais (%)</b>	0,85	0,70	0,77	0,71	0,25	0,06	0,23
<b>Massa Específica (g/mL)</b>	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
<b>Gordura (%)</b>	0,09	0,07	0,06	0,08	0,01	0,02	0,02
<b>P( Pectato de Cálcio) (%)</b>	0,20	0,24	0,28	0,27	0,05	0,04	0,05
<b>CT (mg/100mL)</b>	44,9	41,0	40,5	34,7	40,9	34,7	23,0
<b>Ác. Urônico (mg/100mL)</b>	18,1	22,0	28,7	24,9	4,69	3,97	3,56
<b>Glucose (mg/mL)</b>	1,73	1,75	1,23	0,99	1,32	0,24	1,38
<b>Frutose (mg/mL)</b>	3,523	3,384	2,278	2,755	3,811	0,872	1,526
<b>Viscosidade (cp)</b>	1,23	1,81	1,32	1,41	1,04	1,11	1,12
<b>Cor (APHA)</b>	2695	2231	812	2255	1375	1507	1901
<b>Turbidez(FAU)</b>	840	599	659	791	180	180	272
<b>Absorbância(%T)</b>	4,05	3,84	3,93	3,94	1,99	2,00	2,60

\*Equivalente ao ácido málico

Inicial- a alimentação

R 25 e F 25 material retido e filtrado pela membrana a 25 psi e 28 °C

R 50 e F 50 material retido e filtrado pela membrana a 50 psi e 37 °C

R 75 e F 75 material retido e filtrado pela membrana a 75 psi e 38,5 °C

ANR- Açúcares não redutores

CT-Carboídratos totais

ATT- Acidez total titulável

AA- Ácido Ascórbico

P- Pectina

**Tabela 4.3: Parâmetros reológicos e físico-químicos do suco de acerola padronizado com tratamento enzimático e de seus retentados e filtrados nas respectivas pressões**

<i>Análise</i>	<i>Inicial</i>	<i>R25</i>	<i>R50</i>	<i>R75</i>	<i>F25</i>	<i>F50</i>	<i>F75</i>
<b>pH</b>	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
<b>ATT(%)*</b>	0,80	0,81	0,80	0,80	0,81	0,80	0,80
<b>Brix</b>	7,20	7,10	7,10	7,10	4,12	4,24	4,11
<b>Brix/ A T T(%)</b>	9,00	8,76	8,87	8,87	5,08	5,27	5,13
<b>Açúcares Redutores (%)</b>	4,90	1,08	1,00	0,98	4,10	4,07	4,01
<b>ANR (%)</b>	1,50	0,14	0,21	0,22	1,20	1,30	1,30
<b>Açúcares Totais (%)</b>	6,40	1,22	1,21	1,20	5,30	5,37	5,31
<b>Fibras (%)</b>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,01	0,01	0,01
<b>AA(mg/mL) pela AOAC</b>	30,00	15,01	28,03	11,05	27,01	11,20	15,01
<b>AA(mg/mL) por CLAE</b>	26,00	30,00	10,00	5,48	28,00	10,44	15,38
<b>Polpa Suspensa (%)</b>	2,0	1,9	1,9	1,9	0,0	0,0	0,0
<b>Sólidos Totais (%)</b>	0,85	0,70	0,77	0,71	0,25	0,24	0,23
<b>Massa Específica (g/mL)</b>	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
<b>Gordura (%)</b>	0,05	0,04	0,04	0,04	0,01	0,01	0,02
<b>P( Pectato de Cálcio) (%)</b>	0,4	0,4	0,4	0,4	0,02	0,01	0,02
<b>CT (mg/100mL)</b>	56	56	55	55	41	42	43
<b>Ác. Urônico (mg/100mL)</b>	74	74	73	74	5,61	5,01	5,01
<b>Glucose (mg/mL)</b>	0,48	0,47	0,12	1,21	0,89	0,28	0,17
<b>Frutose (mg/mL)</b>	0,99	0,610	0,189	1,916	1,328	0,379	0,290
<b>Viscosidade (cp)</b>	1,21	1,50	1,30	1,05	1,02	1,10	1,10
<b>Cor (APHA)</b>	2695	2221	2261	2280	1352	1402	2001
<b>Turbidez(FAU)</b>	840	598	650	784	180	181	199
<b>Absorbância(%T)</b>	4.05	3.79	3.79	3.80	1.95	2.00	2.83

\*Equivalente ao ácido málico

Inicial- a alimentação

R 25 e F 25 material retido e filtrado pela membrana a 25 psi e 32 °C

R 50 e F 50 material retido e filtrado pela membrana a 50 psi e 34 °C

R 75 e F 75 material retido e filtrado pela membrana a 75 psi e 37 °C

ANR- Açúcares não redutores

CI-Carboidratos totais

ATT- Acidez total titulável

AA- Ácido Ascórbico

P- Pectina

Para o suco de acerola padronizado com tratamento enzimático:

- A polpa foi totalmente retida e não houve aumento da recuperação de substâncias pécnicas no filtrado como se poderia esperar. Ocorreu aumento da recuperação de ácidos urônicos no permeado o que indica que houve hidrólise, ou seja ocorreu redução na massa molar média das substâncias pécnicas, mas não o suficiente para que pudessem permear a membrana.
- A quantidade de vitamina C ou ácido ascórbico manteve-se acompanhando a tendência do teste sem a enzima, não alterando-se sua quantidade expressivamente.
- Açúcares redutores e não-redutores tiveram um aumento inicial devido à ação enzimática com passagem pela membrana. Como no caso do suco não tratado enzimaticamente, a maior quantidade foi mantida no filtrado.
- Carboidratos totais e substâncias pécnicas tiveram um aumento da mesma forma se compararmos ao teste sem tratamento.
- Em relação à recuperação de substâncias de baixa massa molar, não houve aumento em comparação aos testes realizados com suco sem tratamento enzimático, exceto o aumento do teor de ácido urônico plenamente justificado pela ação da pectinase.
- O tratamento com a enzima pectinase não permitiu a recuperação de parte das substâncias pécnicas no filtrado, sendo suficiente apenas para promover uma mudança, possivelmente nos agregados de pectina, facilitando enormemente o processo de limpeza da membrana.
- Outro parâmetro que indica que houve redução na massa molar média das substâncias pécnicas, foi a redução de viscosidade observada tanto no retido como no filtrado, em relação aos valores observados para retidos e filtrados dos experimentos em que os sucos não foram tratados enzimaticamente.
- Foram efetuadas análises de açúcares redutores, ao longo do tempo, mostrando que não houve mudança desse parâmetro, comprovando que a enzima parou de agir.

#### ***4.3- Determinação da massa molar da pectina através da viscosidade intrínseca***

No procedimento experimental da caracterização da pectina do suco de acerola foi extraída de 300 mL de suco padronizado, obtendo-se desse material uma massa de 1,1553g.

**Tabela 4.4: Rendimento de pectina obtida por extração alcóolica do suco de acerola**

<i>Massa extraída (g)</i>	<i>*Rendimento (%)</i>
1,1553	5,65

Rendimento calculado em relação ao teor de sólidos totais

Na **tabela 4.5** demonstra algumas análises físico-químicas da pectina do suco padronizado de acerola. A porcentagem de carboidrato totais foi alta, e desta porcentagem, 59,83% é ácido urônico.

**Tabela 4.5: Análise de pectina obtida do suco de acerola**

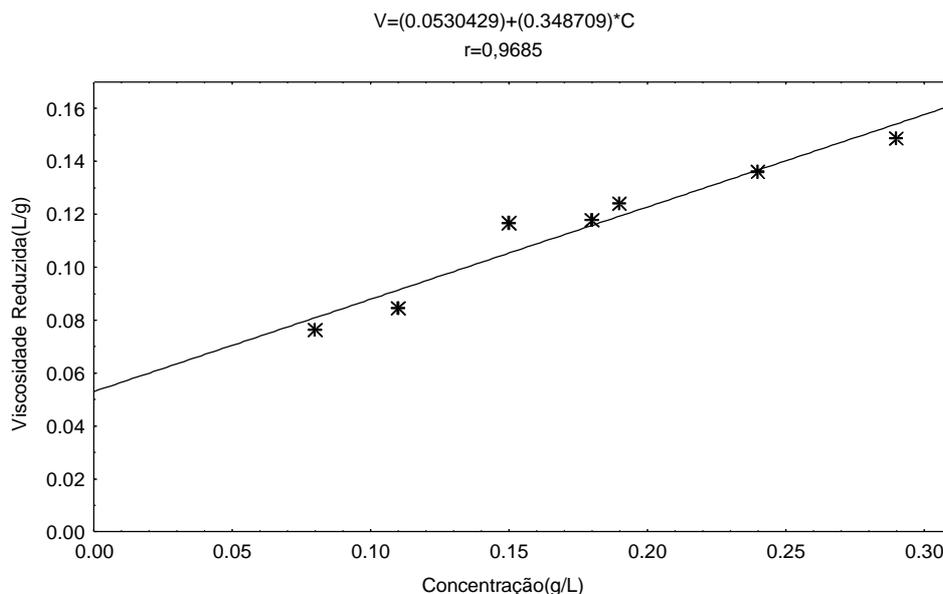
<i>Carboidratos Totais (%)</i>	<i>Ácido Urônico (mg/100mL)</i>	<i>Viscosidade Intrínseca(mL/g)</i>	<i>Rotação Óptica (50mg/100mg)</i>	<i>Sólidos Totais (%)</i>
84,54	59,83	53,3	140,7	6,81

Para uma viscosidade intrínseca de 53mL/g, foi determinada uma massa molar de 14547, portanto um valor abaixo do ponto de corte da membrana, o que reforça a hipótese de que as substâncias pécicas durante o processo de clarificação formam agregados supramoleculares com massas molares muito acima do ponto de corte da membrana.

Na **figura 4.3** temos o comportamento da viscosidade relativa (L/g) pela concentração de pectina (g/L), em solução de NaCl. A viscosidade intrínseca é obtida pela aproximação da concentração relativa a zero. Portanto a viscosidade intrínseca é obtida pela substituição da equação citada na figura.

A massa de pectina isolada através da precipitação alcoólica, mostra que a mesma representa cerca de 6% do teor de sólidos totais; portanto através da precipitação alcóolica e gravimétrica foi determinado o teor de pectina de 0,38% para o suco de acerola padronizado com 2% de polpa, o que está de acordo com os valores determinados pela análise de pectina em base de pectato de cálcio (0,2%).

O teor de carboidratos totais, 84,54% mostra que a substância isolada trata-se de um carboidrato.



**Figura 4.3: Determinação da viscosidade intrínseca para a pectina obtida a partir do suco de acerola padronizado com 2% de polpa**

Segundo HOAGLAND et al. (1997), a recuperação de substâncias pecticas cítricas com massa molar de 79 K Daltons a 111 K Daltons, foi de 1,6%, quando ultrafiltrada em membrana com ponto de corte ou peso molecular de 500.000 Daltons.

A análise de ácidos urônicos mostra ainda que a mesma trata-se de uma substância pectica com conteúdo relativamente baixo de ácidos urônicos, o que é consistente com o valor de rotação óptica determinado.

Segundo ANGER e BERTH (1986), citando a equação de Owens a massa molecular da pectina pode ser determinada de acordo com a seguinte equação:

$$\{\eta\}=1,4 \times 10^{-4} M^{1,34} \quad (4.1)$$

Onde:

$\eta$  = é a viscosidade intrínseca da pectina

M = a massa molecular da pectina

A viscosidade intrínseca  $\{\eta\}$ , é um parâmetro do viscosímetro obtido a partir de soluções diluídas e em condições de fluxo newtoniano, que é aquela situação onde se considera que as moléculas estão isoladas umas das outras, não ocorrendo nenhum tipo de interação entre as mesmas (COSTA, 1997).

#### 4.4 – Avaliação do processo de limpeza realizado na membrana

Um dos critérios para se avaliar a eficiência do processo de limpeza numa membrana é a determinação da vazão de filtrado com água destilada após cada teste e a comparação desta com a vazão de filtrado com água destilada inicial, ou seja antes do teste. Assim, com um processo eficiente, a limpeza permitiria que após os testes, a recuperação da vazão inicial de água na membrana.

Inicialmente foi medida a vazão de filtrado com água a 25 psi, em seguida realizou-se o teste com o suco de acerola padronizado sem tratamento enzimático. Terminado o teste a membrana sofreu processo de limpeza rotineiro, de acordo com as especificações do fabricante (Millipore) e novamente foi medida a vazão de filtrado com água. Este mesmo procedimento foi realizado com o suco de acerola padronizado com tratamento enzimático. Os resultados obtidos podem ser vistos na **tabela 4.6**.

**Tabela 4.6: Vazões de água permeada na membrana de ultrafiltração**

Pressão (psi) (antes e após o suco natural)	<i>Vazão média da água inicial (L/min)</i>	<i>Vazão média da água depois do processo com acerola (L/min)</i>
0	1,77	0,63
25	2,49	0,66
Pressão (psi) (Antes e após o suco tratado coma enzima)	<i>Vazão média da água inicial (L/min)</i>	<i>Vazão média da água depois do processo com acerola (L/min)</i>
0	0,6562	1,52
25	0,952	2.11

Observa-se que:

- No caso do suco sem tratamento enzimático houve uma diminuição drástica na vazão média de filtrado de água inicial. A reconstituição da vazão inicial da membrana, não foi possível mesmo com o emprego de grandes volumes de água e de soluções de limpeza, muito além daqueles que normalmente são empregados em processos de limpeza.
- No caso do suco com tratamento enzimático houve um aumento na vazão média de filtrado de água inicial, atingindo valores próximos aos iniciais antes da utilização da membrana com o suco sem o tratamento enzimático. A reconstituição da vazão inicial

---

da membrana foi possível devido à enzima contida no suco quebrar os aglomerados de pectina incrustrados na mesma.

## **5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES**

### **5.1- Conclusões**

- Na clarificação por membrana do suco de acerola com 2% de polpa sem e com tratamento enzimático há um aumento nos fluxos de filtrado quando se aumenta a pressão, levando-se em consideração o aumento da temperatura do sistema..
- Nos testes de clarificação por membrana as amostras do suco de acerola com 2% de polpa, sem e com tratamento enzimático, verificou-se um aumento de temperatura, devido ao aumento da energia do sistema, que não afetou as propriedades físico-químicas das amostras.
- Fenômenos como “fouling” e a polarização de concentração não podem ser combatidos integralmente, sendo responsáveis portanto pela queda na vazão do filtrado com o tempo no suco padronizado, independente do tratamento enzimático.
- A massa molar da pectina foi determinada e é inferior ao ponto de corte da membrana, sugerindo que a mesma passaria por ela. Devido à capacidade de formar aglomerados esta substância forma uma camada gel, bloqueando o fluxo na membrana. Portanto a pectina da acerola colabora de forma definitiva na diminuição da vazão de filtrado na membrana.
- O uso da enzima pectolítica no suco de acerola com 2% de polpa, colaborou para o aumento da vazão de filtrado e o bom andamento da qualidade da própria membrana. Não afetou os parâmetros físicos-químicos, como a vitamina C e Brix. Exceto a viscosidade, que como era de se esperar diminuiu com a atividade da mesma, incluindo-se ácidos urônicos.
- Com a formação da camada gel, os métodos de limpeza tradicionais informados pelo fornecedor da membrana, como o uso de soluções de NaOH ou HCl são ineficientes, já que foi necessário a hidrólise enzimática da pectina para retorno do fluxo inicial da membrana depois da ultrafiltração com o suco de acerola padronizado sem tratamento com a enzima pectolítica.
- Foram feitas medidas de açúcares redutores da alimentação, do filtrado e do retentado nos testes em que o suco padronizado tratou enzimaticamente, ao longo do tempo. Estes parâmetros permaneceram inalterados, comprovando que a enzima não permaneceu ativada ou havia mais substrato sob a qual poderia agir.

### *5.2- Sugestões*

- Comparação dos métodos de concentração, por evaporação e osmose inversa.
- Seria importante fazer a concentração do filtrado obtido nesse trabalho por osmose inversa, com posterior adição ao retido no processo de ultrafiltração e sua comparação com o processo tradicional de concentração.
- Poderia ser verificada a melhor condição de trabalho variando a temperatura nos testes, lembrando-se do limite operacional de temperatura da membrana. Poderiam ser definidos parâmetros, tais como a variação de vazão, comportamento da vitamina C e açúcares, na utilização da membrana de celulose regenerada.
- Sendo a acerola uma fruta de alta qualidade nutritiva e com aumento na utilização de seu suco, o estudo do comportamento de características físico-químicas em outros tipos de membrana seria interessante, com outros formatos geométricos e outros materiais que não acetato de celulose regenerada. Assim, a viabilidade do método de concentração do suco de acerola seria concluída pela aplicação do processo de membranas.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A .O .A .C . (Association of Official Analytical Chemists), 1984, *Official methods of analysis*;14 ed., edited by Sidney Williams, Arlington.
- ALVES, R.E. e DONADIO, L.C, 1992, *Cultura da Acerola*, In:. Curso de Fruticultura tropical, F.C.A.J., p 268.
- AMAR, R.B., GUPTA B.B., JAFFRIN M.Y., 1990, “Apple juice clarification using mineral membrane: fouling control by backwashing and pulsating flow”, *Journal of food science*, v 55, pp 1620-1625.
- ANGER, H. and BERTH G., 1986, “Gel permeation chromatography and the mark-houwing relation for pectins with different degrees of esterification”, *Carbohydrate Polymers*, (6), pp 193-202.
- ARAGÃO, C. IKEGAKI , M., SATO H., OLIVEIRA I.M., PARK Y.K., 1996, “Determination of ascorbic acid concentration in acerola and Camu-Camu Fruit Juices by ascorbate oxidase method”, *Ciencia Tecnologia Alimento*, 16 (2), (jul-set), pp 175-176.
- ARAÚJO, P.S.R. e MINAMI K., 1994, *Acerola*, Fundação Cargill, Campinas.
- ASENJO, C. F. and FREIRE de GUZMÁN, S., 1946, “The high ascorbic content of the West Indian Cherry”, *Science*, v 103, p 219.
- ASENJO, C. F. and MOSCOSO, C.G., 1950, “Ascorbic acid content and other characteristics of West Indian Cherry”, *Food Research*, 15, pp 103-106.
- ASENJO, C.F, 1959, “Aspectos químicos y nutritivos de la acerola ( *Malighia punicifolia* L.)”, *Ciencia* ,19 (6/7), pp 109-118.
- ASENJO, C.F., 1959, “Vitamin C in acerola and rose hips”, *Journal Agricultural of the University of Puerto Rico*, 43, pp 212-213.

- ASENJO, C.F. , 1980, *Acerola*, In : NAGY S. & SHAW, P. E. Tropical and Subtropical fruit composition, properties and uses, Westport, AVI, pp 314-374.
- BAKER, R. A ,1976, “Clarification of citrus juice with polygalacturonic acid”, *Journal of food science*, 41, pp 1198-1200.
- BARROS, S.,HERNANDEZ, E., CHEN C.S.,SHAW P.E, CARTER R.D., ,1992, “Ultrafiltration of orange juice: effect on soluble solids, suspended solids, and aroma”, *J. Agric. Food Chem.*, 40, pp 986-988.
- BENDER, M.L. and BRUBACHER L.J., 1977, “Catálisis y acción enzimática, editorial reverté s.a., España.
- BENSIMON, C., 1991, “Ojo al kiwi: ilegal la Malpighia punicifolia”, *Ceres-Revista de la FAO*, 132: 9-10.
- BLANCK, R.G. & EYKAMB, E., “Fruit juice ultrafiltration”, *AIChE. Symposium Series* 82, 250 : 59-65,1986.
- BRANCO, I.G., 1995, *Suco de laranja concentrado-comportamento reológico a baixas temperaturas*, Tese de M.Sc, FEA, Unicamp, Campinas.
- BIOTIMES, 1992, “Jucosa extrai o sabor refrescantes das maçãs”, *Revista trimestral do Novo Nordisk bioindustrial .group*, NOVO NORDISK, nº 1, março, pp10-11.
- BIOTIMES, 1993, “A ultrafiltração na Polônia tem um melhor desempenho com enzimas”, *Revista trimestral do Novo Nordisk bioindustrial .group*, NOVO NORDISK, NOVO NORDISK, nº 4, dezembro, pp12-13.
- BIOTIMES, 1994, “A ultrafiltração melhorou com a pectinase ultra SP”, *Revista trimestral do Novo Nordisk bioindustrial .group*, NOVO NORDISK Revista trimestral do Novo Nordisk bioindustrial .group, NOVO NORDISK, nº 2, junho,p8-9.

- BIOTIMES,1993, “Citrozyn CEO dá mais óleo usando menos água”, *Revista trimestral do Novo Nordisk bioindustrial .group*, NOVO NORDISK, n° 1, março, pp4-5.
- BLIGH, E.G. and DYER, W.J., 1959, “A rapid method of total lipid extraction and purification” *Can.J.Biochem.physi.*, 37, pp 911-917.
- BOBBIO, F. O and BOBBIO,P. A., 1995, *Introdução a química de alimentos*, 2º edição, Livraria Varela Ltda, S.P., pp 50-79,e pp 84-213.
- BRADDOCK R.J., SADLER G.D., CHEN C.S., 1991, “Reverse osmosis concentration of aqueous-phase citrus juice essence”, *Science* v 56, n° 4.
- BRADDOCK, R.J., 1982, “Ultrafiltration and reverse osmosis recovery of limonene from citrus processing waste streams”, *Journal of food science*, v 47, pp 1237-1236.
- BROWN, B.I., 1966, “Observations on physical and chemical properties of acerola fruit and purre”, *queensland journal of agriculture and animal science*, vol 23, pp 456-467.
- CABRAL, L.M.C, 1998, “Aplicação na tecnologia de membranas na indústria de alimentos”, *Revista Engenharia de Alimentos*, n° 17, pp 56-58.
- CALABRÒ, V.and DRIOLI E., 1994, “Integrated membrane operations in juice concentration”. *Workshop on membrane technology in agro-based industry*, Kuala Lumpur, Malaysia, July, 130-141.
- CÁLABRO, V., JIAO B.L., DRIOLI E, 1994, “Theoretical and experimental study on membrane distillation in the concentration of orange juice”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 33, pp 1803-1808.
- CAPANELLI G., BOTTINO A., MUNARI S., LISTER D.G, MASCHIO G., BECCHI I., 1994, “The use of membrane process in the clarification of orange and lemon juices”, *Journal of food engineering*, 21, pp 473-483.

- CAPANELLI G., BOTTINO A., MUNARI S., BALLARINO G., MIRZAIAN H., RISPOLI G., LISTER D. G., MASCHIO G., 1992, "Ultrafiltration of fresh orange and lemon juices", *Journal of texture studies*, 7, pp 518-522.
- CASADO, V., 1994, "Vitamina C em forma de fruta. Plantio de acerola aumenta no PR para abastecer indústria de suco", *Journal multirural*, out.
- CARVALHO L.M.J. de, 1994, *Clarificação de suco de abacaxi (Ananas comosus (L.) Merrill), por microfiltração e ultrafiltração para uso em refrigerantes*. Tese de M.Sc., Ciencia e tecnologia de alimentos/UFRRJ, RJ.
- CHAMCHONG M. and NOOMHORM A., 1991, "Effect of pH and enzymatic treatment on microfiltration and ultrafiltration of tangerine juice", *Journal of food science*, 14, pp 21-34.
- CHAPLIN M.F. and KENNEDY J.F., 1987, *Carbohydrate analysis*, IRL press, Oxford.
- CHERYAN, M. and ALVAREZ, J.R., 1995, *Food and beverage industry applications in membrane separation technology- Principles and applications*, Edited by R.D. Noble and S.A. Stern, Elsevier Science, BV.
- CLEIN, N.W., 1956, "Acerola Juice- The richest known source of vitamin C", *Journal of pediatrics*, 48(2), pp 140-145.
- COSTA, S.C., 1997, *Cacto Cereus peruvianus : características estruturais, reológicas e aplicações dos polissacarídeos*, Tese de D.Sc, DBQ, UFPR, Curitiba.
- COUCEIRO, E.M., 1986, "Acerola (Malpighia glabra L.) Fabulosa fonte de vitamina C natural, *Reunião Nordestina de Botânica*, 10, UFRPe, Natal.
- CROSS S., 1989, "Membrane concentration of orange juice", *Proc. Fla. state hort. Soc.*, 102, pp 146-152.

- DATTA S. and GADDIS J.L., 1997, "Dynamic and rheology of fouling cakes formed during ultrafiltration", *Separation science and technology*, 32 (1-4), pp 327-353.
- DAVIS R. H., 1995, *Theory for crossflow microfiltration*.
- DEJMEK P., 1994, "From whey microfiltration to aroma pervaporation: trying to understand", *Workshop on membrane technology in agro-based industry*, Kuala Lumpur, Malaysia, 279-290, July.
- DEL CAMPILLO, A. and ASENJO, C.F., 1957, "The distribution of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and diketogulonic acid in the acerola fruit at different stages of development", *Journal of agricultural of the University Puerto Rico*, 41, pp 161-166.
- DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SATHE, S.S.K.; SALUNKHE, D.K., 1984, "Freeze Concentration of fruit Juices", *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 20(3), pp 173-248.
- DESTEFANIS H. and GOTTIFREDI J.C., 1992, "Research activities on membrane separation process", *Workshop on membrane separation process*, Rio de Janeiro, Brazil, , 220-233, May.
- DOBSON K.M., 1994, "Overview of performance of membrane filtration systems for concentration and separation applications in food and beverages industries", *Workshop on membrane technology in agro-based industry*, Kuala Lumpur, Malaysia, 83-196, July.
- DOKO M.B., VALENTE M., JACOB M., PUECH A., 1991, "Consequences of fouling and macromolecule adsorption on to ultrafiltration membrane for pineapple juice processing", *Journal of processing engineering*, 14, pp 279-289.

- DRIOLI, E., CALABRÓ V., 1994, "Integrated membrane operations in juice concentration", *Proceedings of the asean-eu workshop on membrane technology in agro-based industry*, Kuala Lumpur, Malaysia, pp 130-141.
- DRIOLI, E., MOLINARI R., BASILE A , CATAPANO G., 1992, "Fluid management in membrane process", *Proceedings of the CEE-Brazil workshop on membrane separation process*", Rio de Janeiro, pp 487-498.
- DURÁN, L., 1991, *Controle de qualidade na indústria de alimentos*, In: Seminário de controle de qualidade na indústria de alimentos; ITAL, Campinas, p1.
- ELEUTÉRIO R.M.C and SALGADO J.M., 1997, "Estabilidade do ácido ascórbico em suco congelado de acerola (*Malpighia glabra L.*-sinônimo *M.punicifolia L.*) durante o armazenamento", *B.CEPPA*, v15, n.2, jul/dez, pp 101-112.
- FENNEMA, O R., 1982, *Introducción a la ciencia de los alimentos*, Ed Reverté v1, Barcelona.
- FITTING, K. O and MILLER C.D. , 1958, "Variation in the ascorbic content of individuals fruits of the acerola", *Hawaii farm science*, october, pp 127-129.
- FOGARTY, W.M. and WARD, P. O , 1974, "Progress in industrial microbiology", *Science*, 13, pp 59-119.
- FRANCO, G., 1992, "Tabela de composição química dos alimentos", 9º Edição, São Paulo, pp 53-58.
- FRANÇA, V. C. e NARAIN, N., 1998, "Estudo comparativo de três clones de acerola (*Malpighia emarginata*) com ênfase sobre os teores de ácido ascórbico", In: *anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, pp 1255-1257, Rio de Janeiro, 15,16 e 17 de julho.

- FREITAS, I.C., 1995, *Estudo da clarificação do suco de laranja por ultrafiltração*, Tese de M.Sc, FEA, Unicamp, Campinas.
- FREITAS I.C. e GASPARETTO C.A., 1996, “Desempenho de um módulo tubular na ultrafiltração de suco de laranja”, *XXIII ENEMP*, P3-I, 22 a 25 Outubro, Maringá.
- FULEKI, T. and FRANCIS, F.J.; 1968; “Quantitative methods for anthocianins. : extractions and determinations of total anthocianin in cranberries”, *Journal of Food Science.*; 33, pp 72-77.
- GILL W.N., WILEY D.E., FELL C.J.D., FANE A.G., 1988, “Effect of viscosity on concentration polarization in ultrafiltration”, *AIChE Journal*, v34, 9, pp 1563-1568.
- GLOVER, F.A. and BROOKER B.E., 1974, “The structure of the deposit formed on the membrane during the concentration of milk by reverse osmosis”, *Journal of dairy research*, 41, pp 89-93.
- HABERT, A C., BORGES C.P., NOBREGA R.,1996, *Processos de Separação com Membranas*, Escola Piloto em Engenharia Química, Programa de Engenharia Química, COPPE/UFRJ.
- HEATHERBELL, D.A. , SHORT J.L., STRÜBI P., 1977, “Apple juice clarification by ultrafiltration”, *Confructa*, v 22, 5/6, pp 157-169.
- HO, W.S.W. and SIRKAR K.K.,1993, *Membrane handbook*, NY.
- HOAGLAND, P.D., GORDANA K., EKKEHARD C., MARSHALL L.F.(1997), “HPSEC with Component Analysis of Citrus and Apple Pectins After Hollow Fiber Ultrafiltration”, *Journal of Food Science*, 1, volume 62, pp. 69-74.
- HORTON, B.S., 1982, “Reverse Osmosis and ultrafiltration”, *Today, Dairy Record*, November, pp 126-142.

- HOWELL J. A., 1994, "Process of fouling in the ultrafiltration and microfiltration of beverages", *Workshop on membrane technology in agro-based industry*, 142-156, Kuala Lumpur, Malaysia, July.
- HUNTER, T. C., RAO M.A, ACREE T.E., CUNNINGHAM D.G., 1987, "Reverse osmosis concentration of apple juice: flux and flavor retention by cellulose acetate and polyamide membranes", *Journal of food process engineering*, 9, pp 231-245.
- ITOUA-GASSAYE, S., DAVIN, A ;MIETTON-PEUCHOT, M , BEM AMIN, R. 1991, "Intéret des techniques à membrane dans la production de jus tropicaux (cas de jus clarifiés d'ananas) A- Evolution des flux de filtration au cour du procédé", *Fruits*, 46(3), pp 251-258,.
- ITTO,S. AIBA, M.; ISHIHATA, K, 1990, "Comparison of ascorbic acid content in acerola fruit from different production region depend on degree of maturity, and it's stability by processing" *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish,i* 37(9), pp 726-729.
- JOHNSON J.R., BRADDOCK R.J., CHEN C.S., 1992, "Flavor losses in orange juice during ultrafiltration and subsequent evaporation", *Journal of food science*, v 61, n° 3, pp 134-137.
- JONSSON G., JOHANSEN P., W. LI, 1996, "Influence of membrane fouling on ultrafiltration process", *Workshop on membrane separation process*, 265-290, Rio de Janeiro, Brazil, May.
- KIRK, D.E., MONTGOMERY M.W., KORTEKAAS, G., 1983, "Clarification of pear juice by hollow fiber ultrafiltration, *Journal of food science*, 48, pp 1663-1666.
- KÖSEOGLU S.S., LAWHON J.T., LUSAS E.W., 1990, "Use of membranes in citrus juice processing", *Food technology*, december, pp389-390.

- KUNZ W., BENHABILES A., BEM-AÏM R., 1996, "Osmotic evaporation through macroporous hydrophobic membranes: a survey of current research and applications", *Journal of membrane science*, 121, pp 25-36.
- LEDIN, R.B., 1958, "The Barbados or West Indian Cherry", *Flórida Agricultural Experiment Station*", Bulletin 594: 1-27, Flórida.
- LEHNINGER, A.L., 1976, *Bioquímica*, 2º ed., v1, Edgard Blucher, São Paulo, p 265.
- LEME Jr., FONSECA H., NOGUEIRA J.N., 1973, "Variação do teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em cereja-das-Antilhas (Malpighia punicifolia L.) liofilizada", *Archivos latinoamericanos de Nutricion*, 23(2): 207-215.
- LEUZZI U. and LICANDRO G., 1998, "Ion chromatography as a rapid method to distinguish orange juices", *Italian beverage technology*, nº 12, pp 9-13.
- LEVY, G.C., 1976, *Topics in carbon-13 NMR spectroscopy*, VII, John Wiley & Sons, NY.
- LOZANO, P.; MANJÓN, A .; CÁNAVAS, M., IBORRA, J.L., 1987, "A cross-flow reactor with immobilized pectolytic enzymes for juice clarification", *Biotech. Letters.*, 9 (12), pp 875-880.
- MADSEN R.F., 1992, "Experience with membrane filtration in the food industry", *Workshop on membrane separation process*, 277-290, Rio de Janeiro, Brazil, May.
- MALLOVIKOVA A. , MILAS M., RINAUDO M., BORSALI R., 1973, "Viscometric behavior of na-polygalacturonate in the presence of low salt content", *Journal of texture Studies*, (6), pp234-267.
- MÄNTTÄRI M, NUORTILA-JOKIEN J., NYSTRÖM M., 1997, "Evaluation of Nanofiltration Membranes for Filtration of Paper Mill Total Effluent, Filtration & Separation", *Science*, April, pp 275- 280.

- MARINO NETTO, 1986, L. *Acerola, a cereja tropical*, Nobel, São Paulo, p94.
- MATIOLI, G., 1991, *Hidrólise da lactose com enzima beta-galactosidade- modelagem cinética*, Tese de M.Sc, CCA/DTAM, UEL, Londrina.
- MATSUURA F.C.A., 1994, *Processamento e caracterização de suco integral e concentrado congelado de acerola*, Tese de M.Sc., FEA/Unicamp, Campinas.
- MATSUURA V T., BAXTER A G., SOURIRAJAN S., ,1973, “Concentration of fruit juices by reverse osmosis using porous cellulose acetate membranes”, *acta alimentaria*, 2, pp 234-256.
- MATSUURA, T., BAXTER A G., SOURIRAJAN S., 1974 “Studied on reverse osmosis for concentration of fruit juices”, *Journal of food science*, v 30, pp 704-711.
- MEDINA, B.G. and GARCIA III A., 1988, “Concentration of orange juice by reverse osmosis”, *Journal of food process engineering*, 10, pp 217-230.
- MERK, 1983, *The merk index na ancylopedia of chemical, drugs and biologicals*, tenth edition, Published by merck & C.O., Inc. Rahway, N.Y., USA.
- MIJARES, R.M., GARY L.P., NELSON D.B., McIVER R.VC., 1986, “HPLC analysis of HMF in orange juice”, *Journal of food science*, v51, 3, pp 843-844.
- MILLER, C.D., WENKAM, N.S., FITTING, K.O., 1961, “Acerola-Nutritile value and home use”, *Hawaii Agricultural Esperiment Station*, Circular 59: 1-18.
- MITCHELL J.R. and BLANSHARD J.M.V., “Rheological properties of pectate gels”, *Journal of texture studies*, 7, pp 342-351.
- MORALES A, AMUNDSON C.H., HILL JR C.G., 1990, “Comparative study of different reverse osmosis membrane for processing dairy fluids: I. permeate flux and total

- solids rejection studies”, *Journal of food processing and preservation*, 14, pp 39-58.
- MULDER, M., 1991, *Basic Principles of membrane technology*, Klumer Academic Publishers.
- MUSELL, H.E., 1950, “Composition of food plants of central america”, *Food Research*, 15: 34-52, Guatemala.
- NETO, L.G. e SOARES, J.M., 1994, *Acerola para exportação; aspectos técnicos da produção*, Embrapa, Brasília.
- NETTO, A.G. ,SOBRINHO, R.B., ARDITO, E.F.G., GARCIA E. E. C., BLEINROTH E. W., FREIRE, F.C. O, MENEZES J.B., BORDIN M.R., ALVES R.E., 1996, *Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita*, Embrapa, Brasília.
- NEVES, L. C., CABRAL, L.M.C., LEITE, S.G.F., MATTA, V.M., 1998, “Esterilização de suco de acerola por microfiltração”, *anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1818-1819, 15,16 e 17 de julho.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985, *Métodos químicos e físicos para análises de alimentos*, vol 1, 3<sup>a</sup> ed., São Paulo.
- NUNES S. P., 1992, “Ultrafiltration membranes from polymer blends and composites”, *Workshop on membrane separation process*, 117-124, Rio de Janeiro, Brazil.
- PADILLA, O I. and MCLELLAN, M.R. , 1989, “Molecular weight cut-off of ultrafiltration membranes and the quality and stability of apple juice”, *J. Food Sci.*, 54(5): 1250-1254.
- PERSON, D., 1970, *The chemical analysis of foods*, 6<sup>a</sup> ed, J& A .Chruchill, London.

- POLESELLO, A. and RIZZOLO A., 1990, "Application of HPLC to the determination of water-soluble vitamins in foods:2", *Journal of Micronutrient Analysis*, 8, pp 105-158.
- PETRUS, J.C.C., 1997, "Preparação, modificação e caracterização de membrana assimétrica para clarificação de suco de frutas", tese de D.Sc., FEA, DTA, Unicamp, Campinas.
- PUPIM, P., 1991, "Com mercado garantido a acerola ganha campo", *Journal da UEM*, abr-maio, 3:11.
- QUINTEROS, E.T.T., 1995, *Processamento e estabilidade de néctares de acerola-cenoura*, tese de M.Sc., FEA, Unicamp, Campinas.
- RAO, M.A.; ACREE, T.E.; COOLEY, H.J. and ENNIS, R.W. ,1987, "Clarification of apple juice by hollow fiber ultrafiltration: fluxes and retention of odor-active volutes", *J. Food Sci.*, 52(2), pp 375-377.
- REED, B.J.; HENDRIX JR, C.M., HENDRIX, D.L., 1988; "Quality control manual for citrus processing plants", *Intercit*; V1, Florida.
- ROCHA, I.C., 1988, "Suco de Acerola: Efeito da temperatura de pasteurização e armazenamento, Tese de Sc.M., UFPe.
- ROMBOUTS, F.M. and PILNIK W. ,1978, *Encyclopedia of Food Technology and Food Science*, v 3, Ed. A.H. Johnson-MS Peterson AVI, Westport, Connecticut, USA.
- SANCHES, J. , KANESIRO, M.A.B. ,DURIGAN, J. F. ,TOSTES, D. R. D., 1998, "Qualidade de acerolas durante o congelamento", *Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 365, Rio de Janeiro, 15,16 e 17 de julho.

- SANCHES-NIEVA, F., 1956, "Extraction, processing, canning and keeping quality of acerola juice", *Journal of Agricultural of the University of Puerto Rico*, 40, pp 86-90.
- SANTINI Jr., HUYKE A ,S.,1956, "Identification of the sugars present in fruit of the acerola Malpighia punicifolia L. by paper chromatography", *Journal of Agricultural of the University of Puerto Rico*, 40: 171-178.
- SANTOS, Z.L., FURTADO, S.M.B., FILGUEIRA, P.R., 1998, "Determinação físico-química de componentes da acerola comercializada na cidade de Natal- RN", *Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1193-1195, Rio de Janeiro, 15,16 e 17 de julho.
- SCOTT K. and R. HUGHES,1966, *Industrial membrane separation technology*, Blakie Academic & professional.
- SHEU, M.J.; WILEY, R.C. , SCHLIMME, D.V. ,1987, "Solute and enzyme recoveries in apple juice clarification using ultrafiltration", *J. Food Sci.*, 52(3), pp732-736.
- SHIRATO M. and MURASE T., 1991, "Experimental analysis of flux decline mechanism of batch ultrafiltration (filtration characteristics of gel layer)", *Filtration & separation*, march/april, pp 104-109.
- SHORT, J.L., Juice clarification by ultrafiltration. Pro-Biotech. Separation, Pro-Biotech, Out: vi,1983.
- SILVA, F.T., 1995, *Concentração de suco de laranja (citrus sinensis) por osmose inversa*, Tese de M.Sc., FEA, Unicamp, Campinas.
- SIMÃO, S., 1971, "Cereja-das-Antilhas, "Manual de Fusicultura", Ed. Ceres, pp. 477-485, São Paulo.

- SISTRUNK W.A. and CASH J.N., 1970, "Ascorbic Acid and color changes in summer squash as influenced by blanch, pH and other treatments", *Journal of food science*, vol 35, p645-648.
- THOMAS, R.L., GADDIS J.L., WESTFALL P.H., TITUS T.C., ELLIS N.D., 1987, "Optimization of apple juice production by single pass metallic membrane ultrafiltration", *Journal of food science*, v52, 5, pp1263-1266.
- THOMAS, R.L.; WESTFALL, P.H.; LOUVIERI, Z.A., ELLIS, N.D., 1986, "Production of apple juice by single pass metallic membrane ultrafiltration", *J. Food Sci.*, 51(3), pp 559-563.
- TODISCO, S., TALLARICO P., DRIOLI E., 1998, "Modelling and analysis of ultrafiltration effects on the quality of freshly squeezed orange juice", *Italian beverage technology*, n° 12, pp 3-8.
- VAN SOEST, P.J. and R.H. WINE, 1968, "Determination of lignin and cellulose in acid – detergent fiber with permanganate", *Journal of food science*, vol 51, n ° 4, pp 1045-1051.
- VATAI G. and TEKIÉ M.N., 1991, "Ultrafiltration of pectin solutions in hollow-fibre modules", *Research notes*, pp 566-568.
- VISENTAINER, J.V., VIEIRA O. A., MATSUSHITA M., SOUZA, N.E., 1997, "Caracterização físico-química da acerola *Malpighia glabra* L. produzida na região de Maringá", *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 47, pp 70-72.
- VIEIRA, F. M., 1999, *Aplicação de um processo de complexação/ultrafiltração para remoção de poluentes do efluente do branqueamento TCF (totally chlorine free)*, Tese de M.Sc, DEQ/PEQ, UEM, Maringá.
- WILSON, E.L. & D.J.W. BURNS, 1983, "Kiwifruit juice processing using heat treatment techniques and ultrafiltration", *Journal of food science*, 48, pp 1101-1105.

WU M.L., ZALL R.R., TZENG W.C., 1990, “Microfiltration and ultrafiltration comparison for apple juice clarification”, *Journal of food science*, v 55, n° 4, pp 1162-1163.

YOKODA F., 1978, *Métodos e técnicas em microbiologia de alimentos*, Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia, Campinas.

YU Z.R., CHIANG B.H., HWANG L.S., 1986, “Retention of passion fruit juice compounds by ultrafiltration”, *Journal of food science*, 51, pp 841-842.

7.1 Gráficos de vazão da membrana com o tempo em diversas situações:

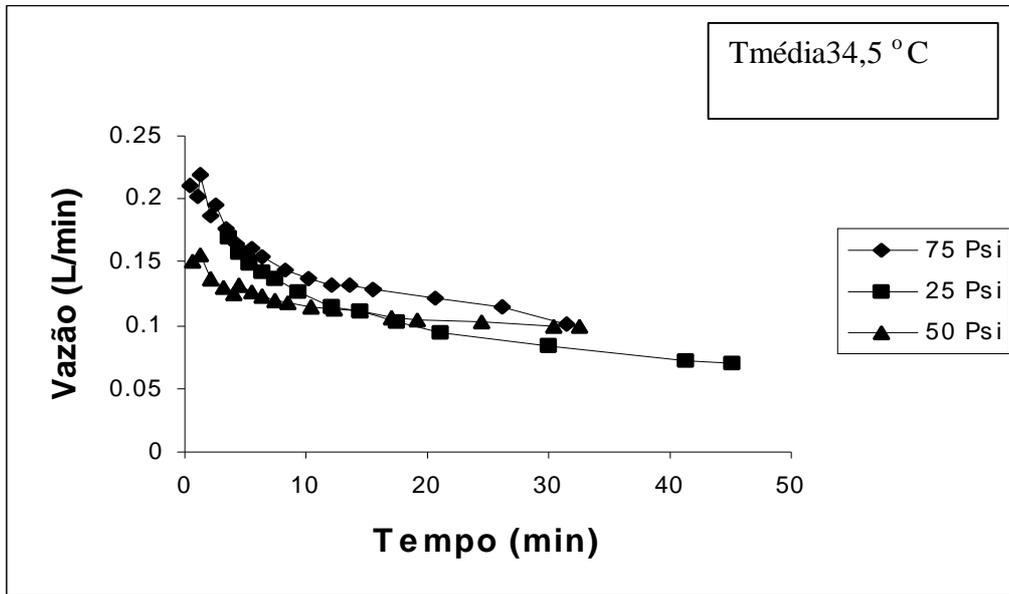


Figura 7.1: Comportamento da vazão com o tempo no suco de acerola natural

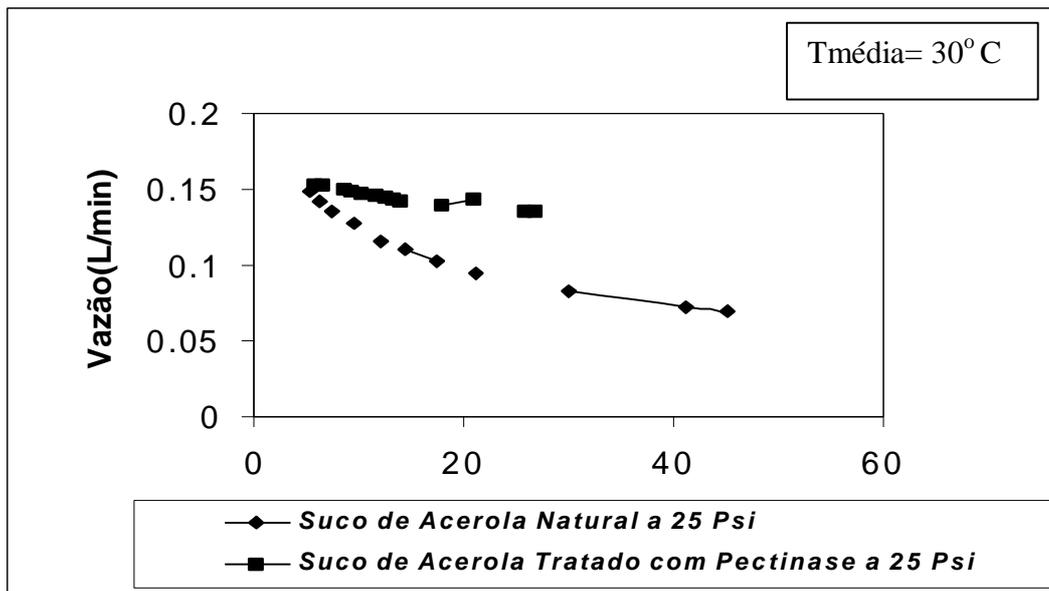


Figura 7.2: Comportamento da vazão com o tempo no suco de acerola natural e tratado com pectinase a 25 Psi

Tmédia= Temperatura média

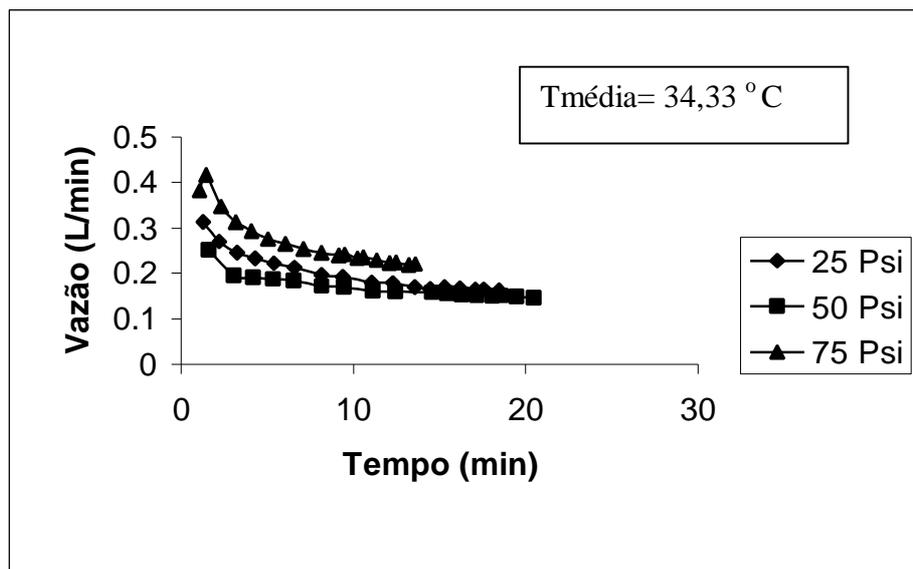


Figura 8.3 : Comportamento da vazão com o tempo no suco de acerola tratado com pectinase

## 7.2 Métodos Analíticos

### ÁCIDO ASCÓRBICO ( Vitamina C)

#### Aparelhagem:

- Balança analítica
- Balança semi- analítica.

#### Material:

- Erlenmeyer de 300 ml;
- Bureta de 25 ml;
- Balões volumétricos de 100 e 1000 ml;
- Pipetas volumétricas de 10 e 50 ml.

#### Reagentes:

- Solução de ácido oxálico a 1%; pesar 12 g de ácido oxálico monoidratado, transferir para balão volumétrico de 1000 ml e completar o volume com água destilada;
- Solução padrão de ácido ascorbico, pesar 50,0 mg de ácido ascórbico p. a. e transferir para o balão volumétrico de 100 ml, juntar solução de ácido oxálico a 1% até quase a marca e completar com água destilada;
- Solução de 2,6-diclorofenolindofenol-sódio (DCFI): pesar aproximadamente 2 gramas de DCFI, dissolver em 1000 ml de água destilada e filtrar.

#### Procedimento:

Padrão:

Pipetar 10 ml da solução-padrão de ácido ascórbico em Erlemeyer contendo 50 ml de solução de ácido oxálico e titular com solução de DCFI ( Volume P) até coloração rosada persistente durante 15 segundos.

Amostra:

Pipetar ou pesar quantidade conveniente de amostra em Erlemeyer contendo 50 ml de solução de ácido oxálico. Titular com solução de DCFI até a coloração rosada persistente durante 15 segundo, obtendo o volume A em ml.

Cálculo:

$$\text{Mg ácido ascórbico/100 ml de amostra} = \frac{5 \times A \times 100}{P \times \text{ml de amostra}}$$

Onde:

5= mg de ácido ascórbico padrão titulado;

A= volume da solução de DCFI utilizada para titular a amostra;

P= volume da solução de DCFI utilizada para titular o padrão;

Calcular, em função da tomada de amostra. Em mg ácido ascórbico/100 ml ou mg ácido ascórbico/100g.

Expressão do Resultado:

Expressar em mg/100ml ou em mg/100g.

A .O . A . C . Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists; 14 ed, Arlison, 1984.

Método 43056 modificado por Benassi (1990) em que substitue o solvente extratora ácido metafosfórico por ácido oxálico.

(Benassi, MT. Análise dos efeitos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados. Campinas, Fea, Tese de Mestrado. UNICAMP, 159p, 1990)

**PECTINA( Pectato de Cálcio)**

Aparelhagem:

Balança analítica;  
Banho-maria;  
Estufa.

Material:

Balões volumétricos de 100, 500 e 1000 ml;  
Béquer de 800 ml;  
Erlemeyer de 500 ml;  
Placas de alumínio;  
Dessecador;  
Funil de Vidro;  
Papel whatman nº 4.

Reagentes:

Ácido acético- solução aproximadamente 1 N: diluir 30 ml de ácido acético glacial p.a. a 500 ml com água destilada;

Cloreto de cálcio- solução aproximadamente 2N: dissolver 55 g de cloreto de cálcio anidro em água destilada e diluir para 500 ml;

Solução de nitrato de prata a 1%: dissolver 1 g de nitrato de prata em água destilada e diluir a 100 ml;

Solução de hidróxido de sódio 1 N.

Procedimento:

Pipetar 100 ml da amostra (ou pesar quantidade conveniente) em um Béquer de 800 ml e juntar cerca de 400 ml de água destilada. Ferver lentamente durante 1 hora, recolocando a água perdida na evaporação. Esfriar, transferir o conteúdo do Béquer para um balão de 500 ml e completar o volume. Agitar bem e filtrar para um Erlenmeyer de 500 ml, usando papel de filtro Whatman nº 4. Após agitação, pipetar alíquotas de 100ml em béqueres de 800 ml, adicionar 300 ml de água destilada, 10 ml da solução de hidróxido de sódio, agitando continuamente e deixar em repouso durante uma noite. Juntar em cada béquer 50 ml da solução de ácido acético e, após 5 minutos, juntar em cada béquer 50 ml da solução de cloreto de cálcio sob agitação, esperar uma hora e aquecer a ebulição durante 1 minuto. Filtrar em papel filtro Whatman e lavar com água quase em ebulição, até que todo o cloreto seja eliminado (testar com  $\text{AgNO}_3$ ). Transferir o resíduo do filtro para placas de alumínio previamente taradas, evaporar em banho-maria até a secura e deixar durante uma noite em estufa a  $100^\circ\text{C}$ . Deixar esfriar em dessecador e pesar.

#### Cálculo:

O teor de pectina é calculado pela fórmula:

$$\text{G de pectato de cálcio}/100\text{ml} = \text{g de pectato de cálcio} \times 100/ \text{ml da amostra}$$

#### Expressão:

Expressar a pectina, como pectato de cálcio em g/100 ml ou g/100 g.

Método de Carreé & Haywes, descrito por Pearson (1970).

Person, D. The chemical analysis of foods. J& A .Chruchill, London, 6<sup>a</sup> ed., 1970.

**ACÚCARES REDUTORES**Material:

Pesa-filtro de 25 ml, béquer de 200 ml,  
Cilindro de 50 ml,  
Balão volumétrico de 200 ml,  
Balão de titulação de 250 ml,  
2 pipetas de 10 ml,  
Bureta de 25 ml.

Reagentes:

Solução de acetato neutro de chumbo, saturada;  
Sulfato de sódio, seco;  
Soluções de Fehling, tituladas.

Procedimento:

Pese 5 g da amostra em um pesa-filtro. Transfira para um béquer de 200 ml com o auxílio de 50 ml de água. Misture com uma vareta de vidro. Aqueça em banho-maria por 5 minutos. Esfrie. Filtre, lave o béquer e o filtro com 50 ml de água. Receba o filtrado e as águas de lavagem em um banho volumétrico de 100 ml. Se necessário, adicione solução de acetato neutro de chumbo, saturada, até não haver mais precipitação (cerca de 1,5 ml). Complete o volume com água. Filtre em filtro seco. Receba o filtrado em um béquer de 400 ml, seco. Adicione sulfato e sódio seco, até precipitar o excesso de chumbo. Filtre em filtro seco. Receba o filtrado em um frasco seco. Transfira o filtrado para um balão de titulação de 250 ml, com auxílio de pipetas, 10 ml de cada uma das soluções de Fehling. Adicione 40 ml de água. Aqueça a ebulição. Transfira o filtrado para uma bureta de 25 ml

e adicione, às gotas, sobre a solução do balão, em ebulição, e agitando sempre, até que esta passe de azul a incolor (no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho).

Cálculo:

$$100 \times A \times a / PV = \text{glicídios redutores, em glicose, por cento p/p}$$

P = n° de g da amostra

A = n° de ml da solução de P g da amostra

V = n° de ml da solução da amostra gasto na titulação

a = n° de g de glicose correspondente a 10 ml das soluções de Fehling

Filtrado obtido em 4.13.1<sup>a</sup>

## Material:

Balão de 100 ml;

Béquer de 50 ml;

Funil;

Vidro de Relógio.

## Reagente:

Acetato de chumbo seco.

## Procedimento:

Pesar 26 g de amostra em béquer de 50 ml. Transfira para um balão de 100 ml com auxílio de 50 ml de água. Ajustar a temperatura em 20 °C. Completar o volume com água à 20 °C. Adicionar acetato básico de chumbo seco em pequenas quantidades, agitando após cada adição, até completar a precipitação. Filtre, cobrindo o funil com vidro de relógio. Despreze os 25ml do filtrado. Receba o resto do filtrado em frasco seco.

### ACÚCARES NÃO-REDUTORES

#### Material:

Pipeta de 20 ml;  
Balão volumétrico de 100 ml;  
Bureta de 25 ml;  
Balão de titulação de 250 ml ;  
Pipetas de 10 ml ;  
Cilindro graduado de 50 ml.

#### Reagentes:

Ácido clorídrico  
Carbonato de sódio anidro  
Soluções de Fehling tituladas

#### Procedimento:

Transfira com auxílio de uma pipeta, 20 ml do filtrado obtido no experimento da página anterior.

Para um balão volumétrico de 100 ml. Acidule fortemente, com ácido clorídrico. Coloque em banho-maria por 15 minutos. Esfrie. Neutralize com carbonato de sódio anidro. Complete o volume com água. Transfira para um balão de titulação de 250 ml, com auxílio de pipetas, 10 ml de cada uma das soluções de Fehling. Adicione 40 ml de água. Aqueça a ebulição. Transfira a solução do balão volumétrico para uma bureta de 25 ml e adicione, às gotas, sobre a solução do balão volumétrico, em ebulição, e agitando sempre, até que esta passe de azul a incolor( no fundo do balão deverá ficar um resíduo vermelho).

#### Cálculo:

$(100 \times A \times a - B) / P \times V =$  glicídeos não- redutores, em sacarose, por cento p/p

A = n° de ml da solução de S g da amostra

P = n° de g da amostra usado na inversão

V = n° de ml da solução da amostra gasto na titulação

B = n° de g de glicose por cento obtida em “glicídios redutores, em glicose”

A = n° de g de glicose correspondente a 10 ml das soluções de Fehling.

OBS: Na titulação, quando se tornar difícil observar o desaparecimento da cor azul, adicione ao balão, próximo ao ponto final, 1 ml da solução azul de metileno a 0,02%, como indicador interno. Continue a titulação até completo descoramento da solução. (Use as soluções de Fehling tituladas, também com indicador interno).

SOLUÇÃO DE FEHLINGPreparo das soluções:

A:

Pese 34,639 g de sulfato de cobre  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2 \text{O}$  e transfira para balão volumétrico de 1000 ml. Complete o volume com água.

B:

Pese 173 g de tartarato de sódio e potássio  $\text{NaKC}_4 \text{H}_4 \text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2 \text{O}$  e dissolva em 250 ml de água. Adicione 250 ml de solução de NaOH, a 20%. Complete o volume até 1000 ml.

Titulação:

Transfira para balão de titulação, 10 ml de cada uma das soluções, A e B. Adicione 40 ml de água. Aqueça a ebulição e adicione, com auxílio de bureta, solução padrão de glicose a 1%, p/v, mantendo a fervura sob agitação, até a solução se tornar incolor ( no fundo do balão deverá ficar resíduo avermelhado).

Nota: O peso de glicose usado deverá ser conhecido até a 3<sup>a</sup> casa decimal.

Cálculo do fator (f) das soluções:

( g de glicose correspondente a 10 ml de cada uma das soluções A e B)

$$f = V \cdot P \cdot 0,01$$

V= ml da solução de glicose gasto

P = título da solução de glicose (g%)

Nota: O valor de f deverá ser da ordem de 0,05 g.

Açúcares Redutores e Não-Redutores (Método de Fehling)

Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, vol 1, Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo, 3<sup>a</sup> ed., 1985.

**GORDURA**Material:

- Tubos de 250 x 25 mm (capacidade aprox. 70 ml)
- Tubos de 150 x 15 mm (capacidade aprox. 30 ml)
- Agitador rotativo para tubos
- Centrífuga de baixa rotação
- Tampas de roscas protegidas internamente com teflon ou PVC.

Reagentes:

- Metanol p.a .
- Clorofórmio p. a .
- Sulfato de sódio anidro.
- Solução de Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 1,5% de água

Procedimento:

Quando se trata de produtos com teores de gordura acima de 20% (leite integral em pó, estrato hidrosolúveis de sódio, amendoim, sementes) pesar entre 2,0 a 2,5 g e para os produtos com % menor de 20 %, pesar entre 3 a 3,5 g. É essencial que as amostras estejam completamente moídas.

- Transferir a quantidade pesada para os tubos de 70 ml e adicionar exatamente:
  - 10 ml de clorofórmio;
  - 20 ml de metanol;
  - 8 ml de água destilada.
- Tampar hermeticamente.

O volume dos solventes adicionados correspondem (10,20,8) a uma relação de 1:2:0,8 clorofórmio, metanol e água. Nessa proporção os 3 solvente coexistem em uma solução homogênea. Colocar os tubos no agitador rotativo por 30 minutos.

Em seguida, adicionar exatamente 10 ml de clorofórmio e 10 ml da solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  1,5%, tampar e agitar vigorosamente por 2 minutos.

A adição de mais clorofórmio e mais água muda a proporção para 2:2:1,8, causando a separação total do clorofórmio que carrega lipídios( camada inferior), portanto todos os lipídios da amostra ficam dissolvidos em 20 ml de clorofórmio.

Deixar separar as camadas de forma natural ou centrifugar a 1000 rpm por 2 minutos para acelerar a separação.

Retirar a camada inferior (clorofórmio) entre 13 e 15 ml e colocar num tubo de 30 ml.

Adicionar aproximadamente 1 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, tampar e agitar para remover os traços de água que invariavelmente são arrastados na pipetagem.

Filtrar rapidamente num funil pequeno usando papel de filtro qualitativo; a solução deve ficar límpida.

Medir exatamente 5 ml do filtrado e despejá-los num béquer de 50 ml previamente pesado.

Colocar o béquer numa estufa a 100 °C até evaporar o solvente (15 a 20 minutos)

Resfriar em dessecador e pesar.

#### Cálculo:

$$\% \text{ lipídios totais} = P. 4. 100/ g$$

P = peso dos lipídios (em g) contidos nos 5 ml

g = peso da amostra, em g

4 = 20 ml de clorofórmio/ 5 ml amostra

Quando as amostras contém água acima de 10%, a relação de solventes deve ser reconsiderada, levando em conta a % água da amostra.

---

BLIGH, E.G. & Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. Can.J.Biochem.physi. 37:911-917, 1959.

### FIBRA DO ÁCIDO DETERGENTE

#### Reagentes:

- Solução de ácido detergente,: adicione 20 g de cetiltrimetilaminonium bromide (CTAB), P.A . para 1 litro de  $H_2SO_4$  . Agite pra facilitar a mistura.
- Decalin: Use o reagente P.A .Decahidronaftaleno.
- Acetona: Use acetona p.a .Etanol (95%) poderá ser substituído, mas resultará numa filtração mais lenta.
- Amianto (Asbestos): Coloque 100 g em um frasco de 3 L com 850 ml de água. Adicione 1400 ml de concentrado de  $H_2SO_4$  , misture e deixe esfriar até a temperatura ambiente por 2 horas. Filtre em funil de de Büchner e lave com água. Ignore a água passando por uma peneira de fibra de vidro de 14 X 18 mesh. Lave por imersão e agitação e encha até a superfície para remover as partículas finas. As cinzas serão recuperadas na fornalha de 800° C por 16 horas. Estoque e seque. O uso de amianto deverá ser relavada, resecada.
- Ácido Sulfúrico (72%): padronize o  $H_2SO_4$  P.A ., para a gravidade específica de 1,634 até 20°C.

#### Aparatos:

- Aparato de Refluxo: use apenas os aparatos convencionais adequados para a determinação da fibra cru. Béquer Berzelius (600ml)
- Cadinhos de vidro sinterizados: de porosidade grosseira, 40 mm de diâmetro, que possa conter 40-50 ml.

#### Preparação da Fibra Detergente:

Pese 2 g de amostra seca e passe através de uma peneira de 1 mm. Adicione 100 ml de solução de ácido-detergente frio e (a) 2ml de decalin. Aqueça até a ebulição entre 5-10 min, reduza o calor para evitar as espuma. Refluxe por 60 min. Filtre para um cadinho previamente tarado e use baixa sucção. Lave o filtrado duas vezes com água quente (90 a 100°C). Enxugue o cadinho. Repita a lavagem usando acetona, até que não se remova mais a cor, quebrando as pequenas massa de fibras que ira se formar. Separe a fibra de ácido

---

detergente livre da acetona e seque até 100°C por 8 horas ou uma noite. Esfrie num dessecador over (?) pentóxido de fósforo (phosphorus pentoxide) e pese.

Journal of the A .O .A .C .; Vol 46, N°.5, 1963.

ANTOCIANINASSolventes:

Solvente extrator original: 95% etanol – 0,1 N HCl (85:15)

O pH do solvente foi ajustado para obter um pH final de 1,0 no extrato da fruta diluída para “O.D. measument”

Material:

“Waring blendor” (misturador)

Proveta

Béquer de 500 ml

Parafilme

Papel de filtro Whatman n° 1

Funil Buchner n° 2

Filtro de vidro sinterizado de porosidade fina (fine porosity sintered glass filter ou polyvinyl chloride millipore filter)

Produção do Extrato:

100 g de da fruta congelada foi macerada com 100 ml de solvente extrator em um “Waring blendor” (misturador). A amostra foi transferida quantitativamente para um béquer de 400 ml usando aproximadamente 50 ml de solvente extrator para a lavagem do misturador. O béquer foi coberto com um parafilme e ficou estocado por uma noite em 4°C. A amostra foi filtrada em papel Whatman através do funil de Buchner. O volume da primeira corrida foi cerca de 215 ml.

O béquer bem como o resíduo do filtro foi lavado repetidamente com solvente extrator até coletar-se aproximadamente 450 ml de extrato. O extrato foi transferido para um frasco volumétrico de 500 ml e completado o volume. Para medida espectrométrica,

uma alíquota de aproximadamente 25 ml foi filtrada através do filtro de vidro, e o volume completado apropriadamente.

Esse extrato diluído foi estocado durante duas horas protegido da luz. E para a medida de O . D . foi medida até a absorção máxima de 535 nm.

A quantidade de antocianina total foi medida com o peso, volume e diluição e “extinction coefficient”.

FULEKI, T. & Francis, F.J.; 1968; quantitative methods for anthocianins. 1 . Extractions and determinations of total anthocianin in cranberries. J. Food Sci. ; 33, 72-77

**POLPA SUSPensa****Material:**

Centrífuga com “tachometer”

Tubos de centrífuga graduados de 50 ml com fundos cônicos

**Procedimento:**

Arrume o lugar de cada tubo para que a centrífuga não fique desnivelada. Ajuste a rotação de acordo com a tabela abaixo.

Diam (Poleg)	RPM	Diam (Poleg)	RPM	Diam (poleg)	RPM
10	1609	13,5	1384	17	1234
10,5	1570	14	1359	17,5	1216
11	1534	14,5	1336	18	1199
11,5	1500	15	1313	18,5	1182
12	1468	1,5	1292	19	1167
12,5	1438	16	1271	19,5	1152
13	1410	16,5	1252	20	1137

**Cálculo:**

Após a centrifugação a superfície da polpa poderá estar desigual. Tome a leitura em mililitros até o topo da camada de polpa do ponto mais alto e também do mais baixo e faça a média dos dois pontos para obter a soma da quantidade de polpa de cada tubo. Multiplique a leitura por dois para Ter a porcentagem de polpa suspensa em cada tubo.

Assim:

Volume de sólidos suspensos/ Volume da amostra X 100% = Teor de Polpa

Rotação: 1281, 50 rpm

Tempo = 40 minutos

Diâmetro =400 mm

REED, B.J. ; Hendrix Jr, C.M. and Hendrix, D.L.; Quality control manual for citrus processing plants;Florida; Intercit; V1; 1988.

**FIBRAS**

( Determinação de Lignina e Celulose)

**Material:**

Recipientes esmaltados

Balança

Cadinhos

Bastão de vidro

Mulfla

**Reagentes:**

Permanganato de potássio saturado: dissolver 50 g de  $\text{KmnO}_4$  (p. a .) em 1 L de água. Manter fora da luz direta.

Solução tampão: dissolver 6 g de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  e 0,15 g de  $\text{AgNO}_3$  em 100 ml de água destilada. Mistura-se com 500 ml de ácido acético glacial e 5 g de acetato de potássio. Adicione 400 ml de terbutanol( álcool butil terciário) e misture. Use ácido e solventes p.a .passados pelo teste do dicromato.

Solução permanganato combinado: junte e misture 2 partes de permanganato de potássio saturado e 1 parte de solução tampão, v/v, antes de usar. A mistura não utilizada pode ficar uma semana no refrigerador ou em lugar fresco longe da luz. A solução é usável quando estiver púrpura e não contiver precipitados.

Solução desmineralizadora: dissolver 50 g de ácido oxálico dihidratado em 700 ml de etanol 95%. Adicione 50 ml HCl (aproxim.) 12 N e 250 ml de água destilada e misture.

Etanol: (Cerca de 80%)- misture 200 ml de água destilada e 800 ml de etanol 95%.

Acetona p.a.: Use a p.a. que é incolor e não tem resíduo da evaporação.

### Procedimento:

Lignina:

Secar a amostra em temperatura menor que 65°C e peneire através de 20- 30 mesh. Prepare um recipiente esmaltado raso com 2-3 cm de água gelada. Pese amostra. Preparar e determinar a fibra ácido detergente de 1 g de amostra de acordo com o método padrão. ( $w_1$ ) (VAN SOEST, 1973). Junte e misture a solução de saturada de permanganato de potássio e a solução tampão, 2:1, v/v, e adicione 25ml de ao cadinho. Imerse cada cadinho no recipiente esmaltado com água. Ajuste o nível de água no recipiente, a fim de prevenir o fluxo de água para os cadinhos. Com um bastão de vidro misture bem a solução do cadinho tentando quebrar os grumos misturando com o permanganato. Deixar os cadinhos em repouso à 20-25°C por (90±10 ) minutos; adicionando mais solução de permanganato se necessário. (Se o cadinho estiver cheio, filtre a solução à vácuo e adicione mais reagente). A mistura deve estar púrpura durante todo o tempo.

A cor marrom, sem qualquer coloração avermelhada ou púrpura indica que o permanganato se esgotou. Adicione mais solução que o necessário.

Retire os cadinhos e leve para a filtração, mas não os lave. Coloque os cadinhos em recipiente esmaltado limpo e encha até a metade com solução desmineralizante. Deixar por ± 5 minutos, filtrar e repita a operação. Repita se a solução estiver muito amarela. (A cor indica que a remoção de lignina foi incompleta). Lave as paredes do cadinho com a solução agitando levemente.

A fibra deve estar branca. (Tempo total requerido 20-30 minutos).

Lavar as fibras com etanol 80%, filtre e repita duas vezes a operação de lavagem.  
Lavar com acetona, duas vezes, da mesma maneira. Seque.

Repita se as fibras estiverem amarelas, o que indica alta % de lignina.

Secar a 100 °C durante uma noite inteira e pesar ( $w_2$ ).

Cálculo:

% Lignina =  $(w_2 - w_1) \times 100 / \text{Peso da amostra}$

% Lignina é calculada através da perda de fibra ácido detergente)

Celulose e Cinzas:

Incinerar à 500 °C por 3 horas, esfriar e pesar ( $w_3$ ).

% Celulose =  $(w_3 - w_2) \times 100 / \text{Peso da amostra}$

VAN SOEST, P.J. & R.H. WINE; Journal of food science .; vol 51, n ° 4, 1968.

CINZASMaterial:

Papel Cinza.

Procedimento:

Incinere 25 g de amostra à  $\leq 525^{\circ}\text{C}$ , (normalmente 5-10g em 50-100 ml em recipiente de 473 ml), então passe cinza na água quente para dissolver sais solúveis. Filtre com papel sem cinza (ashless paper), queime o papel e o resíduo até a cinza branca, adicione o filtrado se sais solúveis, evapore até a secagem e incinere sob aproximadamente  $525^{\circ}\text{C}$  até peso constante.

A O .A .C .13 ed

**SÓLIDO SOLÚVEIS**

% Sólido solúveis= % de sólidos determinado pelo refratômetro x (100 – b)/100

b= % sólido insolúveis em água.

Pelo método do refratômetro, a concentração por peso de sacarose em solução que tem o mesmo índice refratário (n), assim como a solução analisada. Use o instrumento com escala calibrada a pelo menos 0,001 unidades ou 0,5% de sacarose, permitindo a estimativa de 0,0002n ou 0,25%, respectivamente.

Ajuste o instrumento para a leitura de n 1,330 ou 0% de sacarose com água a 20°C. Determine a leitura no refratômetro da solução a 20°C e obtenha a % correspondente de substância seca de ambas as leituras diretas, se o instrumento não for especificamente para sacarose é necessário usar a tabela 52.012. Recircule a água em temperatura constante, 20°C através de jaquetas, ou através de instrumentos de imersão o bastante para a temperatura do prisma se igual a temperatura da amostra, até que a mesma permaneça constante.

Se a determinação é feita sob outra temperatura, ou se a umidade causar condensação, corrija a temperatura padrão de 20°C com a tabela 52.016.

ÁCIDEZ TOTAL TITULÁVEL

Homogenizar 10,0 g de polpa com 90 ml de água neutralizada e titular com potenciometro com NaOH 0,1 N até pH de 8,1.

$$V(\text{NaOH}) = Y \text{ ml}$$

- a) Ácido Málico; peso molecular de 134, com dois grupos de COOH
- b) Usou 10,0 g de amostra
- c) Usou Y ml de NaOH 0,1 N
- d)  $\text{Mls} \times \text{N} = \text{mmoles}$
- e) 1 mmole ácido málico equivale 2 mmoles de NaOH

Cálculo:

$$(0,1 \times Y) \text{ mmols NaOH} = (0,1 \times Y)/2 \text{ mmols de ácido málico}$$

então:

$$\begin{aligned} 10,0 \text{ g de amostra equivale a } & (0,1 \times Y)/2 \text{ mmls de ácido málico} \\ & = (0,1 \times Y)/2 \times 134 \text{ mg de ácido málico} \\ & = (0,1 \times Y)/2 \times 134 / 1000 \text{ g de ácido málico} \end{aligned}$$

portanto:

$$100 \text{ g de amostra equivale a } = (0,1 \times Y)/2 \times 134 / 100 \times 10 \text{ g de ácido málico}$$

A.O .A. C.

---

**SÓLIDOS TOTAIS**

Secar quantidade suficiente à 70°C, com 740 mmHg, por 4 horas até peso constante.

A O .A .C .13 ed

**DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS TOTAIS**

**Material:**

- Fenol 5%;
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado;
- Padrão glicose 10 mg%;
- Água destilada;

**Método:**

Pipetar 0,4 ml de fenol em todos os tubos.

Pipetar 0,4 ml de padrão de glicose e colocar em um dos tubos já contendo fenol (padrão).

Pipetar 0,4 ml de água destilada e colocar em um dos tubos já contendo o fenol.

Amostra(20mg%): Pipetar 0,4 ml da amostra e colocar em um dos tubos já contendo o fenol.

Adicionar 2m de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado em todos os tubos, homogenizar, esperar 10 min. Ler em espectrofotômetro à 490 nm.

CHAPLIN M.F. & KENNEDY J.F., 1987, *Carbohydrate analysis*, IRL press, Oxford.

MÉTODO CARBAZOLMaterial:

Reagente A: Tetraborato de sódio em  $H_2SO_4$ .

Reagente B: Carbazole em álcool etílico.

Água destilada

Padrão de ácido galactorônico ou ácido glucurônico à 5mg%

Procedimento:

Adicionar 250 microlitros ou 0,25 ml de amostra(20mg%), água e o padrão em tubos de ensaio com rosca.

Esfriar as amostras em banho de gelo por 10 minutos.

Adicionar 1,5 ml do reagente A gelado bem vagorosamente e com agitação em cada tubo, em banho de gelo.

Aquecer a mistura em banho de água fervente por 10 minutos.

Esfriar.

Adicionar 50 microlitros do reagente B e misturar bem.

Reaquecer em banho de água fervente por 15 minutos.

Esfriar rapidamente a temperatura ambiente.

Ler em espectrofotômetro à 525 nm.

CHAPLIN M.F. & KENNEDY J.F., 1987, *Carbohydrate analysis*, IRL press, Oxford.

FUNCIONAMENTO DO REÔMETRO

O reômetro fornece a deflexão ( $\phi$ ) e a velocidade angular ( $\omega$ ). A tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) é calculado pela Equação 3.1, : onde Z é uma constante do sistema de medida.

$$t = Z \times f \quad (8.1)$$

A taxa de deformação ( $\gamma$ ) é calculado pela série de Yang & Krieger, truncada no quarto termo:

$$\gamma(\tau_1) = \gamma_1(\tau_1) \times \left[ \begin{array}{l} 1 + N^{-2} \times N(1) \\ \times F_1(t) + 3 \times N^{-4} \\ \times (N(1))^2 \times F_3(t) \\ + N^{-3} \times N(2) \times F_2(t) \end{array} \right] \quad (8.2)$$

onde

$$t = -N \times \ln(c) \quad (8.3)$$

$$N = \frac{d \log(w)}{d \log t_1} \quad (8.4)$$

$$N(1) = \frac{dN}{d \ln t_1} \quad (8.5)$$

$$N(2) = \frac{d^2 N}{d(\ln(t_1))^2} \quad (8.6)$$

$$F_1(t) = \frac{1}{2} \times t \times \frac{1}{(e^t - 1)^2} \times \left( t \times e^t - 2 \times e^t + t + 2 \right) \quad (8.7)$$

$$F_2(t) = \frac{1}{6} \times t^2 \times \frac{1}{(e^t - 1)^3} \times \left( \begin{array}{l} -t \times e^{2t} + 3 \times e^{2t} \\ -4 \times t \times e^t - t - 3 \end{array} \right) \quad (8.8)$$

$$F_3(t) = \frac{1}{24} \times t^3 \times \frac{1}{(e^t - 1)^4} \times \left( \begin{array}{l} t \times e^{3t} - 4 \times e^{3t} + 11 \\ \times t \times e^{2t} - 12 \times e^t + t + 4 \end{array} \right) \quad (8.9)$$

$$g(t_1) = \frac{2 \times N \times w}{(1 - c^N)} \quad (8.10)$$

$$c = \frac{R_1^2}{R_2^2} \quad (8.11)$$

Realizou-se uma rotina computacional para efetuar a metodologia acima e obter-se os parâmetros reológicos, tensão de cisalhamento e taxa de deformação. Os parâmetros foram calculados para os modelos de Casson, Herschel-Bulkley, Mizrahi-Berk e Ostwald de Waele através do software STATISTICA. Escolheu-se o melhor modelo através do coeficiente de correlação “r”.