



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PURIFICAÇÃO DE EXTRATO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)  
UTILIZANDO COAGULANTES NATURAIS E PROCESSO DE FILTRAÇÃO POR  
MEMBRANAS**

FLÁVIA DE SANTANA MAGALHÃES

Uberlândia – MG

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**PURIFICAÇÃO DE EXTRATO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) UTILIZANDO COAGULANTES NATURAIS E PROCESSO DE FILTRAÇÃO POR MEMBRANAS**

Flávia de Santana Magalhães

Orientadora: Miria Hespanhol Miranda Reis

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Uberlândia – MG

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

M188p  
2018

Magalhães, Flávia de Santana, 1992-  
Purificação de extrato de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)  
utilizando coagulantes naturais e processo de filtração por membranas /  
Flávia de Santana Magalhães. - 2018.  
109 f. : il.

Orientadora: Miria Hespanhol Miranda Reis.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.  
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.180>  
Inclui bibliografia.

1. Engenharia química - Teses. 2. Pequi - Teses. 3. Extração  
(Química) - Teses. I. Reis, Miria Hespanhol Miranda. II. Universidade  
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia  
Química. III. Título.

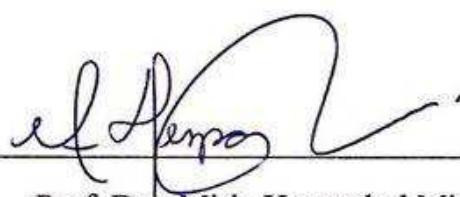
---

CDU: 66.0

Maria Salete de Freitas Pinheiro – CRB6/1262

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA, EM 7 DE FEVEREIRO DE 2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Miria Hespanhol Miranda Reis

Orientadora (PPGEQ/UFU)



Prof. Dra. Vicelma Luiz Cardoso

PPGEQ/UFU

Participou por meio de videoconferência

Prof. Dra. Grasiele Scaramal Madrona

DAL/UEM

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e proteção. Por Ele todas as coisas foram e são possíveis.

Aos meus pais Antônio e Cleide, meu irmão Daniel e meu Tio Evandro pela confiança, apoio paciência e incentivo.

Ao meu namorado Thiago pelo amor e pelo carinho, por transbordar paciência, compreender, apoiar e me aconselhar em todos os momentos.

À minha orientadora prof. Dra. Miria Hespanhol Miranda Reis pelos ensinamentos, paciência, confiança e por todas as oportunidades proporcionadas de crescimento profissional durante o mestrado.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Engenharia Química pelo ensino de qualidade, em especial, à prof. Dra. Vicelma Luiz Cardoso pelas contribuições significativas para este trabalho.

À prof. Dra. Grasiele Scaramal Madrona pelas valiosas sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos técnicos administrativos da Faculdade de Engenharia Química pelo auxílio.

Ao aluno de Iniciação Científica Marcelo Sá pela disponibilidade, prontidão e empolgação para o auxílio na execução deste trabalho.

À CAPES, CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Aos amigos do NUCBIO e da turma de mestrado 2016/01 (Ana, Anna, Anderson, Carla, Érica, Rodolfo, Stella e Viviane) pela grande troca de experiência, pelos dias de estudo, pelo laço de amizade fortalecido e pelos momentos de descontração nesses dois anos de mestrado.

Aos professores do curso de Graduação em Engenharia de Alimentos – UFU Patos de Minas, em especial aos professores Dra. Marta Zotarelli, Dr. Ricardo e Dr. Danylo que mesmo longe sempre foram fonte de inspiração.

À minha colega de apartamento Adriele pela amizade e por dividir comigo as alegrias e as dificuldades do dia-a-dia.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que este trabalho fosse possível, meu muito obrigada!

*“Contra toda expectativa  
Contra qualquer previsão  
Há um ponto de partida  
Há um ponto de união  
Sentir com inteligência  
Pensar com emoção”*  
(GESSINGER, 2002)

## RESUMO

Nos últimos anos tem crescido o interesse na extração compostos ou antioxidantes oriundos de vegetais, especialmente polifenóis. Há também um interesse no estudo de frutos não convencionais, por exemplo, o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma fruta nativa do cerrado brasileiro com grandes quantidades de compostos fenólicos totais em sua polpa. A recuperação dos compostos fenólicos é frequentemente realizada através de processos de extração e concentração, sendo esses processos realizados utilizando a aplicação de calor, que pode causar a degradação destes compostos. Logo, o processo de separação por membranas, onde não há aplicação de temperatura, é uma alternativa viável para evitar este tipo de degradação. Este trabalho teve como principais objetivos determinar as melhores condições para a extração aquosa de compostos fenólicos presentes na polpa de pequi, clarificar o extrato utilizando quitosana e extrato aquoso de semente de moringa (*Moringa oleifera*) e, sequencialmente, concentrar compostos fenólicos por processo de separação por membranas. A extração dos compostos bioativos foi realizada a 80°C em uma concentração de solução de 25 g de polpa em 100 mL de água. Após a extração, diferentes bioadsorventes (quitosana e sementes de moringa integral e desengordurada) foram avaliados para a clarificação do extrato de pequi. Foram então determinadas as concentrações adequadas desses adsorventes (quitosana 0,1 gL<sup>-1</sup> (EQ) e moringa 2 gL<sup>-1</sup>(EM)) para uma clarificação. Comparando com o extrato apenas centrifugado (EC), o EQ aumentou o fluxo de permeado em aproximadamente 35% no processo de microfiltração utilizando uma membrana de 0,22 µm. A microfiltração foi capaz de reduzir de forma significativa o teor de sólidos totais em 56, 56, e 50% e lipídeos 72, 67 e 45% em comparação aos extratos EC, EM e EQ, respectivamente. A ultrafiltração do permeado da microfiltração, por sua vez, fez com que fossem reduzidos 50 e 90% do teor de lipídeos e 21 e 23% dos sólidos totais para EM e EQ, respectivamente, e foi capaz de reter 43 e 42% de compostos fenólicos presentes nos extratos microfiltrados de moringa e quitosana, respectivamente. A nanofiltração sequencial do permeado da ultrafiltração foi capaz de reter 54% no teor de sólidos totais, porém houve retenção de apenas 31% dos compostos fenólicos. Já a ultrafiltração direta dos extratos EC e EQ foi capaz de reter 65% dos compostos fenólicos e reduziu os valores de sólidos solúveis totais (56 e 45% para EC e EQ, respectivamente), sólidos totais (78% e 74% para EC e EQ, respectivamente) e lipídeos (aproximadamente 98% para os dois extratos). A nanofiltração direta reduziu totalmente o teor de lipídeos, reteve 91% dos compostos fenólicos e reduziu 82% no teor de sólidos totais, sendo este o processo que apresentou maior retenção dos compostos fenólicos. Porém, o valor de fluxo de permeado na nanofiltração direta foi relativamente baixo (1,24 L h<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>). Assim, a ultrafiltração direta apresenta-se como o processo mais viável para a concentração destes compostos, pois reduziu o tempo de processo em relação à nanofiltração direta em aproximadamente 3 h, terminando a filtração com um fluxo de permeado de 4,84 L h<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> sendo esse fluxo 74% maior que o obtido na nanofiltração direta.

Palavras chave: Pequi; clarificação; concentração; compostos fenólicos.

## ABSTRACT

Nowadays, the interest on extracting bioactive compounds derived from plants, especially polyphenols, has been growing. Moreover, the interest on studing unconventional fruits, such as pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), which is a native Brazilian cerrado fruit that contains large amounts of total phenolic compounds in its pulp, has also been growing. Recovery of the phenolic compounds is often carried out through extraction and concentration processes. These processes are conventionally done by heating, that causes degradation of some bioactive compounds. Thus, the membrane separation process, in which there is no application of temperature, is a viable alternative to avoid this type of degradation. This study aimed to chose the best conditions for the aqueous extraction of phenolic compounds from pequi pulp, to clarify the extract using chitosan and moringa seeds (*Moringa oleifera*) and to concentrate the phenolic compounds using membrane separation process. Extraction of the bioactive compounds was performed at 80 °C at a solution concentration of 25 g of pulp in 100 mL of water. After extraction, different bioadsorbents (chitosan and whole and defatted moringa seeds) were evaluated for the clarification of pequi extract. The appropriate concentrations of these adsorbents (chitosan 0.1 g L<sup>-1</sup> (EQ) and moringa 2 g L<sup>-1</sup> (EM)) were then determined for clarification. Compared with the only centrifuged extract (EC), the EQ increased permeate flux in the microfiltration process by approximately 35% using a membrane with pores of 0,22 µm. Microfiltration was able to reduce the total solids content in 56, 56, and 50% and lipids in 72, 67 and 45% compared to EC, EM and EQ extracts, respectively. Microfiltration permeate was then ultrafiltered and, in turn, this sequential process caused reduction of 50 and 90% of the lipid content and 21 and 23% of the total solids to EM and EQ, respectively, and was able to retain 43 and 42% of phenolic compounds present in the microfiltered extracts of moringa and chitosan, respectively. Sequential nanofiltration of the ultrafiltration permeate was able to retain 54% of the total solids content but there were only 31% retained phenolic compounds. The direct ultrafiltration of the EC and EQ extracts was able to retain 65% of the phenolic compounds and reduced the values of total soluble solids (56 and 45% for EC and EQ, respectively), total solids (78% and 74% for EC and EQ, respectively) and lipids (approximately 98% for the two extracts). Direct nanofiltration completely reduced lipid content, retained 91% of phenolic compounds and reduced 82% in total solids content. However, as the permeate flux values were relatively low (1.24 L h<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>), direct ultrafiltration is suggested for the concentration of these compounds because it reduced the time process with respect to direct nanofiltration in approximately 3 h, ending the filtration with a permeate flux of 4.84 L h<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>, 74% higher than the flux obtained in direct nanofiltration. .

Keywords: Pequi; clarification; concentration; phenolic compounds.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura de um ácido fenólico (ácido gálico).....	21
Figura 2 - Esquema da filtração tangencial e paralelo.....	28
Figura 3 - Formação da camada polarizada em um processo de filtração por membranas.....	30
Figura 4 - Processos para realizar a concentração de compostos fenólicos da polpa de pequi.	35
Figura 5 - (a) Relação entre temperatura e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando uma concentração de 40 g 100 mL <sup>-1</sup> . (b) Relação entre concentração de polpa e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando temperatura de 80°C.....	49
Figura 6 - Superfície de resposta sobre a influência da temperatura e concentração de solução na extração de compostos bioativos da polpa de pequi. ....	52
Figura 7 - Porcentagem de redução em relação ao extrato sem tratamento para as análises de TPC, Lipídeos e Sólidos Totais e Sólidos solúveis totais. ....	55
Figura 8-Efeito da concentração de quitosana no óleo extraído dos extratos de pequi por centrifugação. ....	56
Figura 9 - Porcentagem de redução de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais (SST) para os extratos de pequi tratados com semente de moringa. ....	58
Figura 10 -Porcentagem de redução de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais (SST) para os extratos de pequi tratados com semente de moringa desengordurada. ....	60
Figura 11 - Comparação das reduções de fenólicos totais (a), lipídeos (b) e sólidos totais (c) do extrato de pequi com moringa integral e com moringa desengordurada.....	61
Figura 12 - Comparação em termos de reduções no conteúdo lipídico, sólidos totais e compostos fenólicos totais entre os três adsorventes avaliados nas concentrações escolhidas. ....	62
Figura 13 - Fluxo de permeado por tempo de filtração dos extratos de pequi sem tratamento, centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e pré-tratado com quitosana (EQ). ....	65
Figura 14 - Sessão transversal (a) e superfície (b) da membrana de microfiltração de 0,22 µm antes do processo de filtração.....	68
Figura 15 - Sessões transversais das membranas de microfiltração (a) usada para o extrato centrifugado e (b) para o extrato tratado com quitosana. ....	68
Figura 16 -Superfícies das membranas de microfiltração (a) usada para o extrato centrifugado e (b) para o extrato tratado com quitosana. ....	69

Figura 17 - Extrato de polpa de pequi pré-tratado com quitosana (EQ) e o extrato permeado após a microfiltração (MEQ) utilizando a membrana de 0,22 $\mu$ m.....	71
Figura 18 - Fluxo de permeado por tempo de filtração das ultrafiltrações dos permeados da microfiltração MEM e MEQ.....	73
Figura 19 - Concentrado e permeado da membrana de ultrafiltração de 5 kDa do permeado da microfiltração do extrato pré-tratado com quitosana.....	77
Figura 20 - Fluxo de permeado por tempo de filtração das nanofiltração do permeado da ultrafiltração do extrato de quitosana (UEQ).....	79
Figura 21 - Concentrado e permeado da nanofiltração.....	82
Figura 22 - Fluxo de permeado por tempo de filtração dos extratos de pequi sem centrifugado e com quitosana (EQ).....	83
Figura 23 - Alimentação e permeado da ultrafiltração direta do extrato pré-tratado com quitosana (EQ).....	84
Figura 24 - Fluxo de permeado por tempo de filtração da nanofiltração direta do extrato de pré-tratado com quitosana (UEQ).....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição média da polpa de pequi por 100 gramas de parte comestível.....	19
Tabela 2 - Diferentes processos de separação por membranas e suas características.....	27
Tabela 3 - Variáveis reais e codificadas para o planejamento composto central.....	34
Tabela 4- Mecanismos de <i>fouling</i> considerados pelo modelo de Hermia.....	39
Tabela 5 - Caracterização da polpa de pequi .....	47
Tabela 6 - Resultados das médias e desvios padrão para o teor de compostos fenólicos totais.	51
Tabela 7 - Características do extrato de pequi após processos de adsorção com quitosana em diferentes concentrações.....	54
Tabela 8 – Características físico-químicas do extrato de pequi após processos de adsorção com sementes de moringa em diferentes concentrações.....	57
Tabela 9 - Características físico-químicas do extrato de pequi após processos de adsorção com sementes de moringa desengordurado em diferentes concentrações. ....	59
Tabela 10 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos de pequi sem tratamento (EC), pré-tratado com moringa 2 g L <sup>-1</sup> (EM) e pré-tratado com quitosana 0,1 g L <sup>-1</sup> (EQ) (µg mL <sup>-1</sup> de extrato).....	63
Tabela 11 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de microfiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ). .....	66
Tabela 12 - Resistências obtidas para os processos de microfiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).....	67
Tabela 13 - Caracterização dos permeados dos extratos de polpa de pequi centrifugado (MEC) e pré-tratados com quitosana (MEQ) e extrato de semente de moringa (MEM). .....	70
Tabela 14 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos de pequi microfiltrados centrifugados (MEC), pré-tratados com quitosana (MEQ) e com moringa (MEM) (µg mL <sup>-1</sup> de extrato). .....	72
Tabela 15 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de ultrafiltração.....	74
Tabela 16 - Resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi microfiltrados pré-tratados com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).....	75

Tabela 17 - Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos permeados vindos da microfiltração de MEM (UEM) e de MEQ (UEQ). ....	76
Tabela 18 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nas alimentações e nos permeados das ultrafiltrações ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato).....	78
Tabela 19 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de nanofiltração. ....	80
Tabela 20 - Resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato de pequi ultrafiltrado e pré-tratados com quitosana (EQ). ....	80
Tabela 21 - Caracterização do concentrado (CN) e do permeado (PN) da nanofiltração. ....	81
Tabela 22 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos concentrado e permeado das nanofiltração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato).....	82
Tabela 23 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de ultrafiltração direta de extrato de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ).....	84
Tabela 24 - Resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi pré-tratados com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).....	85
Tabela 25 - Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos permeados vindos da ultrafiltração direta. ....	86
Tabela 26 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos permeados da ultrafiltração direta ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato).....	87
Tabela 27 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de nanofiltração direta de extrato de pequi pré-tratado com quitosana (EQ).....	89
Tabela 28 - Resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato de pequi pré-tratado quitosana (EQ).....	89
Tabela 29 - Caracterização do concentrado (CN) e do permeado (PN) da nanofiltração. ....	90
Tabela 30 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos concentrado e permeado das nanofiltração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato).....	91
Tabela 31 - Comparaçao entre os resultados obtidos nos diferentes tratamentos aplicados aos extratos de pequi.....	92

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1. Objetivos .....	18
1.1.1. Objetivos específicos .....	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
2.1. Pequi .....	19
2.1.1. Produção e comercialização .....	20
2.2. Compostos fenólicos .....	20
2.3. Extração de compostos bioativos .....	22
2.4. Clarificação .....	23
2.5. Processos de separação por membranas .....	25
2.5.1. Microfiltração .....	27
2.5.2. Ultrafiltração .....	28
2.5.3. Nanofiltração .....	29
2.5.4. Principais aplicações do processo de separação por membranas .....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	33
3.1. Preparo da matéria-prima .....	33
3.2. Extração de compostos bioativos da polpa de pequi .....	33
3.3. Planejamento composto central .....	33
3.4. Fluxograma dos processos para concentração de compostos fenólicos .....	34
3.5. Pré-tratamento do extrato com quitosana .....	35
3.6. Pré-tratamento com extrato aquoso de semente de moringa .....	36
3.7. Centrifugação .....	36
3.8. Procedimento de filtração <i>dead end</i> para micro, ultra e nanofiltração .....	37
3.9. Modelo de Hermia .....	38
3.10. Resistências .....	39
3.11. Análises da polpa de pequi .....	39
3.11.1. Umidade .....	40
3.11.2. Cinzas .....	40
3.11.3. Proteínas .....	41
3.11.4. Lipídeos .....	41
3.11.5. Carboidratos .....	42
3.11.6. Acidez .....	42
3.11.7. Potencial Hidrogeniônico (pH) .....	42

3.11.8. Sólidos Solúveis Totais (°Brix) .....	43
3.12. Análises dos extratos .....	43
3.12.1. Teor de fenólicos totais (TPC) .....	43
3.12.2. Lipídeos .....	43
3.12.3. Sólidos Totais .....	44
3.12.4. Potencial Hidrogeniônico (pH) .....	44
3.12.5. Sólidos Solúveis Totais (°Brix) .....	44
3.12.6. Cromatografia líquida.....	45
3.13. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	45
3.14. Análises estatísticas.....	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
4.1. Caracterização da polpa de pequi .....	47
4.2. Extração de compostos bioativos da polpa de pequi .....	48
4.2.1. Testes preliminares .....	48
4.2.2. Planejamento Composto Central .....	51
4.3. Clarificação do extrato de polpa de pequi utilizando quitosana .....	54
4.4. Clarificação do extrato de polpa de pequi utilizando extrato de semente de moringa e semente de moringa desengordurada .....	57
4.4.1. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos extratos de polpa de pequi escolhidos para as filtrações .....	63
4.5. Microfiltração dos extratos de polpa de pequi .....	64
4.5.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na microfiltração .....	66
4.5.2. Cálculo de resistências das membranas de microfiltração .....	67
4.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das membranas de microfiltração	68
4.5.4. Caracterização dos permeados da microfiltração dos extratos de polpa de pequi	69
4.5.5. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos permeados da microfiltração dos extratos centrifugados (MEC), pré-tratados com quitosana (MEQ) e semente de moringa (MEM). .....	71
4.6. Ultrafiltração sequencial dos extratos de polpa de pequi.....	72
4.6.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração .....	73
4.6.2. Cálculo de resistências das membranas de ultrafiltração .....	74
4.6.3. Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos extratos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana.....	75

4.6.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos permeados das ultrafiltrações dos extratos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana. ....	77
4.7. Nanofiltração sequencial do extrato ultrafiltrado de quitosana .....	78
4.7.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na nanofiltração.....	79
4.7.2. Cálculo de resistências das membranas de nanofiltração.....	80
4.7.3. Caracterização do permeado da nanofiltração.....	81
4.7.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado e no concentrado na nanofiltração .....	82
4.8. Ultrafiltração direta do extrato de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ) .....	83
4.8.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração .....	84
4.8.2. Cálculo de resistências das membranas de ultrafiltração .....	85
4.8.3. Caracterização dos permeados da ultrafiltração direta .....	86
4.8.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado das ultrafiltrações.....	87
4.9. Nanofiltração direta do extrato de pequi pré-tratado com quitosana (EQ).....	87
4.9.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na nanofiltração.....	88
4.9.2. Cálculo de resistências da membrana de nanofiltração .....	89
4.9.3. Caracterização do permeado da nanofiltração.....	90
4.9.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado e no concentrado da nanofiltração .....	91
4.10. Comparação dos processos de tratamento dos extratos de pequi.....	91
5. CONCLUSÕES.....	94
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	96
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97
APÊNDICE A .....	106
APÊNDICE B.....	107

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem havido um crescente interesse na extração compostos ou antioxidantes oriundos de vegetais, especialmente polifenóis, uma vez que estas substâncias estão relacionadas com a prevenção de doenças degenerativas (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009). A recuperação de compostos antioxidantes a partir de plantas é frequentemente realizada através de processos de extração e concentração. Os processos de extração devem ser realizados em condições otimizadas, escolhendo um melhor solvente, temperatura, concentração de solução, tempo e até mesmo a aplicação de métodos não convencionais como extrações assistidas por ultrassom (GARCIA-SALAS et al., 2010). Os processos de concentração são convencionalmente realizados utilizando a aplicação de altas temperaturas, mas filtrações com membranas representam uma alternativa melhor, uma vez que temperaturas muito altas podem vir a degradar os compostos funcionais presentes nos extratos (UROŠEVIĆ et al., 2017). O uso de processos de filtração com membranas na indústria de alimentos ainda é limitado devido aos baixos fluxos de permeado alcançados causados pela incrustação e polarização que acontece na superfície da membrana (BHATTACHARJEE; SAXENA; DUTTA, 2017; USHIKUBO; WATANABE; VIOTTO, 2007). Esses problemas podem ser superados empregando métodos de pré-tratamento antes da concentração de suco, como a clarificação por microfiltração (USHIKUBO; WATANABE; VIOTTO, 2007), o tratamento enzimático para a remoção de pectina (PINELO; ZEUNER; MEYER, 2010), centrifugação (YOUSEFNEZHAD; MIRSAEEDGHAZI; ARABHOSSEINI, 2016) e uso de outros agentes clarificantes, como bentonita e gelatina (RAI et al., 2007).

A utilização de agentes clarificantes naturais é benéfica para o meio ambiente, pois são atóxicos e biodegradáveis. A quitosana é obtida pela desacetilação da quitina, encontrada na carapaça de crustáceos e este é um composto de natureza poliaciônica, sendo um agente coagulante eficaz. A quitosana é capaz de coagular partículas suspensas em solução e ajudam na separação delas das bebidas (CHATTERJEE et al., 2004; TASTAN; BAYSAL, 2015). A aplicação da quitosana como agente clarificante em sucos tem sido amplamente reportada na literatura. Chatterjee et al. (2004) usaram a quitosana para a clarificação de sucos de maçã, uva, limão e laranja. Domingues et al. (2012) fizeram a clarificação de suco de maracujá usando quitosana e Tastan e Baysal (2015) usaram esse agente clarificante para a clarificação de suco de romã. Alguns estudos foram reportados na literatura sobre a eficiência da quitosana na remoção de lipídeos de diferentes produtos como o a remoção de óleo de palma de efluentes

(AHMAD; SUMATHI; HAMEED, 2006), proteína de soro (JARTO et al., 2015) e queijo (FERNÁNDEZ; FOX, 1997). Apesar do grande uso de quitosana como clarificante, a eficiência dela ainda deve ser mais investigada uma vez que a quitosana tem características estruturais que são capazes de promover diferentes interações com diferentes componentes (ROCHA; COIMBRA; NUNES, 2017; YANG et al., 2016).

Além da quitosana, extratos aquosos de sementes de *Moringa oleifera* também apresentam proteínas solúveis em água com carga positiva e é outro excelente agente clarificante natural que tem sido aplicado principalmente em clarificação de água potável e tratamentos de águas residuais (BHATIA; OTHMAN; AHMAD, 2007; CAMACHO et al., 2017; MADRONA et al., 2011; RAVIKUMAR; SHEEJA, 2012). Alves et al. (2017) verificaram a alta eficiência de sementes de moringa na adsorção de arsênio inorgânico de águas. Entretanto, o uso de extratos de sementes de moringa na clarificação de sucos ainda não foi explorado, com apenas alguns estudos relatando a clarificação de caldo de cana-de-açúcar para a produção de açúcar (COSTA et al., 2014);

As frutas tropicais comestíveis não convencionais têm atraído atenção devido aos seus potenciais benefícios para a saúde (OLIVEIRA, et al., 2012). O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) é um fruto pertencente ao cerrado brasileiro de gosto e aroma peculiares e sua polpa contém uma grande quantidade de óleo comestível, proteínas compostos fenólicos e carotenóides, fazendo deste fruto um complemento alimentar importante (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; ROESLER et al., 2007). Geralmente a utilização do pequi se limita em seu consumo *in natura* ou sua utilização na culinária local, pois é um fruto muito perecível e contém espinhos que dificultam sua manipulação. Existem poucos estudos sobre o processamento deste fruto, incluindo caracterizações de composição (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; ROESLER et al., 2008), extração de óleo (GEOCZE et al., 2013) e extração e concentração de compostos bioativos (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2013, 2015). Machado, Mello e Hubinger (2015) realizaram a aplicação de processos de ultrafiltração e nanofiltração para concentração de carotenóides e ácidos fenólicos do extrato aquoso de pequi. Entretanto, este fruto apresenta um alto teor de lipídios que pode comprometer a eficiência da filtração por membranas. Por isso, é importante o estudo para a clarificação prévia do extrato resultante do pequi e seguida da concentração dos compostos bioativos presentes nos extratos por meio do processo de filtração por membranas. Neste estudo serão aprofundados os estudos da utilização de membranas para o processamento

do extrato de pequi bem como sequenciamento de processo, além da possibilidade da clarificação do extrato utilizando coagulantes naturais.

### **1.1. Objetivos**

Determinar as melhores condições para a extração aquosa de compostos fenólicos presentes na polpa de pequi, clarificar o extrato utilizando quitosana e extratos aquosos de semente de moringa e, sequencialmente, concentrar compostos processos de separação por membranas.

#### **1.1.1. Objetivos específicos**

- Caracterizar a polpa do de pequi quanto à composição centesimal, acidez titulável total, pH, sólidos solúveis totais ( $^{\circ}$ Brix);
- Avaliar o processo de extração dos compostos fenólicos da polpa de pequi verificando a influência da temperatura de extração e concentração de solução;
- Realizar a clarificação do extrato de pequi utilizando quitosana, solução aquosa de semente de moringa (utilizando a semente na forma integral e desengordurada) afim de reduzir teor de lipídeos e sólidos totais do extrato;
- Verificar a influência dos pré-tratamentos sobre o fluxo de permeado nos processos sequenciais de filtração por membranas e verificar a qualidade do extrato após as filtrações quanto ao teor de compostos fenólicos totais, lipídeos, sólidos totais, sólidos solúveis totais e pH.
- Verificar a concentração dos compostos fenólicos realizando sequenciamento de processo (micro, ultra e nanofiltração) e ultrafiltração e nanofiltração diretas.
- Fazer a modelagem dos fluxos de permeado e calcular a resistência das membranas utilizadas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Pequi

As espécies de pequizeiro pertencem à família Caryocaraceae, da ordem Theales. No cerrado brasileiro a espécie mais decorrente é a *Caryocar brasiliense* Camb., que apresenta porte arbóreo com vasta distribuição, tendo altura variando entre 8 a 12 metros (OLIVEIRA et al., 2008; SILVA et al., 2001). As plantas do pequi apresentam poucas exigências quanto a qualidade do solo, sendo que se adaptam bem em solos arenosos e pobres de nutrientes (CARMAGO et al., 2014). Por isso, o pequi é cultivado no Brasil em todo o território de cerrado do sudeste, nordeste e centro-oeste, além de poder ser encontrado em zonas de transição deste bioma para os biomas da Caatinga e também Mata Atlântica. A frutificação da planta ocorre nos meses de outubro a março (RIBEIRO, 2000).

O fruto do pequizeiro apresenta normalmente entre 1 e 4 caroços. Estes são compostos por um endocarpo espinhoso, que tem a função de proteger a semente ou amêndoas, que é revestida por um invólucro fino e marrom, que também é uma porção comestível do fruto contendo no seu interior a semente, ou castanha, e este é envolto por uma polpa de coloração amarela intensa e carnosa (CARRAZZA; ÁVILA, 2010).

O fruto do pequizeiro destaca-se pelo seu alto valor energético e nutritivo, sendo os principais constituintes de sua polpa, água, lipídeos, carboidratos e proteínas e alto teor de vitaminas e minerais, como pode ser observado na Tabela 1, que apresenta os valores referentes à composição centesimal do pequi cru.

Tabela 1 - Composição média da polpa de pequi por 100 gramas de parte comestível.

Composição centesimal	Valor por 100 g
Umidade (%)	65,9
Energia (kcal)	205
Proteína (g)	2,3
Lipídeo (g)	18,0
Carboidratos (g)	13,0
Fibra Alimentar (g)	19,0
Cinzas (g)	0,8
Fósforo (mg)	34
Potássio (mg)	298,0
Vitamina C (mg)	8,3

Fonte: Adaptado de TACO (2011).

Devido também à grande quantidade de óleo disponível em sua polpa, o pequi é industrialmente visado por suas características químicas que podem ser bem aproveitadas na indústria alimentícia e de cosméticos (ROESLER et al., 2007).

### 2.1.1. Produção e comercialização

Na maioria dos casos, não há plantações de pequi, a produção do fruto é baseada no extrativismo de árvores que se encontram em locais onde há reserva permanente de cerrado. A produção e comercialização do pequi pode ser considerada uma prática sustentável e de grande importância socioeconômica, pois em toda a cadeia produtiva (colheita, transporte, beneficiamento e comércio) são geradas fontes de emprego, tanto do fruto *in natura* quanto na fabricação de produtos derivados.

A coleta e a venda do fruto do pequizeiro acontecem de forma simples por parte dos agricultores e comerciantes. A comercialização acontece, em maior parte, pelos próprios agricultores que coletam o fruto nas reservas de cerrado mais próximas as cidades, e estes são vendidos quase em sua totalidade em feiras locais. Para agregar valor ao produto, também são comercializado o óleo de pequi, que pode ser usado como tempero na culinária (ASSUNÇÃO, 2012).

Segundo dados reportados por IBGE (2017), no ano de 2016 foram colhidas 17.305 toneladas de pequi e o valor gasto na produção do fruto na extração vegetal nesse ano foi por volta de 14 mil reais em todo território nacional. Este valor é muito inferior a produção de frutos nativos como o açaí (215.209 toneladas) e também a erva-mate (346 953 toneladas), também no ano de 2016.

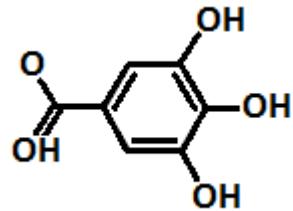
## 2.2. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são os metabólitos secundários mais abundantes presentes em frutas (ESPINOSA-PARDO et al., 2017; SILVA, C.; GARCIA; FRANCISCATO, 2016), legumes (RAVICHANDRAN et al., 2012), especiarias (MURAKAMI et al., 2013; SOUSA et al., 2016) e sementes (AL-FARSI; LEE, 2008). Existe uma grande quantidade destes compostos

na natureza, podendo variar de fenóis simples a compostos altamente polimerizados, como por exemplo, os taninos (BRAVO, 1998).

A principal subclasse de compostos fenólicos são os ácidos fenólicos sendo que estes podem ser subdivididos em dois principais grupos: ácido hidroxibenzóico e derivados de ácido hidroxicinâmico (ROBBINS, 2003). Estes ácidos contêm um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxílicos que tem a capacidade de bloquear a ação de radicais livres e também são esses compostos que conferem a vegetais propriedades sensoriais como cor, aroma, sabor e adstringência bem como comandam os processos germinativos de sementes e o crescimento das plantas. Estes compostos existem principalmente na forma de glicosídeos ligados a moléculas de açúcar ou como complexos ligados a ácidos orgânicos, aminas, lipídios, carboidratos e outros fenóis (LIU, 2007; MAGA; KATZ, 1978). A Figura 1 mostra a estrutura de um ácido fenólico (ácido gálico).

Figura 1 - Estrutura de um ácido fenólico (ácido gálico).



Fonte: A autora.

Os derivados de ácido hidroxibenzóico são tipicamente componentes de estruturas complexas, como ligninas e taninos hidrolisáveis, um exemplo importante desse grupo é o ácido gálico, sendo que esses ácidos também podem ser derivados de açúcares e ácidos orgânicos em vegetais. Os derivados do ácido hidroxicinâmico podem ser encontrados ligados aos componentes da estrutura da planta como celulose, lignina e proteínas e neste grupo são encontrados os ácidos p- cumarico, caféico, e ferúlico sendo este último encontrado de forma mais abundante nas folhas dos vegetais (LIU, 2007).

### 2.3. Extração de compostos bioativos

A técnica de extração por solventes é amplamente utilizada devido à sua eficiência, facilidade de uso e ampla aplicabilidade além de ser o procedimento mais utilizado para a preparação de extratos de materiais vegetais (DAI; MUMPER, 2010; PASRIJA; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2015), entretanto, a seleção da técnica de extração é influenciada pelo interesse de uma posterior utilização do extrato.

Existem vários métodos convencionais que podem ser usados para extrair compostos fenólicos de matérias vegetais, tais como extração sólido-líquido, extração com ultra-som-assistido, extração assistida por micro-ondas e extração de fluido supercrítico (CONG-CONG et al., 2017). No entanto, na extração sólido-líquido, a remoção completa de solventes orgânicos de extratos é difícil, e mesmo em baixas quantidades estes solventes são tóxicos. Assim, polifenóis extraídos por estes métodos não são adequados para a utilização em produtos comestíveis. Portanto, um método que usa apenas água como solvente pode ter uma melhor aceitação. Machado, Mello e Hubinger (2015) utilizaram água para a extração de compostos fenólicos da polpa de pequi. Sousa et al. (2016) também utilizaram água a uma temperatura de 80°C para a extração de compostos fenólicos de chá verde. A água é um solvente de baixo custo e não gera resíduos tóxicos, logo, é um solvente amplamente recomendado quando se deseja evitar uma remoção de solvente e garantir um produto final completamente livre de vestígios de solvente orgânico, a água é um solvente de extração adequado, especialmente em alimentos e aplicações farmacêuticas (KUMAR; THAKUR; DE, 2012).

Entretanto, o rendimento da extração por solvente depende de uma série de fatores como o tipo de solventes, se é apolar ou polar, razão solvente-soluto, temperatura, pH e tempo de extração. Aumentos na temperatura podem aumentar a difusão dos compostos bioativos no solvente aumentando, assim, a taxa de extração, maiores quantidades de solvente fazem com que se aumente a força motriz para a transferência de massa de compostos fenólicos. Além disso, o aumento na relação solvente a sólido geralmente ajuda o soluto a ser dissolvido na solução (GUO et al., 2016; KHEMAKHEM et al., 2017). O pH da solução também pode influenciar a solubilidade do soluto em solução podendo afetar a eficiência de extração. No entanto, isso depende do componente desejado na extração uma vez que se este for hidrófilo ou lipofílico apresentará uma solubilidade diferente a cada valor de pH (RECHARLA et al., 2017).

A técnica de extração tem influência no rendimento e pureza dos extratos contendo polifenóis. Dependendo do solvente utilizado durante a extração, uma mistura de fenóis solúveis no solvente será extraída de materiais vegetais, mas nessa extração também podem conter algumas substâncias não fenólicas, como açúcar, ácidos orgânicos e gorduras. Logo, etapas adicionais de clarificação para remover esses componentes indesejados são necessárias (DAI; MUMPER, 2010).

#### **2.4. Clarificação**

Os processos de clarificação dependem principalmente da natureza e da dispersão coloidais e o tipo de moléculas dissolvidas em solução, bem como sobre as propriedades do agente clarificante, como densidade de carga, grupos funcionais e peso molecular (ROCHA; COIMBRA; NUNES, 2017). Os métodos convencionais de clarificação envolvem filtração e centrifugação e aplicação de enzimas e adsorventes como bentonita e gelatina. A aplicação de coagulantes naturais, como quitosana e sementes de *Moringa oleifera*, tem que ser mais explorada para a clarificação de extratos de frutas.

Os coagulantes naturais são de grande interesse porque são ecológicos e biodegradáveis e não apresentam toxicidade (CHOY et al., 2016; MUTHURAMAN; SASIKALA, 2014; NDABIGENGESERE; NARASIAH; TALBOT, 1995) sendo, assim, alternativas pra a clarificação de sucos e extratos alimentícios. A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, sendo de natureza poliaciônica, e se revelou ser um agente coagulante eficaz para a separação de partículas suspensas de sucos (BOUGH; LANDES, 1976; CHATTERJEE et al., 2004; TAŞTAN; BAYSAL, 2017). Grupos aminos da quitosana são protonados em condições ácidas, e são responsáveis pela atividade de floculação desse polissacarídeo. Devido à sua biodegradabilidade, não toxicidade, natureza polieletrolítica e tendência a flocular, a quitosana é um coagulante de grande interesse em estudos de clarificação de sucos (GASSARA et al., 2015).

Domingues et al., (2014) estudaram a influência de diferentes pré-tratamentos na clarificação do suco de maracujá. Foi realizada uma combinação de centrifugação, tratamento enzimático (enzima pectolítica) e clarificação com quitosana como pré-tratamento. As amostras pré-tratadas de suco de maracujá foram caracterizadas de acordo com a turbidez, cor,

viscosidade e sólidos solúveis totais (TSS). O teor de TSS não foi afetado por nenhum dos pré-tratamentos aplicados. O tratamento enzimático reduziu a viscosidade e a turbidez, mas não afetou a cor do suco de maracujá tratado. O tratamento com quitosana foi eficiente na redução da turbidez, viscosidade e cor do suco da fruta. Os autores concluíram que o tratamento com quitosana é uma alternativa adequada para o tratamento de suco de maracujá.

Tastan e Baysal (2015) estudaram o uso de quitosana como agente clarificante para suco de romã e foram avaliados seus efeitos sobre as características de qualidade do suco. Por meio de um planejamento composto central foram avaliados três fatores: concentração de quitosana ( $10-120 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ ), temperatura de processo ( $10-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e tempo de processo (30-90 min) e os efeitos do adsorvente foram avaliados sobre os valores de turbidez. Os autores concluíram que as condições ótimas de processo foram de  $68,93 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  de quitosana a uma temperatura e tempo de processo de  $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e 30 min, respectivamente, e que a quitosana pode ser proposta como um agente alternativo para a produção de suco de romã clarificado. Os resultados obtidos mostraram que a clarificação do suco de romã usando quitosana pode ser um método adequado, facilmente aplicável e rápido.

Taştan e Baysal (2017) avaliaram as condições ideais para o uso de quitosana como agente clarificante na produção de suco de maçã. O efeito antimicrobiano da quitosana sobre *Alicyclobacillus acidoterrestris* durante o processo de clarificação também foi investigado (Taştan e Baysal, 2017). Os resultados mostraram que o tratamento com quitosana resultou em um suco de maçã claro sem necessidade de tratamento enzimático. No entanto, a redução microbiana de *A. acidoterrestris* durante o processo de clarificação não foi significativa.

Além da quitosana, o extrato aquoso de sementes de *Moringa oleifera*, que apresenta proteínas solúveis em água e carga positiva, apresenta-se como outro promissor agente clarificante natural que tem sido aplicado principalmente em clarificações de água potável e tratamentos de águas residuais. Vários estudos demonstram a eficiência da *Moringa oleifera* para o tratamento de clarificação de águas residuais e água potável (CAMACHO et al., 2017; MADRONA et al., 2011; MANGUNDAYAO; YASURIN, 2017; RAVIKUMAR; SHEEJA, 2012) e sua eficiência também foi confirmada na clarificação de caldo de cana-de-açúcar (COSTA et al., 2014). A ação coagulante de moringa é devido à presença de proteínas catiônicas solúveis em água (BHATIA; OTHMAN; AHMAD, 2007) que podem se ligar a partículas de carga negativa formando complexos que floculam.

Ravikumar e Sheeja (2012) avaliaram o uso do processo de coagulação-flocação usando sementes de *M. oleifera* como agente coagulante natural e agente antimicrobiano favorável ao meio ambiente para a clarificação de água turva. Os resultados mostraram que o processo de coagulação com moringa reduziu a turbidez da água em até 99%.

Recentemente, Alves et al. (2017) relatou a alta eficiência de sementes de moringa na adsorção de arsênio inorgânico de águas naturais. No entanto, o uso de sementes de moringa na clarificação de extratos de suco ainda não foi explorado, com apenas alguns estudos relatando o esclarecimento do suco da cana-de-açúcar (COSTA *et al.*, 2014). Costa et al. (2014) avaliaram o efeito de extrato aquoso de moringa na sedimentação de impurezas do tratamento do caldo de cana-de-açúcar e os efeitos sobre a qualidade do açúcar e sobre o suco clarificado. Concluiu-se que o uso da moringa resultou em um caldo de cana-de-açúcar clarificado.

## 2.5. Processos de separação por membranas

A filtração é considerada uma das operações unitárias mais antigas e é uma operação de separação sólido/líquido associada a meios filtrantes de diversos tipos, que são desde meios porosos como pó ou grânulos até meios porosos prensados como filtros de papel ou telas de filtração. Este tipo de meio poroso consolidado pode ser chamado de membrana (CARVALHO, 2008).

Uma membrana é uma interface entre as duas fases, uma mais concentrada em soluto que outra. Em processos de separação por membranas, essas fases estão juntas. Algumas espécies em solução passam mais facilmente através da membrana do que outras formando de um lado da membrana uma solução mais concentrada e do outro uma solução menos concentrada. Um processo de separação por membranas então pode ser definido como a transferência seletiva e controlada de uma espécie de uma fase para outra separadas por uma membrana submetida a uma força externa (HO; SIRKAR, 1992)

Quanto aos materiais com o que são fabricadas, as membranas são divididas em dois grandes grupos: poliméricas e inorgânicas (materiais cerâmicos e metais). A grande parte das membranas é proveniente de polímeros devido ao seu menor custo, e por ser mais maleável, fazendo com que seja mais fácil a formação de filmes. Quanto à morfologia, as membranas geralmente se diferem conforme sua aplicação. Elas podem ser classificadas em dois grupos:

densas e porosas. Ambos os tipos de membranas podem ser isotrópicos ou anisotrópicos, ou seja, podem manter as mesmas características de morfologia ao longo de sua sessão transversal. As membranas anisotrópicas apresentam uma fina camada de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  que pode ser mais fechada ou não, que é suportada por uma camada porosa. Quando esse tipo de membrana é constituído de apenas um tipo de material, a membrana é integral, quando é constituída de materiais diferentes é composta (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

Os processos de filtração por membranas apresentam a vantagem de serem econômicos energicamente, pois na maioria dos casos em que são aplicados não há a mudança de fase; são favoráveis à separação de compostos termossensíveis, pois a maioria das operações ocorre em temperatura ambiente; são seletivos, porque pelos tamanhos dos poros das membranas é possível se determinar quais são as substâncias que ficaram retidas ou serão permeadas e por último, mas não menos importante, os processos de separação por membranas são sistemas de simples operação, instalação e montagem (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; MACHADO et al.2016).

Por meio da força motriz da operação, é possível distinguir quatro tipos de separação por membranas: os processos onde a força motriz é a diferença de concentração de solutos (diálise, pervaporação, osmose e pulmão artificial), diferença de temperatura (destilação por membranas), onde há um gradiente de potencial elétrico (eletrodiálise, eletrólise por membranas, eletrodeionização, eletrofiltração e célula de combustível) e onde há a diferença de pressão (microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa). A Tabela 2 mostra diferentes processos de separação por membranas e suas principais aplicações.

Neste trabalho, será dado foco aos processos de separação por membranas que utilizam pressão como força motriz microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração, os quais serão detalhados no próximo tópico.

Tabela 2 - Diferentes processos de separação por membranas e suas características.

Processo de separação por membranas	Força motriz	Natureza de espécies retidas	Principais aplicações
<b>Microfiltração</b>	Gradiente de pressão ( $\Delta P$ ) (0,5 a 2 atm)	Sólidos em suspensão bactérias Massa molar > (0,01 $\mu\text{m}$ ) Macromoléculas Massa molar > 5.000 Da.	Esterilização bacteriana; clarificação de bebidas; concentração de células
<b>Ultrafiltração</b>	$\Delta P$ (1 a 7 atm)	Moléculas menores de tamanho médio 500 < MM < 2.000 Da.	Concentração de proteínas
<b>Nanofiltração</b>	$\Delta P$ (5 a 25 atm)	Microssolutos	Purificação de enzimas
<b>Osmose Inversa</b>	$\Delta P$ (15 a 80 atm)	> 0,02 $\mu\text{m}$ são retidos; > 0,005 na hemodiálise	Dessalinização de águas
<b>Diálise</b>	Gradiente de concentração ( $\Delta C$ )	Íons	Hemodiálise
<b>Eletrodiálise</b>	Gradiente de potencial elétrico ( $\Delta E$ )		Concentração de soluções salinas; purificação de águas.
<b>Permeação de gases</b>	$\Delta P$ ; $\Delta C$	Gases mais permeáveis	Recuperação de hidrogênio;
<b>Pervaporação</b>	Pressão de Vapor	Líquidos menos permeáveis	Desidratação de álcool;

Fonte: Adaptado de HO; SIRKAR (1992) e HABERT; BORGES; NÓBREGA (2006).

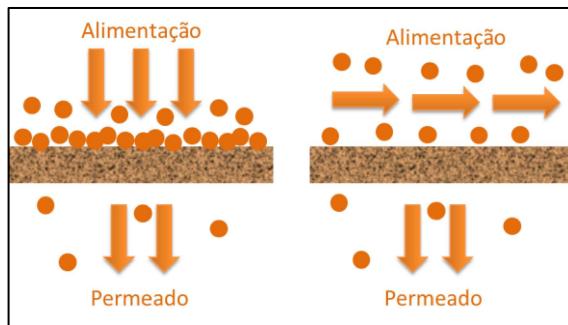
### 2.5.1. Microfiltração

A Microfiltração é uma técnica de separação por membranas onde estas possuem poros de tamanho que variam de 0,1 a 10  $\mu\text{m}$ . Este tipo de processo é capaz de remover partículas micrométricas. O gradiente de pressão formado entre um lado e outro da membrana gera a força motriz necessária para que o processo aconteça (ANADÃO, 2010; DAVIS, 1992).

A microfiltração pode ser de dois tipos: *dead end* (perpendicular) e *cross flow* (paralelo). A microfiltração perpendicular acontece quando tanto a fase de alimentação como o permeado se encontram perpendiculares à superfície da membrana. A solução de alimentação passa pelo filtro e é recolhida como permeado (rentado) e as partículas de tamanho maior do que o tamanho dos poros da membrana são retidas proporcionando uma resistência contínua do fluxo, fazendo com que ocorra um decréscimo contínuo da taxa de fluxo. No segundo tipo de filtração, a alimentação ocorre de forma paralela à superfície da membrana produzindo um permeado e um concentrado que contém a maioria das partículas em solução. Nesse tipo de processo o fluxo de

alimentação paralelo à membrana retira o material retido na mesma fazendo com que o fluxo não caia tão abruptamente quanto no processo perpendicular, promovendo a redução na formação de *fouling* (MULDER, 1996; WILSON, 2000). A Figura 2 mostra os dois tipos de filtração, a tangencial e a paralelo.

Figura 2 - Esquema da filtração tangencial e paralelo.



Fonte: A autora

### 2.5.2. Ultrafiltração

A ultrafiltração (UF) é um processo de separação por membranas utilizado frequentemente para purificar e/ou separar soluções que contém partículas com grande massa molecular e também coloides, de massa molar variando de  $10^3$  a  $10^6$  Dalton. Os poros das membranas de UF apresentam poros que variam de 1 a 100 nm de tamanho, logo, são mais fechadas que as membranas de microfiltração. Como os poros das membranas de UF são menores é necessária uma maior força motriz para que haja a separação dos compostos e que o fluxo não seja muito pequeno para que seja possível a utilização da UF na indústria. As pressões utilizadas nesse tipo de processo, operam numa faixa que varia de 100 a 1000 kPa (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006; LI, 2007; VIGNESWARAN et al., 2012). As membranas de ultrafiltração são caracterizadas por uma curva chamada de curva de retenção nominal (*cut off*), esta relaciona o coeficiente de rejeição em função a massa molar do composto de interesse. A retenção nominal de uma membrana pode ser definida como sendo o valor da massa molar de soluto para a qual a membrana apresenta um coeficiente de rejeição de 95%. Por exemplo, uma membrana com retenção nominal de 10 kDa é uma membrana capaz de rejeitar 95% das moléculas que se encontram em uma solução de um soluto com massa molar de 10.000 Dalton (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

A ultrafiltração é amplamente utilizada na área de alimentos na concentração de leite e na recuperação das proteínas de soro de leite para a fabricação de outros tipos de produtos lácteos (KOH et al., 2014); separação de albumina da clara de ovo (DATTA et al., 2009), separação de compostos fenólicos em sucos de frutas (CONIDI et al., 2017) e na clarificação de vinhos (GONÇALVES, F.; FERNANDES; DE PINHO, 2001).

### 2.5.3. Nanofiltração

A nanofiltração (NF) se caracteriza pela separação de sais e solutos orgânicos de massa molecular maiores que 500 Dalton, sendo um processo movido por gradiente de pressão, bem como a MF e a UF com tamanho de poros, fluxos de permeados e pressões de operação que se encontram entre a UF e a Osmose Inversa (OI). Os sistemas de nanofiltração geralmente operam em menores pressões (5-25 bar) e, por isso, esse processo apresenta vantagem econômica sobre a osmose inversa (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006; SCHÄFER; FANE; WAITE, 2005).

A NF é capaz de separar partículas menores que 1000 Da (1nm) e é principalmente utilizada em aplicações onde há a necessidade da passagem parcial de minerais e compostos termosensíveis como composto bioativos extraídos de plantas e frutos, como exemplos, a concentração de compostos fenólicos extraídos de pequi (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015) e de suco de morango (ARENDE et al., 2017), flavonoides e compostos fenólicos extraídos de própolis (MELLO; PETRUS; HUBINGER, 2010) e é possível também remover parcialmente elementos metais pesados como zinco, cadmio, chumbo, cobre e ferro de soluções (NEDZAREK et al., 2015).

#### 2.5.3.1. Polarização por concentração e fouling

A polarização de concentração é uma característica comum de todos os processos que utilizam o gradiente de pressão como força motriz (KULKARNI; FUNK; LI, 1992). Solutos que são retidos na superfície da membrana formando uma torta que pode vir a diminuir o fluxo do processo.

Segundo Cheryan (1998), a solução a ser filtrada contém sólidos em suspensão que são arrastados para a superfície da membrana por convecção e estes são parcial ou totalmente rejeitados, então se concentram na superfície da membrana, formando um gradiente de concentração, já que ficam mais concentrados na interface da membrana do que na solução. Esse acontecimento é chamado de polarização de concentração. Este fenômeno promove o decaimento de fluxo quando comparado ao fluxo de água, pois os solutos que ficam concentrados na direção do fluxo, causando esse um bloqueio para a passagem da solução.

Quando há muita retenção de solutos uma camada polarizada se forma na própria membrana, fazendo com que haja uma resistência adicional, diminuindo o fluxo. Esse fenômeno não pode ser evitado, porém pode ser reduzido, diminuindo a pressão de operação, ou aumentando o movimento de fluido na superfície da membrana (aumento do número de Reynolds) (CHERYAN, 1998). A Figura 3 mostra como ocorre a formação da polarização no processo de filtração por membranas.

Figura 3 - Formação da camada polarizada em um processo de filtração por membranas.



Fonte: A autora

Além do efeito de polarização, um outro fator que limita o processo de filtração por membranas é o *fouling*. Esse fator pode ser definido como o decaimento do fluxo causado pela obstrução da membrana causada por sólidos depositados em sua superfície e/ou dentro dos poros (KOROS et al., 1996). O *fouling* é um fator de grande importância quando se trata de processos de filtração por membranas já que este afeta a viabilidade econômica e comercial do processo bem como a vida útil da membrana (FANE; FELL, 1987; NILSSON, 1990).

Os dois fatores que limitam o processo causam uma resistência na passagem de solvente e soluto para a fase permeada, logo a equação do fluxo para os processos que utilizam a pressão como força motriz é escrito pela Equação 1.

$$J = \frac{\Delta P}{\eta R_{Total}} \quad (1)$$

sendo  $J$  é o fluxo de permeado,  $\Delta P$  a diferença de pressão como força motriz,  $\eta$  a viscosidade aparente da solução,  $R_{Total}$  (resistência total) é descrito pela Equação 2:

$$R_{Total} = R_m + R_a + R_p + R_c + R_{pc} \quad (2)$$

sendo  $R_{Total}$  a soma de todas as resistências,  $R_m$  a resistência intrínseca da membrana,  $R_a$  a resistência devido à absorção,  $R_p$  a resistência devido ao bloqueio de poros,  $R_c$  a resistência devido à torta ou camada gel e  $R_{pc}$  a resistência devido a polarização de concentração.

#### 2.5.4. Principais aplicações do processo de separação por membranas

Atualmente há um grande número de aplicações do processo de separação por membranas na indústria de alimentos, por exemplo, na concentração de leite e soro, na esterilização de ovos inteiros, no processamento de vinho e cerveja e também na clarificação de sucos de frutas (CASTRO-MUÑOZ et al., 2017). As separações por membrana podem ser usadas como uma alternativa para técnicas convencionais como concentração e esterilização por calor ou como uma nova tecnologia para o desenvolvimento de novos ingredientes e alimentos. Muitos são os estudos que mostram a eficiência da utilização da técnica de separação por membranas no tratamento de alimentos e na concentração de compostos bioativos presentes nestes e alguns estudos são listados a seguir.

Mello, Petrus e Hubinger (2010) fizeram a concentração de flavonóides e compostos fenólicos extraídos de própolis por nanofiltração. A extração foi feita utilizando água e etanol. A membrana reteve cerca de 94% dos compostos fenólicos e 99% dos flavonóides, enquanto para a solução com etanol esses valores foram de 53% e 90%, respectivamente. O processo de nanofiltração, então, mostrou alta eficiência na concentração de extratos de própolis

Nandi, Das e Uppaluri (2012) realizaram a clarificação usando a microfiltração (MF) de suco de laranja centrifugado e pré-tratado com pectinase. Diferentes propriedades físico-químicas do suco de laranja, como cor, sólidos solúveis totais, pH, acidez e densidade medidas antes e depois de MF. O tratamento enzimático foi recomendado antes da MF de suco para aumentar o ciclo de vida da membrana já que este tratamento reduziu o teor de sólidos do suco reduzindo as incrustações na membrana. Os autores concluíram que a clarificação de suco de laranja utilizando a MF é um processo indicado para evitar sobrecarga na concentração do suco utilizando osmose reversa.

Sousa et al. (2016) realizaram a ultrafiltração com ultrassom assistido com o objetivo de purificar compostos fenólicos extraídos de chá verde. O ultrassom facilitou a permeação de compostos fenólicos através da membrana. Comparando membranas de ultrafiltração de diferentes tamanhos de corte, os autores concluíram que uma membrana de 20 kDa resultou em alta pureza de componentes da catequina no permeado (49% do conteúdo total de polifenóis totais). Os valores de turbidez dos permeados da ultrafiltração permaneceram inferiores a 5 NTU o que mostra que a ultrafiltração foi eficiente para a clarificação dos extratos contendo polifenóis, sendo que os extratos ficaram estáveis por 30 dias em refrigeração. Foi concluído que o processo de ultrafiltração assistido por ultrassom utilizando a membrana de 20 kDa purifica os compostos fenólicos a partir de extrato de chá verde de modo a garantir a pureza dos compostos fenólicos e a estabilidade do extrato.

Machado, Mello e Hubinger (2015) fizeram a concentração de compostos bioativos extraídos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) utilizando ultrafiltração e nanofiltração. A membrana de ultrafiltração utilizada foi de 100 kDa e as duas membranas diferentes de nanofiltração foram de tamanho de 200-300Da. A ultrafiltração e as duas diferentes membranas de nanofiltração apresentaram coeficientes de rejeição de 65%, 94% e 97% dos compostos fenólicos, respectivamente. Assim, a nanofiltração mostrou um melhor desempenho para a recuperação dos compostos bioativos do extrato aquoso de pequi.

Arend et al. (2017) concentraram composto bioativos extraídos de suco de morango (*Fragaria X ananassa Duch*) por nanofiltração do suco *in natura* e de suco microfiltrado. Houve uma retenção de 95% de compostos bioativos, não havendo degradação da cor do suco, logo a nanofiltração se mostrou um método eficaz para esse tipo de separação.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Preparo da matéria-prima**

A polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) foi adquirida de produtor rural na cidade de Presidente Olegário – MG. A polpa foi fracionada em lotes de 1 kg, armazenada em embalagens de polietileno e congelada em freezer a -18°C e descongelada até o momento da sua utilização.

#### **3.2. Extração de compostos bioativos da polpa de pequi**

Foi realizado um estudo preliminar para determinar as melhores condições de temperatura para a extração dos compostos fenólicos da polpa de pequi. Foi utilizada uma solução de concentração 40 g de polpa 100 mL<sup>-1</sup> de água conforme sugerido por (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015) e durante uma hora foram realizadas as extrações usando as temperaturas de 35, 55, 70, 80, 85 e 94°C. Fixando a temperatura a 80°C foi feito um segundo estudo variando a concentração de solução em 10, 30, 50 e 70 g de polpa em 100 mL de água, também utilizando um tempo de 1 h para as extrações. Após as extrações todos os extratos foram centrifugados conforme descrito no item 3.7.

Com os resultados obtidos a partir dos testes preliminares, as variáveis concentração de solução e temperatura tiveram seus efeitos avaliados empregando de um planejamento composto central como descrito a seguir.

#### **3.3. Planejamento composto central**

Para uma avaliação da influência das variáveis concentração de solução e temperatura na extração dos compostos fenólicos da polpa de pequi utilizou-se um planejamento composto central com três réplicas no ponto central para a determinação do erro estatístico. As variáveis e faixas utilizadas são apresentadas na Tabela 3. As respostas foram avaliadas em termos de

concentração de compostos fenólicos totais. Foram utilizados os pontos axiais de ortogonalidade. O tempo de extração foi fixado em 1 h conforme testes preliminares.

Tabela 3 - Variáveis reais e codificadas para o planejamento composto central.

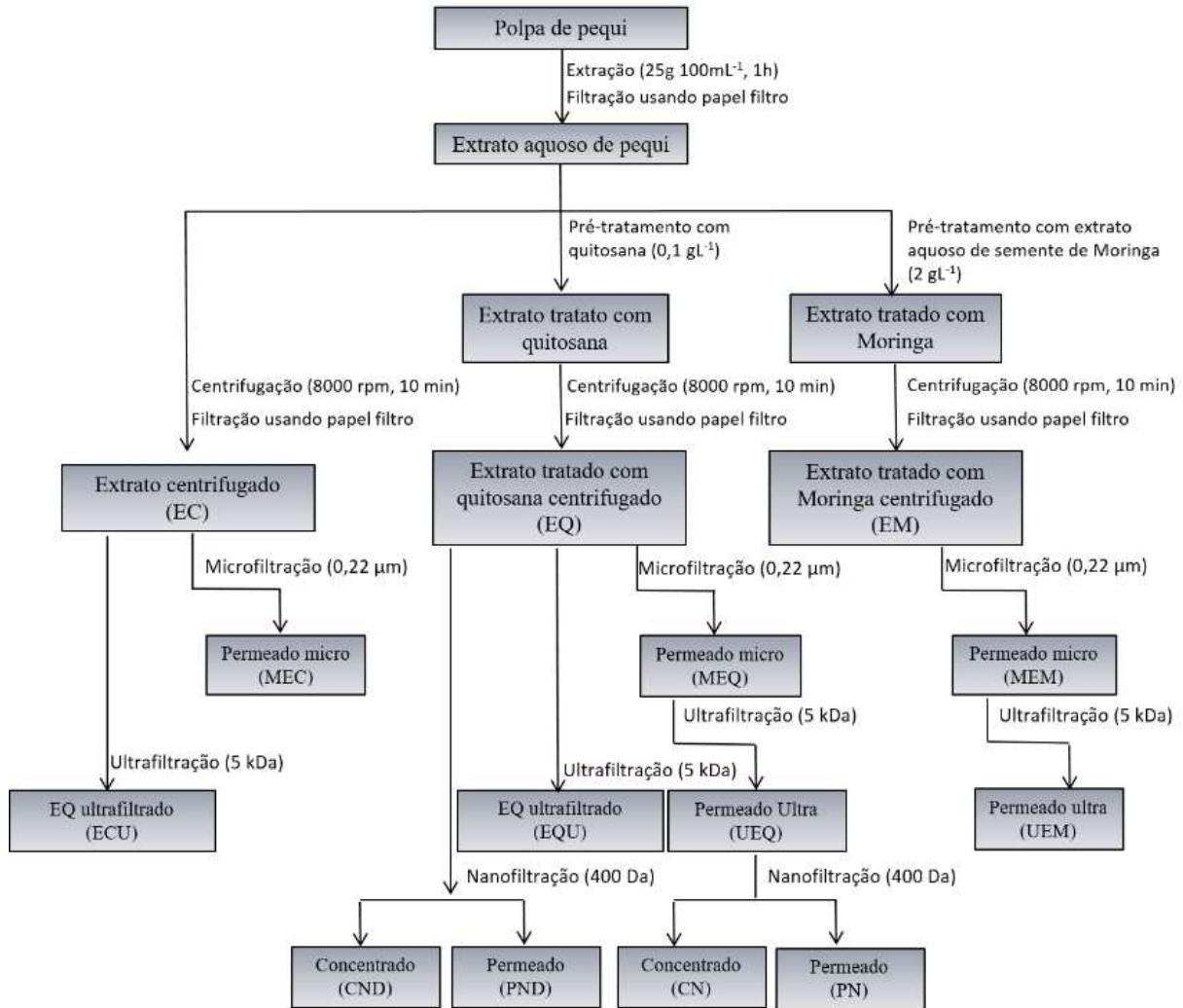
Nível	Concentração (g 100 mL <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)
<b>-1</b>	10	55
<b>0</b>	30	73
<b>1</b>	50	90
<b>-1,1474 (-α)</b>	7,1	52
<b>1,1474 (+α)</b>	52,9	93

Com os resultados dos testes preliminares e do planejamento composto central foram então determinadas as condições de extração dos compostos fenólicos de polpa de pequi utilizadas neste trabalho. As extrações foram realizadas durante 1 h com agitação magnética a 750 rpm durante todo o tempo, empregando uma concentração de solução de 25 g de polpa em 100 mL utilizando a temperatura de 80°C. Os extratos obtidos foram resfriados até 25°C e filtrados em papel filtro para retiradas de partículas maiores em suspensão. Após esse processo os extratos foram tratados com quitosana, extrato de semente de moringa ou centrifugação.

### 3.4. Fluxograma dos processos para concentração de compostos fenólicos

A Figura 4 mostra os processos aplicados a fim de clarificar e concentrar os extratos contendo compostos fenólicos presentes na polpa de pequi.

Figura 4 - Processos para realizar a concentração de compostos fenólicos da polpa de pequi.



Fonte: A autora.

### 3.5. Pré-tratamento do extrato com quitosana

Foi preparada uma solução  $10 \text{ g L}^{-1}$  de quitosana (Sigma-Aldrich, Islândia) hidrolisada em uma solução de ácido acético 5% (v/v). A hidrólise foi efetuada a temperatura ambiente por 5 h, sendo agitada constantemente (DOMINGUES et al., 2012).

Os tratamentos com quitosana foram realizados variando a concentração em 0,05, 0,1, 0,15 e  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  no extrato de polpa de pequi utilizando um aparato de *jar test* (Milan – JT-203, Brasil). As concentrações de quitosana foram determinadas a partir de testes preliminares. Amostras de 50 mL de do extrato da polpa foram adicionados a um bêquer de 150 mL. Uma

velocidade de 50 rpm e um tempo de 20 min foram utilizados pra a operação no equipamento, conforme sugerido na clarificação de suco de maracujá realizada por Domingues et al. (2012). Após o término da agitação, os extratos foram centrifugados para posteriores análises e processos.

### **3.6. Pré-tratamento com extrato aquoso de semente de moringa**

As sementes de moringa foram coletadas na cidade de Uberlândia (Minas Gerais, Brasil). Foram preparados extratos aquosos de semente de moringa, um com semente *in natura* sem pele e moída e um com a semente nas mesmas condições, porém após desengordurada por Soxhlet, utilizando n-hexano como solvente por 8 h. Ambos os extratos de semente de moringa foram preparados e utilizados imediatamente em uma concentração de 50 g L<sup>-1</sup> utilizando água destilada como solvente e as sementes trituradas. Estes extratos foram agitados por 2 min para a extração das proteínas poliaciônicas e os dois extratos resultantes foram filtrados em papel filtro (10 µm) para a retirada de partículas maiores conforme sugerido por Bhatia et al. (2007).

Os tratamentos com semente de moringa foram realizados variando a concentração dos extratos de 0,4 a 8 g L<sup>-1</sup> em extrato de polpa de pequi, utilizando um aparato de *jar test* (Milan – JT-203, Brasil). As amostras foram submetidas a uma agitação de 150 rpm por 5 minutos e logo após a rotação foi mudada para 30 rpm durante 30 min conforme sugerido por Bhatia et al. (2007).

### **3.7. Centrifugação**

Todos os extratos de polpa de pequi foram centrifugados em centrífuga (Beckman Coulter Avanti – J25) a 8000 rpm por 10 min. Após centrifugação, três fases foram identificadas: uma fase sólida decantada, um líquido intermediário e uma fase aquosa sobrenadante. A fase sólida foi desprezada e o líquido juntamente com o sobrenadante foram filtrados em filtro de papel (10 µm) para retirada da fase oleosa. A fase líquida filtrada foi então utilizada para a realização das análises.

### 3.8. Procedimento de filtração *dead end* para micro, ultra e nanofiltração

Os extratos de pequi foram clarificados em membranas planas de acetato de celulose de tamanho de poro de 0,22 µm (Milipore, EUA) e concentrados em membranas de polietersulfona de 5 kDa (Nadir) para as ultrafiltrações e de polieterulfona de 400 Da (NP030, Nadir) para a nanofiltração.

Para os processos de microfiltração do tipo *dead end* foram utilizados um módulo de filtração de capacidade de 1 L, com área efetiva de filtração de 0,0054 m<sup>2</sup> e a pressão operacional máxima para este experimento de 0,6 bar assegurada por um manômetro do tipo *bourdon*. Adicionou-se 170 mL de extratos de polpa de pequi na célula e esta foi pressurizada usando nitrogênio comprimido. Durante a filtração, o permeado foi coletado continuamente e seu volume foi medido até obter um fator de concentração de 1,70.

Para os processos de ultra e nanofiltração do tipo *dead end* foram utilizados um módulo de filtração de capacidade de 70 mL com área efetiva de filtração de 0,00193 m<sup>2</sup> e a pressão operacional foi de 6 bar para a ultrafiltração e de 8 bar para a nanofiltração, asseguradas por um manômetro do tipo *bourdon*. Para os experimentos adicionou-se 60 mL de solução na célula e esta foi pressurizada. Durante as ultra e nanofiltrações, os permeados foram coletados continuamente e o volume foi medido até obter um fator de concentração de 2.

Anteriormente a todas as micro e ultrafiltrações, as membranas foram compactadas com água deionizada logo antes do experimento. A pressão no lado do permeado era aproximadamente atmosférica sob todas as condições. As filtrações foram realizadas a 25°C.

O fator de concentração ( $F_c$ ) foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$F_c = \frac{V_a}{V_c}$$

(3)

sendo  $V_a$  e  $V_c$  o volume de alimentação e o volume de concentrado, respectivamente.

O fator de concentração de 1,70 para MF e 2 para UF foram escolhidos pois o permeado era suficiente para realizar as análises necessárias e já era possível verificar o comportamento do fluxo constante durante todo o tempo de filtração.

Uma curva fluxo (J) por tempo (t) foi obtida para cada filtração. O fluxo de permeado foi calculado conforme a Equação 4 em diferentes intervalos de tempo.

$$J = \frac{V_p}{tA}$$

(4)

em que  $V_p$  (L) é o volume de permeado recolhido, t (h) é o tempo decorrido da filtração, A ( $m^2$ ) é a área efetiva da membrana e J é o fluxo de permeado ( $L h^{-1} m^{-2}$ ).

### 3.9. Modelo de Hermia

O decaimento do fluxo de permeado durante a filtração é uma das principais desvantagens para a utilização dos processos de separação por membranas. Identificar os mecanismos que influenciam no processo de filtração é de grande importância a fim de minimizar esse acontecimento. Pode-se sugerir o modelo matemático de Hermia (1982) (Equação 5) que explica o fenômeno de decaimento do fluxo de permeado durante uma filtração do tipo *dead end* com pressão constante.

$$-\frac{dJ}{dt} = K_n J^{3-n}$$

(5)

sendo t o tempo de processo, K uma constante,  $n$  o tipo de mecanismo de bloqueio que ocorre na filtração e J é o fluxo de permeado ( $L m^{-2} h^{-1}$ ). Os mecanismos de bloqueio, bem como os modelos linearizados, são mostrados na Tabela 4, em que  $J_p$  é o fluxo de permeado,  $J_0$  é o fluxo inicial, k é a constante do mecanismo e t é o tempo de filtração:

Tabela 4- Mecanismos de *fouling* considerados pelo modelo de Hermia.

<b>n</b>	<b>Mecanismo de bloqueio</b>	<b>Equação linearizada</b>
<b>n=2</b>	Bloqueio completo	$\ln J_p = \ln J_0 - k_c t$
<b>n=1,5</b>	Bloqueio padrão	$J_p^{-0,5} = J_0^{-0,5} + k_p t$
<b>n=1</b>	Bloqueio intermediário	$J_p^{-1} = J_0^{-1} + k_i t$
<b>n=0</b>	Formação de torta	$J_p^{-2} = J_0^{-2} + k_t t$

### 3.10. Resistências

As resistências foram determinadas de acordo com o modelo de resistência em série, em que a resistência total ( $R_T$ ) é calculada como a soma da resistência hidráulica da membrana ( $R_M$ ) e as resistências devido a bloqueio de poros e formação de torta ( $R_P$  e  $R_C$ , respectivamente).

A determinação das resistências hidráulicas das membranas foi feita após a filtração de água destilada através das membranas limpas. A soma das resistências devido ao bloqueio dos poros e à formação de torta foram determinadas através da filtração de água destilada na membrana que foi previamente utilizada para a filtração do extrato de pequi. Após esse processo, a superfície da membrana foi fisicamente limpa com uma esponja e o fluxo de água foi medido para determinar a resistência devido ao bloqueio dos poros.

### 3.11. Análises da polpa de pequi

A polpa de pequi foi caracterizada quanto composição centesimal, acidez, pH e sólidos solúveis totais (°Brix) cujas metodologias são descritas a seguir.

### 3.11.1. Umidade

O procedimento foi realizado conforme o método 935.29 (A.O.A.C., 2005). A umidade da polpa foi determinada por método gravimétrico. Foram pesados aproximadamente 5 g de amostra. Na sequência estas foram colocadas em estufa a 105 °C. Posteriormente, a amostra foi resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada em balança analítica (Shimadzu –AX200, Brasil). Essa operação, de aquecimento e resfriamento, foi repetida até que a amostra atingisse peso constante.

O percentual de umidade das amostras foi calculado de acordo com a Equação 6.

$$X = \frac{m_0 - m_f}{m_f} \times 100 \quad (6)$$

em que,  $m_0$  e  $m_f$  são a massa da amostra antes e depois da secagem em estufa, respectivamente.

### 3.11.2. Cinzas

O procedimento foi realizado conforme o método 923.03 (A.O.A.C., 2005). Cerca de 5 g de amostra foi adicionada em uma cápsula previamente aquecida em estufa a 105 °C e com massa conhecida. As amostras foram colocadas em mufla (Jung – LF00614, Brasil) a 550°C por 5 h. Em sequência, resfriou-se as amostras em dessecador até a temperatura ambiente, para depois serem pesadas, para a obtenção da massa de cinzas. A porcentagem de cinzas foi determinada utilizando-se a Equação 7.

$$C = \frac{N}{P} \times 100 \quad (7)$$

sendo  $C$  o teor de cinzas (g),  $N$  a massa de cinzas (g) e  $P$  a massa de amostra (g).

### 3.11.3. Proteínas

O método utilizado pra a determinação de proteínas na polpa de pequi foi o método 2001.11 conforme (A.O.A.C., 2005). Brevemente, cerca de 1 g de amostra foi colocada em um tubo digestor, juntamente com uma mistura digestora composta por selenito de sódio, sulfato de cobre, ácido sulfúrico e água destilada. A mistura foi levada para um bloco digestor pré-aquecido a 100°C e a temperatura foi elevada aos poucos até atingir 370°C e a mistura adquirir uma coloração azul esverdeada. O tubo foi resfriado e adicionado 100 mL de água destilada na amostra.

A destilação da amostra foi feita adicionando aos poucos hidróxido de sódio a 40% na solução, utilizando uma solução receptora de nitrogênio composta por ácido bórico 42 g L<sup>-1</sup> e como solução indicadora composta por verde de bromocresol e vermelho de metila. A destilação foi feita até se atingir o ponto de viragem. O próximo passo foi titular a solução contendo brometo de amônio com ácido sulfúrico 0,1 N.

O cálculo da quantidade de proteínas foi realizando utilizando a Equação 8:

$$PB = \frac{0,1 \cdot mL_{H_2S0_4} \cdot 6,25}{M} \quad (8)$$

Em que 0,1 é a normalidade do ácido usado na titulação, 6,25 é o fator de nitrogênio contido nas proteínas dos alimentos e M é a massa inicial de amostra (g) e mL<sub>H2S04</sub> é o volume de ácido necessário para a neutralização.

### 3.11.4. Lipídeos

O procedimento foi realizado conforme o método 963.15 (A.O.A.C., 2005). Colocou-se aproximadamente 1 g de amostra em um cartucho de papel próprio para o extrator Soxhlet. Em um balão de destilação de massa conhecida, adicionou-se n-hexano (o sistema foi montado com uma manta de aquecimento, condensador e mangueiras para circulação de água utilizada para resfriamento). O sistema foi aquecido a 70°C e mantido sobre refluxo. A extração ocorreu por 6 horas. Após esse período, o balão contendo os lipídeos e solvente foi levado a estufa

(Biomatic, Brasil) a 105° até evaporação total do solvente. A massa de lipídeos foi calculada por diferença de peso.

### 3.11.5. Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado pela diferença dos valores encontrados para umidade, lipídeos, proteínas e cinzas em 100 g do produto.

### 3.11.6. Acidez

O teste de acidez foi realizado por titulometria. Foram pesados 5 g da polpa de pequi em um Erlenmeyer de 125 mL. Como indicador ácido base, foram adicionadas 4 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. A solução final foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 M, até que se atingisse coloração rósea.

O cálculo da acidez foi realizado utilizando a Equação 9.

$$A = \frac{V \times f}{P \times c} \times 100 \quad (9)$$

sendo que:  $A$  é a acidez (v/m);  $V$  é o volume da solução de hidróxido de sódio 0,1M gasto na titulação (mL);  $f$  é o fator da solução de hidróxido de sódio 0,1M;  $P$  é a massa da amostra usado na titulação (g);  $c$  é a correção para solução de NaOH, sendo 10 para solução NaOH 0,1M.

### 3.11.7. Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH foi medido utilizando-se um potenciômetro (Gehaka – PG2000, Brasil).

### 3.11.8. Sólidos Solúveis Totais (°Brix)

O teor de sólidos solúveis, expresso em °Brix, foi determinado utilizando-se um refratômetro de bancada (Hanna Instruments -HI 96801, EUA), segundo a metodologia do INSTITUTO ADOLF LUTZ (1985).

## 3.12. Análises dos extratos

Todos os extratos aquosos de polpa de pequi foram analisados quanto ao teor de compostos fenólicos totais, lipídeos, sólidos solúveis totais, sólidos totais e pH cujas metodologias são descritas em sequência.

### 3.12.1. Teor de fenólicos totais (TPC)

A quantificação de fenólicos totais em extratos de polpa de pequi foi feita pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteau. Brevemente, o extrato foi diluído em água destilada na proporção de 1:5 m/v. 0,5 mL da diluição foi adicionada a um tubo de ensaio, seguido pela adição de 2,5 mL de uma solução aquosa a 10% de reativo para fenol Folin-Cicateau. Após três minutos foram adicionados 2 mL de uma solução a 7,5% de carbonato de sódio. O branco para calibrar o espectrofotômetro foi feito apenas substituindo a diluição da polpa por água destilada. As amostras foram incubadas sob o abrigo de luz por 1 h, logo após foram lidas em 760 nm em um espectrofotômetro (Shimadzu mini 1240, Japão) (SWAIN; HILLIS, 1969).

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi feita a partir de uma curva de calibração padrão utilizando ácido gálico mostrada no Apêndice A, sendo as concentrações variando na faixa de 0,5 a 100  $\mu\text{g}_{\text{AG}} \text{ mL}^{-1}$ .

### 3.12.2. Lipídeos

Para a determinação da porcentagem de lipídeos nos extratos de polpa de pequi foi utilizado o método proposto por Bligh e Dyer (1959). Foram pesados aproximadamente 3 g de amostra em um erlenmeyer ao qual foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL metanol

e 5 mL água, totalizando em uma proporção de 1:2:0,8. A solução resultante foi submetida à agitação rotativa por 30 min. Logo após, foram adicionados 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%, agitada por 2 min. Após decantação, foi retirada uma alíquota de 14 mL da fase clorofórmica, adicionou-se 1 g de sulfato de sódio anidro, agitou-se e filtrou-se. Uma alíquota de 5 mL do filtrado foi colocada em uma placa de petri previamente calibrada e foi levada à estufa a 100°C até a evaporação total do solvente. A porcentagem de lipídeos para cada amostra foi calculada de acordo com a Equação 10:

$$\%_{Lipídeos} = \frac{Px4}{M} \times 100 \quad (10)$$

sendo P a massa de lipídeos obtida em 5 mL após secagem em estufa e M a massa inicial de amostra.

### 3.12.3. Sólidos Totais

Os sólidos totais contidos em cada extrato foram determinados colocando-se aproximadamente 5 mL dos extratos placas de petri com massa conhecida. Estas placas foram colocadas em estufa (Biomatic, Brasil) a 105°C por 24 h. Após o tempo decorrido, a massa final de sólidos foi aferida com o auxílio de uma balança analítica (Shimadzu –AX200, Brasil) e a concentração de sólidos foi calculada por diferença de massa(SOUZA et al., 2016).

### 3.12.4. Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH dos extratos foi medido conforme descrito no item 3.11.7.

### 3.12.5. Sólidos Solúveis Totais (°Brix)

O teor de sólidos solúveis, expresso em °Brix, foi determinado utilizando-se metodologia descrita no item 3.11.8.

### 3.12.6. Cromatografia líquida

Para a análise dos polifenóis individuais os extratos foram injetados e analisados de acordo com Chisté et al. (2012) com modificações. As curvas de calibração para os padrões de ácido gálico, ácido elágico e ácido p-cumárico são apresentadas no Apêndice B. O tempo de retenção para o ácido gálico foi de 3,9 min, para o ácido elágico de 15,8 e para o ácido p-cumárico 28,1 min. Os três ácidos foram identificados num comprimento de onda de 280 nm. Utilizou-se cromatógrafo Shimatzu HPLC (modelo LC-20A Prominence) equipado com uma coluna Discovery HS C18 em temperatura de 40°C. O volume de injeção foi 10  $\mu$ L e o fluxo 0,7 mL min<sup>-1</sup>. A fase móvel utilizada foi 2% (v/v) ácido acético em água (eluente A) e 0,5% ácido acético e água em acetonitrila (50:50 v/v, eluente B) utilizando um gradiente de 10 a 24% de B durante 20min, de 24 a 30% de B durante 20 min, de 30 a 55% de B durante 20 min, de 55 a 100% de B por 15 min, 100% de B por 8 min e de 100 a 10% de B por 2 min. O tempo total de corrida foi de 90 min conforme sugerido por (RIBEIRO et al., 2015).

### 3.13. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As membranas de microfiltração (0,22  $\mu$ m) encaminhadas para esta análise foram primeiramente fixadas em *stubs* com auxílio de fita dupla face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro no metalizador (Leica – EM SCD050). Para a microscopia das sessões transversais, as membranas foram congeladas em nitrogênio líquido e quebradas com auxílio de pinças. As análises morfológicas das membranas foram realizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV, Carl Zeiss, modelo EVO MA10).

### 3.14. Análises estatísticas

As diferenças entre médias mostradas nos resultados das análises de caracterização do extrato foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA), utilizando o teste de Tukey, com significância de 5%. Os resultados experimentais do planejamento composto central foram analisados por meio de análise de superfície de resposta. Foi realizada uma regressão múltipla,

obtiveram-se então os parâmetros relacionados às variáveis isoladas e às interações e termos quadráticos. A determinação dos parâmetros que foram significativos foi realizada por meio de um teste de hipótese utilizando uma t de *Student* considerando um nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ). O modelo para gerar a superfície foi composto apenas com os efeitos que foram significativos. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software Statistica® 7.1

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização da polpa de pequi

Na primeira etapa do trabalho foi realizada a caracterização da polpa de pequi, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização da polpa de pequi

Caracterização	Médias ± Desvio padrão	
	Este trabalho	Cardoso et al. (2013)
Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )	71,53 ± 0,18	51,70 ± 0,30
Cinzas (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,25 ± 0,01	0,50 ± 0,10
Proteínas (g 100 g <sup>-1</sup> )	1,35 ± 0,01	2,20 ± 0,10
Lipídeos (g 100 g <sup>-1</sup> )	16,67 ± 0,82	33,10 ± 0,30
Carboidratos (g 100 g <sup>-1</sup> )	10,20 ± 0,02	12,60 ± 0,40
Acidez titulável (% de ácido cítrico)	0,35 ± 0,02	0,60 ± 0,10
pH	4,58 ± 0,07	6,50 ± 0,10
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	5,20 ± 0,10	7,40 ± 0,50

Comparando as características da polpa utilizada neste trabalho com os valores reportados por Cardoso et al. (2013), conforme apresentado na Tabela 5, nota-se que o fruto do pequi possui variabilidade em sua composição. As variações verificadas se devem principalmente a diferentes estados de maturação, condições do plantio e localização geográfica de onde foi colhido o fruto (CARDOSO et al., 2013). O fruto caracterizado por Cardoso et al. (2013) foi colhido na cidade de Curvelo (Minas Gerais, Brasil), cidade que fica a uma distância de 375 km da cidade de onde a fruta utilizada neste trabalho foi adquirida.

A polpa de pequi apresenta pH levemente ácido. Resultados semelhantes foram verificados nos trabalhos de Cardoso et al. (2013) e de Vera et al. (2005) que obteve um pH

médio de 5,79 para polpa deste fruto proveniente colhidos em cinco diferentes do estado de Goiás (Brasil).

O fruto pequi apresentou teor de lipídeos semelhantes a frutos como o abacate (22%, BARROS et al., 2016) e como frutos de palmeiras jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) e guariroba (*Syagrus oleracea*) (13,60 e 7,48%, respectivamente (COIMBRA; JORGE, 2011)). Ainda, o pequi também apresenta umidade semelhante ao abacate (68%, (BARROS et al., 2016)). Os resultados deste trabalho corroboram com a caracterização da polpa de pequi congelado (Cooperativa Grande Sertão , Montes Claros, Minas Gerais, Brasil) realizada por Machado, Mello e Hubinger (2013) que encontraram valores de  $51,17\% \pm 3,78$  e  $26,30\% \pm 1,47$  para umidade e lipídeos, respectivamente. Assim, pode-se considerar que o pequi é um fruto suculento (alto teor de umidade) e com alto teor de lipídeos. O pequi contém baixos valores de cinzas e proteínas e um valor considerável de carboidratos. Estes resultados estão de acordo com os publicados por Cardoso et al. (2013).

De acordo com a Tabela 5, o teor de sólidos solúveis do pequi foi de 5,2 °Brix. No estudo da vida de prateleira de pequi minimamente processado estocado a diferentes temperaturas, Damiani et al. (2008) encontraram um teor de sólidos solúveis totais de 5,1° Brix no primeiro dia de estocagem. O valor para a acidez da polpa de pequi deste trabalho é pouco menor do reportado por Cardoso et al. (2013), observaram um valor médio de 0,6%. Segundo Gonçalves et al.(2000), mudanças climáticas, nutrição mineral da planta e grau de maturação são interferentes importantes no teor de acidez dos frutos o que explica essa diferença nos valores de acidez.

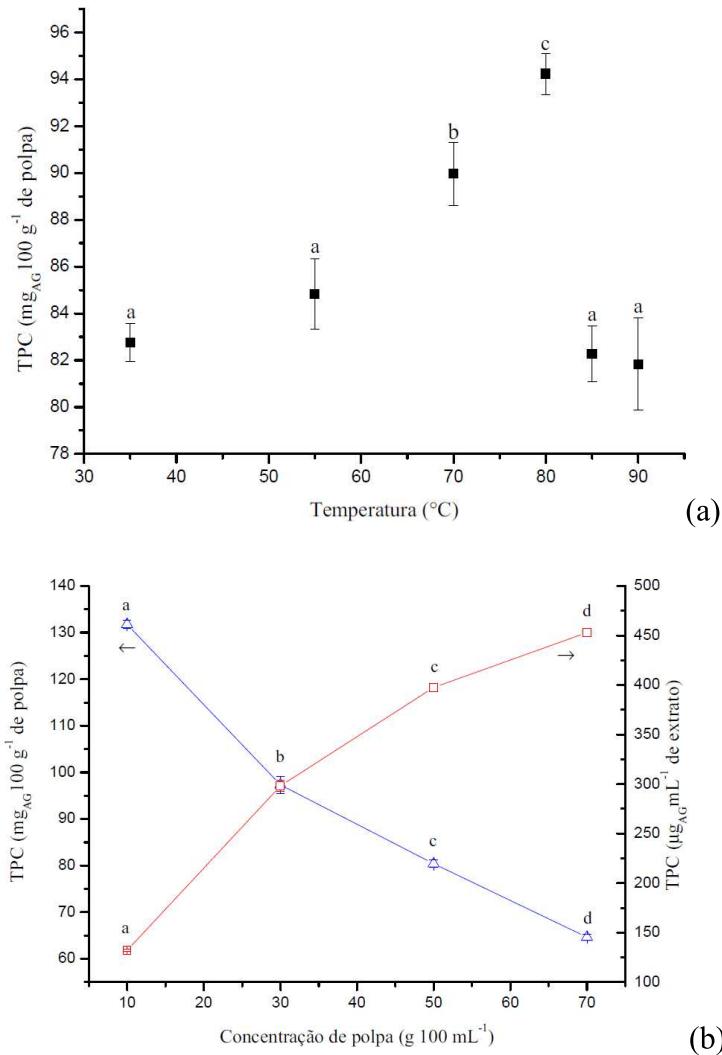
## 4.2. Extração de compostos bioativos da polpa de pequi

### 4.2.1. Testes preliminares

Inicialmente foram realizados testes para verificar individualmente a influência da temperatura e da concentração de polpa na extração aquosa de compostos fenólicos presentes na polpa de pequi. A Figura 5(a) mostra a relação entre temperatura e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando uma concentração de 40 g em 100 mL e a

5(b) a relação entre concentração de polpa e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando temperatura de 80°C.

Figura 5 - (a) Relação entre temperatura e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando uma concentração de 40 g 100 mL<sup>-1</sup>. (b) Relação entre concentração de polpa e teor de compostos fenólicos totais (TPC) no extrato de pequi utilizando temperatura de 80°C.



\*Letras diferentes em uma mesma figura indicam estatisticamente diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Na Figura 5(a) pode-se verificar que o maior teor de compostos fenólicos totais foi encontrado na extração aquosa realizada na temperatura de 80°C. Aumentos na temperatura podem diminuir a viscosidade do extrato, aumentando assim o coeficiente de difusão fazendo

com que haja uma maior solubilidade dos compostos fenólicos. A degradação de componentes celulares dos vegetais também aumenta com aplicação de maiores temperaturas, aumentando a permeabilidade das membranas celulares, facilitando a liberação dos polifenóis para o solvente, contribuindo para uma maior extração (GONG et al., 2012; WANG et al., 2008). Na extração de compostos fenólicos de chá de *Huaguoshan Yunwu* realizada por Guo et al. (2016) houve um aumento no teor de compostos fenólicos quando se aumentou a temperatura de extração de 60°C para 90°C utilizando água como solvente. Na extração de compostos bioativos extraídos da casca de romã realizada por Sood e Gupta (2015) houve um aumento na eficiência da extração quando a temperatura aumentou de 50°C para 70°C. Contudo, conforme pode ser observado na Figura 5(a), a partir de 80°C houve o decréscimo do teor de compostos fenólicos totais no extrato de pequi obtido. Vuong et al. (2011) realizou a extração aquosa de compostos fenólicos a partir de chá verde (*Camellia sinensis var. pubilimba*) e verificou que temperaturas acima de 80°C podem degradar estes compostos. Assim, para as condições fixadas de extração (água como solvente, concentração de polpa de 40 g 100 mL<sup>-1</sup>, agitação magnética de 700 rpm durante 60 min) sugere-se a temperatura de 80°C como melhor condição para extração de compostos fenólicos da polpa de pequi.

Com relação à influência da concentração de polpa, conforme mostrado na Figura 5(b), tem-se que o aumento da concentração de polpa de pequi em solução aquosa diminui o teor de compostos fenólicos extraídos expressos em mg<sub>AG</sub> (100 g<sup>-1</sup> de polpa). Quando se analisa os resultados de compostos fenólicos em µg<sub>AG</sub> mL<sup>-1</sup> verifica-se que o comportamento é contrário ao encontrado em mg<sub>AG</sub> (100 g<sup>-1</sup> de polpa). Esses resultados mostram que quanto mais solvente disponível, mais compostos fenólicos são extraídos da polpa, porém em termos de porcentagem em solução, como há muito solvente, esse valor fica mais baixo e o contrário ocorre para altas concentrações de polpa. De acordo com Al-Farsi e Lee (2008) uma maior quantidade de água disponível causa uma maior dissolução dos compostos fenólicos, o que explica os maiores valores destes em baixas concentrações de polpa. Resultados semelhantes a este foram encontrados no trabalho de Sood e Gupta (2015) que fizeram extração de compostos bioativos de casca de romã. Assim, embora a eficiência da extração seja favorecida com o aumento da quantidade de solvente, deve-se considerar que o extrato obtido estará diluído no solvente. Esta diluição implicará em maiores demandas no processo sequencial de concentração. Portanto, para que o extrato apresente uma quantidade considerável de compostos fenólicos sem aumentar demasiadamente a diluição, sugere-se a concentração de polpa de 25 g 100 mL<sup>-1</sup> como condição favorável.

#### 4.2.2. Planejamento Composto Central

Os testes preliminares realizados serviram como base para determinação das faixas a serem analisadas no planejamento. Não foram encontrados na literatura trabalhos que realizam a otimização do processo de extração de compostos fenólicos de pequi. Porém, alguns estudos relatam sobre a extração de compostos fenólicos em diferentes condições. Roesler et al., (2007) realizaram a extração de compostos fenólicos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em temperatura ambiente durante 20 min. Machado; Mello e Hubinger, (2013) realizaram a extração alcoólica e aquosa de compostos fenólicos do pequi durante 1 h em temperatura também ambiente.

A Tabela 6 apresenta as condições experimentais para o planejamento experimental avaliado e os resultados para o teor de compostos fenólicos (TPC). Por meio destes resultados pode-se verificar que o valor extraído de compostos fenólicos da polpa de pequi variou de 62,80 a 116,38  $\text{mg}_{\text{AG}} 100 \text{ g}^{-1}$  para a faixa experimental estudada.

Tabela 6 - Resultados das médias e desvios padrão para o teor de compostos fenólicos totais.

Ensaios	Variável Real		TPC ( $\text{mg}_{\text{AG}} 100 \text{ g}^{-1}$ polpa)
	Concentração de polpa (g 100 mL <sup>-1</sup> ) (x <sub>1</sub> )	Temperatura (°C) (x <sub>2</sub> )	
1	10 (-1)	55 (-1)	70,94 ± 1,13
2	10 (-1)	90 (+1)	116,38 ± 0,88
3	50 (+1)	55 (-1)	80,00 ± 0,62
4	50 (+1)	90 (+1)	84,62 ± 0,24
5	7,1 (-α)	73 (0)	94,50 ± 1,04
6	52,9 (+α)	73 (0)	62,80 ± 0,89
7	30 (0)	52 (-α)	85,18 ± 0,41
8	30 (0)	93 (+α)	104,70 ± 1,81
9	30 (0)	73 (0)	82,91 ± 0,87
10	30 (0)	73 (0)	83,29 ± 0,43
11	30 (0)	73 (0)	81,86 ± 1,08

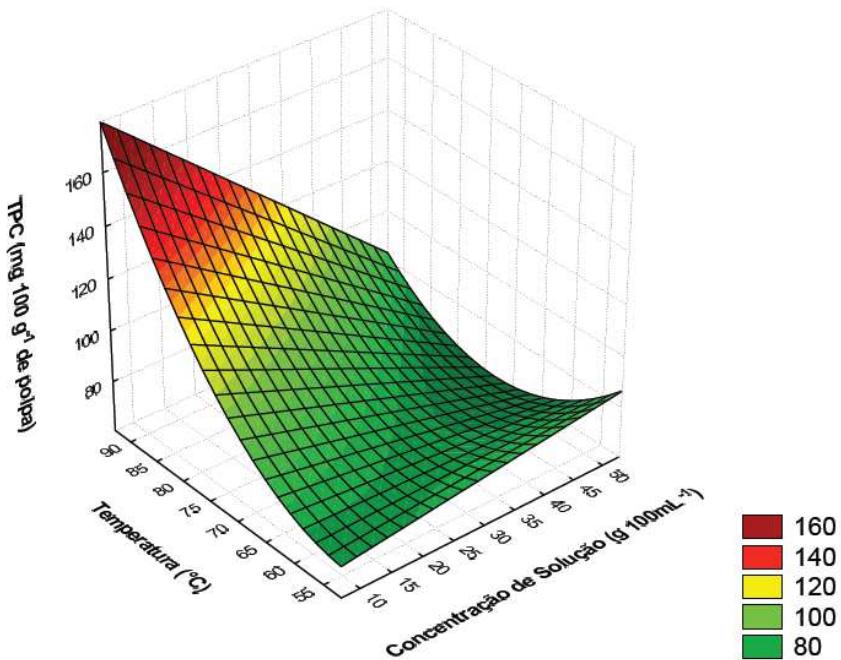
O modelo encontrado para a extração de compostos fenólicos extraídos com água da polpa de pequi, dentro das faixas de concentração e temperatura estudadas e considerando apenas as variáveis significativas a  $p < 0,05$  é mostrado pela Equação 11:

$$TPC = 80,75 - 17,81x_1 + 21,84x_2 + 17,75x_2^2 - 20,41x_1x_2 \quad (11)$$

Sendo que o coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o modelo ajustado foi de 0,93 indicando que o modelo explicou 93% da variabilidade dos dados observados.

A Figura 6 mostra a superfície de resposta gerada a partir da Equação 11 e mostra a influência da temperatura e concentração de solução na extração de compostos bioativos da polpa de pequi.

Figura 6 - Superfície de resposta sobre a influência da temperatura e concentração de solução na extração de compostos bioativos da polpa de pequi.



A temperatura apresentou de forma isolada um efeito positivo significativo, ou seja, quando se utiliza maiores temperaturas obtém-se extratos com maior teor de compostos fenólicos totais. No nível superior de temperatura (90°C e Ensaios 2 e 4), a concentração de polpa apresentou uma influência negativa, ou seja, maiores concentrações de polpa de pequi fizeram com que a extração fosse menos eficiente. No nível inferior de temperatura (55°C e Ensaios 1 e 3) ocorreu o contrário, houve um pequeno acréscimo dos valores de compostos

fenólicos totais conforme se aumentou a concentração de polpa em solução, porém, este resultado não era esperado. Em baixas concentrações (Ensaios 1 e 2) a temperatura apresentou um grande efeito positivo, ou seja, maiores temperaturas fizeram com que houvesse um aumento nos resultados de compostos fenólicos totais. Porém, em altas concentrações (Ensaios 3 e 4), mesmo apresentando um efeito ainda positivo no resultado de compostos fenólicos totais, esse efeito não foi tão acentuado quanto o verificado em baixas concentrações.

Como mostrado na Tabela 6, o maior valor de compostos fenólicos totais obtido dentro dos parâmetros de temperatura e concentração estudados foi de  $116 \text{ mg}_{\text{AG}} 100\text{g}^{-1}$  de polpa que equivale a  $116,38 \text{ } \mu\text{g}_{\text{AG}} \text{ mL}^{-1}$  de extrato. Os resultados do planejamento compostos centram corroboram com o comportamento verificado para a extração dos compostos fenólicos nos testes preliminares

Como soluções muito diluídas não são apropriadas economicamente para a concentração por membranas e altas concentrações de polpa são inviáveis devido ao custo do fruto, a condição de extração escolhida foi próxima à intercessão das curvas dos resultados de compostos fenólicos totais dos testes preliminares (25 g de polpa  $100 \text{ mL}^{-1}$  de solução), por 1 h utilizando temperatura de  $80^{\circ}\text{C}$ . Essa condição de extração é similar à concentração de polpa de pequi utilizada na extração de compostos fenólicos de polpa de pequi utilizada nos trabalhos de Machado, Mello e Hubinger (2013) e é a concentração escolhida neste trabalho para se realizar a extração dos compostos fenólicos da polpa de pequi.

O resultado de compostos fenólicos totais obtido na extração nas condições previamente determinadas foi de  $109,65 \text{ mg}_{\text{AG}} 100\text{g}^{-1}$  ( $274,13 \text{ } \mu\text{g}_{\text{AG}} \text{ mL}^{-1}$ ). Este resultado é superior a alguns dados da literatura. Souza et al. (2013) fizerem a extração de polifenóis da polpa de pequi acondicionadas em diferentes embalagens utilizando metanol como solvente. Os autores encontraram em pequis embalados a vácuo  $69,56 \text{ mg}_{\text{AG}} 100 \text{ g}^{-1}$  e em pequis armazenados em filmes de PVC  $82,48 \text{ mg}_{\text{AG}} 100\text{g}^{-1}$ . Machado, Mello e Hubinger (2015) que realizaram a extração aquosa dos compostos fenólicos utilizando uma concentração de solução de 1:3 m/v, durante 1 h como neste trabalho, mas com o diferencial de ter utilizado temperatura ambiente e fazerem duas extrações consecutivas da polpa, conseguindo extrair uma quantidade de  $216,38 \text{ } \mu\text{g}_{\text{AG}} \text{ mL}^{-1}$ . Lima et al. (2007) encontraram valores muito superiores ao deste trabalho, atingindo  $209,0 \text{ mg}_{\text{AG}} 100\text{g}^{-1}$  de compostos fenólicos totais em polpa integral de pequi.

Os resultados de compostos fenólicos extraídos de polpa de pequi são próximos aos encontrados para Açaí (*Euterpe oleracea*) com  $136,8 \text{ mg}_{\text{AG}} 100 \text{ g}^{-1}$ , morango (*Gingo biloba*)

com 132,1 mg<sub>AG</sub> 100 g<sup>-1</sup>, goiaba (*Psidium guayava*) com 83,1mg 100g<sup>-1</sup>, superiores ao valores encontrados para abacaxi (*Ananas sativa*) com 21,7 mg<sub>AG</sub> 100 g<sup>-1</sup> e maracujá (*Passiflora edulis*) com 20,2 mg<sub>AG</sub> 100g<sup>-1</sup> (KUSKOSKI et al., 2005) e inferiores aos encontrados para chá verde (*Camellia sinensis*) 6402 µg<sub>AG</sub> mL<sup>-1</sup>(SOUZA et al., 2016) e amora 850 mg<sub>AG</sub> 100g<sup>-1</sup> (SOUZA et al., 2014).

#### 4.3. Clarificação do extrato de polpa de pequi utilizando quitosana

A Tabela 7 mostra os resultados obtidos para as análises realizadas utilizando diferentes concentrações de quitosana nos extratos aquosos de pequi e a Figura 7 mostra a porcentagem de redução para as análises de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais em relação ao extrato sem tratamento.

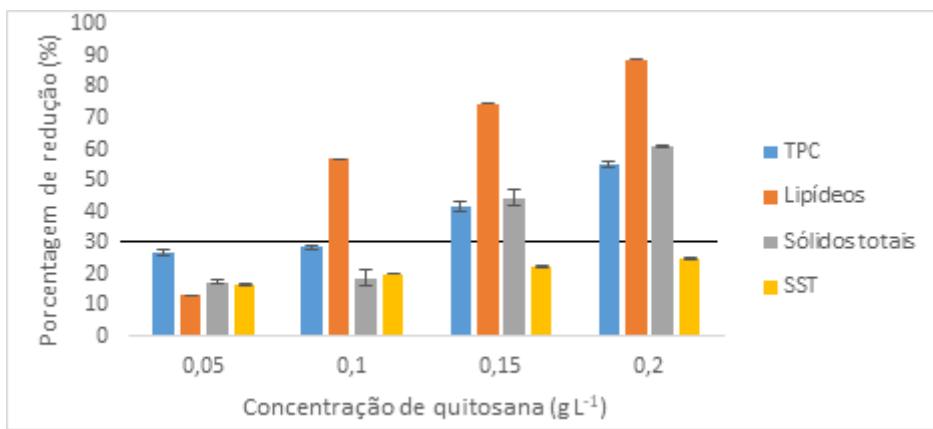
Tabela 7 - Características do extrato de pequi após processos de adsorção com quitosana em diferentes concentrações

Concentração de quitosana (g L <sup>-1</sup> )	TPC (mg <sub>AG</sub> 100 g <sup>-1</sup> de polpa)	Teor de lipídeos (%)	Sólidos solúveis totais (°Brix)	Sólidos totais(g L <sup>-1</sup> )	pH
<b>0 (EC)</b>	108,56 <sup>a</sup> ± 0,44	1,07 <sup>a</sup> ±0,20	1,20 <sup>a</sup> ± 0,00	20,6 <sup>a</sup> ± 0,39	4,66 <sup>a</sup> ± 0,02
<b>0,05</b>	79,49 <sup>b</sup> ± 1,11	0,93 <sup>a</sup> ± 0,38	1,00 <sup>b</sup> ± 0,00	17,01 <sup>b</sup> ± 0,16	4,24 <sup>b</sup> ± 0,02
<b>0,10</b>	77,52 <sup>b</sup> ± 0,57	0,46 <sup>b</sup> ± 0,35	0,96 <sup>b,c</sup> ± 0,06	16,73 <sup>b</sup> ± 0,18	4,06 <sup>c</sup> ± 0,02
<b>0,15</b>	63,37 <sup>c</sup> ± 1,53	0,27 <sup>b</sup> ± 0,10	0,93 <sup>b,c</sup> ± 0,05	11,42 <sup>c</sup> ± 0,53	3,93 <sup>c,d</sup> ± 0,07
<b>0,20</b>	48,31 <sup>d</sup> ± 1,05	0,12 <sup>c</sup> ± 0,15	0,90 <sup>c</sup> ± 0,05	8,03 <sup>d</sup> ± 0,07	3,82 <sup>d</sup> ± 0.10

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam estatisticamente diferença significativa entre as amostras (p≤0,05).

Conforme se aumenta a concentração de quitosana observa-se a redução de valores em todas as análises realizadas para a caracterização dos extratos de pequi. Houve uma redução que variou de 27 a 55% no teor de compostos fenólicos, devido ao fato da quitosana ter afinidade tanto aos sólidos contidos no extrato bem como aos compostos fenólicos, ligando-se a eles, fazendo com que ocorra uma precipitação (SHAHIDI; ARACHCHI; JEON, 1999). Spagna et al. (1996) verificaram uma redução que variou de 29 a 33% dos compostos fenólicos quando se utilizou quitosana para a clarificação de vinhos.

Figura 7 - Porcentagem de redução em relação ao extrato sem tratamento para as análises de TPC, Lipídeos e Sólidos Totais e Sólidos solúveis totais.



Houve também uma redução significativa no teor de lipídeos presentes nos extratos de polpa de pequi. Essa redução foi verificada para todas as concentrações de quitosana utilizadas, variando de 13 a 89%. Devido à alta densidade de cargas positivas da quitosana, ela atrai e se liga aos lipídeos que são moléculas de gordura que possuem carga negativa formando uma espécie de esponja que pode ser retirada por centrifugação (AZEVEDO et al., 2007). Jarto et al. (2015) mostraram que a concentração lipídica residual no pó final de concentrado de proteína de soro foi inferior a 1% quando se adicionou solução de quitosana a 0,010% (p/p). De acordo com Hwang e Damodaran (1995) há uma interação eletrostática entre a quitosana e os glóbulos de gordura de leite negativamente carregados que promovem a remoção de lipídios do soro de soro. As reduções no teor de lipídios do extrato de frutos de pequi são desejáveis para um tratamento adicional de filtração por membrana ou mesmo considerando um produto alimentar com baixo teor de gordura. A Figura 8 mostra o extrato de pequi antes e após a centrifugação e o óleo retirado dos extratos de polpa de pequi nas diferentes concentrações de quitosana utilizada para os estudos de clarificação.

Figura 8–Efeito da concentração de quitosana no óleo extraído dos extratos de pequi por centrifugação.



Embora a adição de quitosana tenha diminuído significativamente o teor de sólidos solúveis presentes nos extratos, o aumento da concentração de quitosana até  $0,15 \text{ g L}^{-1}$  não diminuiu significativamente o teor de sólidos solúveis. Isto indica que concentrações de ácidos orgânicos e açúcares presentes nos sucos permaneceram inalteradas conforme foi se aumentando a concentração do adsorvente (CHATTERJEE et al., 2004). Na clarificação de suco de fruta de uva, limão, maçã e laranja realizada por Chatterjee et al., (2004), os valores de sólidos solúveis não mudaram significativamente ( $p>0,05$ ) com a adição de quitosana.

Os sólidos totais presentes em solução diminuíram significativamente conforme houve o aumento da concentração de quitosana, sendo a maior redução obtida na concentração  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  sendo essa redução maior que 60%. De acordo com Rao et al. (2011) a quitosana é capaz coagular os componentes aniónicos tais como a pectina e a proteína e então separar as partículas em suspensão dos extratos diminuindo então os sólidos totais. Alguns estudos foram realizados para analisar a interação da quitosana com proteínas e carboidratos, procurando esclarecer o processo de clarificação de sucos. No trabalho de Boeris et al. (2011) foi avaliada a interação eletrostática entre quitosana e pepsina em diferentes valores de pH. Os autores conseguiram como resultados demonstrar a interação da quitosana com proteínas abaixo do ponto isoelétrico, pH 5. Marudova, Macdougall e Ring. (2004) avaliaram a interação da quitosana e pectina, apresentando como resultado que a quitosana é capaz de se ligar a esses compostos em valores de pH levemente ácidos, fazendo com que seja possível a clarificação de sucos.

O pH se tornou cada vez mais ácido com o aumento da concentração da quitosana, o que esperado, já que a quitosana foi hidrolisada em ácido acético. Domingues et al. (2012) em um planejamento experimental concluiu que pHs mais ácidos favorecem a redução de turbidez, cor e viscosidade, mostrando que a quitosana é um agente clarificante da polpa de maracujá.

Considerando que a diminuição do teor de lipídios foi estatisticamente equivalente para concentrações de quitosana de 0,10 e 0,15 g L<sup>-1</sup> e, para não comprometer muito o conteúdo de polifenóis, sugere-se a concentração de quitosana de 0,1 gL<sup>-1</sup>(EQ) para o tratamento de extrato de pequi. Essa concentração de quitosana reduziu sólidos totais, sólidos solúveis totais e teor de lipídios em 19, 20 e 57%, respectivamente, enquanto a redução no teor total de polifenóis foi de 29% e foi a concentração de quitosana escolhida para realizar a concentração de compostos fenólicos deste trabalho.

#### 4.4. Clarificação do extrato de polpa de pequi utilizando extrato de semente de moringa e semente de moringa desengordurada

Além da quitosana, os extratos de sementes de moringa integral e desengordurada também foram avaliados para a clarificação do extrato de polpa de pequi. A Tabela 8 mostra a influência da concentração de semente de moringa integral nas características do extrato de pequi.

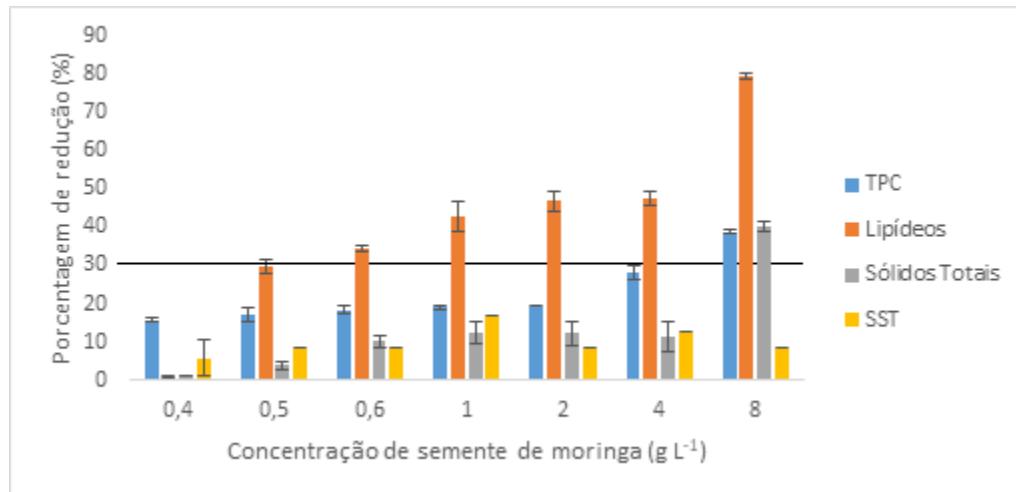
Tabela 8 – Características físico-químicas do extrato de pequi após processos de adsorção com sementes de moringa em diferentes concentrações.

Concentração de semente de moringa (g L <sup>-1</sup> )	TPC (mg <sub>AG</sub> 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Teor de lipídeos (%)	Sólidos solúveis totais (°Brix)	Sólidos totais (g L <sup>-1</sup> )	pH
0 (EC)	108,56 <sup>a</sup> ± 0,44	1,07 <sup>a</sup> ± 0,20	1,20 <sup>a</sup> ± 0,00	20,6 <sup>a</sup> ± 0,39	4,66 <sup>a</sup> ± 0,02
0,4	91,37 <sup>b</sup> ± 0,48	1,06 <sup>a</sup> ± 0,01	1,13 <sup>b</sup> ± 0,06	20,33 <sup>a,b</sup> ± 1,94	4,88 <sup>b</sup> ± 0,01
0,5	89,97 <sup>b,c</sup> ± 1,81	0,75 <sup>a,b</sup> ± 0,13	1,10 <sup>b</sup> ± 0,00	19,78 <sup>b,c</sup> ± 0,96	4,86 <sup>b</sup> ± 0,01
0,6	88,70 <sup>b,c</sup> ± 1,14	0,70 <sup>a,b</sup> ± 0,00	1,10 <sup>b</sup> ± 0,00	18,52 <sup>b,c</sup> ± 0,74	4,85 <sup>b</sup> ± 0,01
1	87,90 <sup>c</sup> ± 0,40	0,61 <sup>b,c</sup> ± 0,15	1,00 <sup>c</sup> ± 0,00	19,02 <sup>b,c</sup> ± 0,32	4,86 <sup>b</sup> ± 0,03
2	87,42 <sup>c</sup> ± 0,27	0,57 <sup>b,c</sup> ± 0,14	1,10 <sup>b</sup> ± 0,00	19,07 <sup>b,c</sup> ± 0,88	4,84 <sup>b</sup> ± 0,04
4	77,90 <sup>d</sup> ± 1,90	0,56 <sup>b,c</sup> ± 0,02	1,00 <sup>c</sup> ± 0,00	18,25 <sup>c</sup> ± 0,98	4,84 <sup>b</sup> ± 0,02
8	66,41 <sup>c</sup> ± 0,44	0,22 <sup>c</sup> ± 0,01	1,10 <sup>b</sup> ± 0,00	12,35 <sup>d</sup> ± 0,25 <sup>d</sup>	4,83 <sup>b</sup> ± 0,02

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam estatisticamente diferença significativa entre as amostras (p≤0,05).

A Figura 9 mostra a porcentagem de redução para as análises de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais, alcançada após a utilização de semente de moringa como adsorvente.

Figura 9 - Porcentagem de redução de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais (SST) para os extratos de pequi tratados com semente de moringa.



A adição de moringa no extrato de pequi extraiu significativamente os parâmetros avaliados, conforme apresentado na Tabela 8. As reduções nos sólidos totais aumentaram de 1,3 a 40,0% quando a concentração de moringa aumentou de 0,4 a 8  $\text{g L}^{-1}$ . Proteínas catiônicas presentes nos extratos aquosos de moringa são capazes de adsorver partículas carregadas negativamente (NDABIGENGESERE; NARASIAH; TALBOT, 1995). No entanto, não houve diferença significativa entre os valores de sólidos totais dos extratos de pequi tratados com moringa nas concentrações variando de 0,6 a 4  $\text{g L}^{-1}$ . Nessas concentrações, as reduções de sólidos totais ficaram em torno de 11% e apenas quando a concentração de moringa aumentou de 4 para 8  $\text{g L}^{-1}$ , a redução nos sólidos totais aumentou para 40,0%. Comportamento semelhante foi observado por Baptista et al. (2017) para remoção de cor de água usando moringa como coagulante. As reduções nos sólidos solúveis totais foram bastante semelhantes (de 5,8 a 12,5%) para todas as concentrações avaliadas de moringa. Reduções em compostos fenólicos totais seguiram a mesma tendência de reduções dos sólidos totais e variaram de 15,8 a 38,8% na faixa de concentrações avaliadas. Quanto ao conteúdo lipídico, o aumento da concentração de moringa aumentou substancialmente as remoções de lipídios (até 79,4%). Adição de solução aquosa de semente de moringa aumentou ligeiramente o pH da solução de

pequi, porém, esse aumento não influenciou negativamente no processo de clarificação. Assim, extratos de sementes de moringa são adsorventes promissores para clarificação de suco e remoção de lipídios.

No entanto, a remoção de compostos fenólicos pode ser uma preocupação e uma concentração de sementes de moringa com menos de 4 g de L<sup>-1</sup> foi sugerida para que não fossem removidos mais do que 30% dos compostos fenólicos. As reduções nos sólidos e lipídios totais são semelhantes a 4 e 2 g L<sup>-1</sup> de moringa e, assim, a concentração de 2 g L<sup>-1</sup> de extrato de moringa foi mais apropriado.

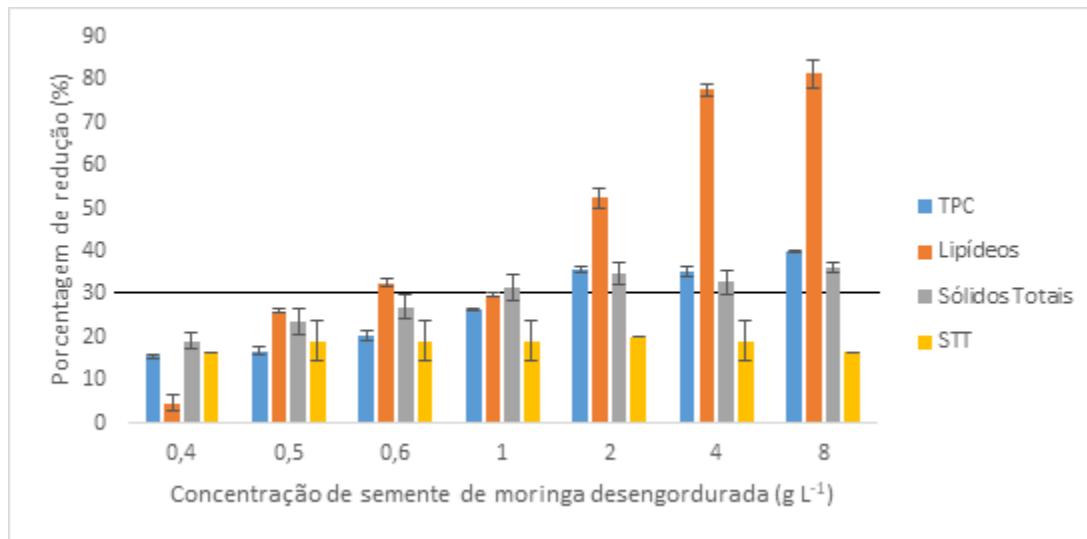
Para verificar a possibilidade de melhorar a ação das sementes de moringa na clarificação de extratos de pequi, as sementes de moringa foram previamente desengorduradas. A Tabela 9 apresenta as características físico-químicas do extrato de pequi após a adição de extrato aquoso de sementes de moringa desengorduradas em diferentes concentrações. Perfis de redução do uso de sementes de moringa desengorduradas como coagulante é apresentado na Figura 10.

Tabela 9 - Características físico-químicas do extrato de pequi após processos de adsorção com sementes de moringa desengordurado em diferentes concentrações.

Concentração de semente de moringa desengordurado (g L <sup>-1</sup> )	TPC (mg <sub>AG</sub> 100 g <sup>-1</sup> de polpa)	Teor de Lipídeos (%)	Sólidos solúveis totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	pH
0 (EC)	108,56 <sup>a</sup> ± 0,44	1,07 <sup>a</sup> ± 0,20	1,20 <sup>a</sup> ± 0,00	20,6 <sup>a</sup> ± 0,39	4,66 <sup>a</sup> ± 0,02
0,4	91,62 <sup>b</sup> ± 0,50	1,02 <sup>a</sup> ± 0,02	1,00 <sup>b,c</sup> ± 0,00	16,65 <sup>b</sup> ± 0,40	4,71 <sup>a</sup> ± 0,01
0,5	90,22 <sup>b</sup> ± 1,24	0,79 <sup>b</sup> ± 0,01	0,97 <sup>c</sup> ± 0,06	15,75 <sup>b,c</sup> ± 0,61	4,69 <sup>a</sup> ± 0,03
0,6	86,29 <sup>c</sup> ± 1,33	0,72 <sup>b</sup> ± 0,01	0,97 <sup>c</sup> ± 0,06	15,05 <sup>c,d</sup> ± 0,57	4,69 <sup>a</sup> ± 0,04
1	79,90 <sup>d</sup> ± 0,19	0,75 <sup>b</sup> ± 0,01	0,97 <sup>c</sup> ± 0,06	14,08 <sup>d,e</sup> ± 0,39	4,68 <sup>a</sup> ± 0,02
2	69,71 <sup>e</sup> ± 0,69	0,51 <sup>c</sup> ± 0,03	0,96 <sup>c</sup> ± 0,06	12,46 <sup>d,e,f</sup> ± 0,35	4,69 <sup>a</sup> ± 0,01
4	70,09 <sup>e</sup> ± 1,25	0,24 <sup>d</sup> ± 0,02	1,16 <sup>a,b</sup> ± 0,05	13,85 <sup>e,f</sup> ± 0,54	4,79 <sup>b</sup> ± 0,02
8	65,14 <sup>f</sup> ± 0,19	0,20 <sup>d</sup> ± 0,04	1,00 <sup>b,c</sup> ± 0,00	13,11 <sup>f</sup> ± 0,23	4,80 <sup>b</sup> ± 0,02

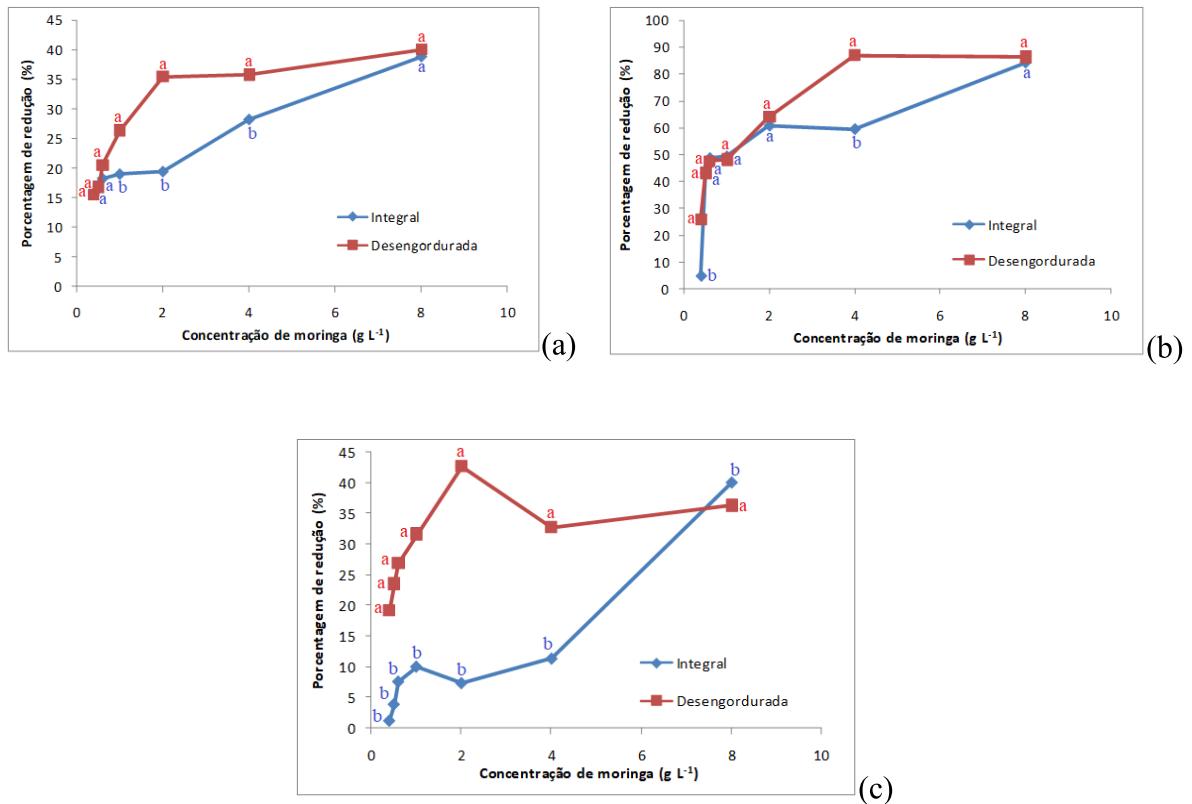
\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras (p≤0,05).

Figura 10 -Porcentagem de redução de TPC, teor de lipídeos, sólidos totais e sólidos solúveis totais (SST) para os extratos de queijo tratados com semente de moringa desengordurada.



Para as análises realizadas utilizando semente de moringa desengordurada pode-se observar que com o aumento da concentração de adsorvente, dentro de toda a faixa de concentração analisada, as reduções no teor de compostos fenólicos totais, lipídeos sólidos totais e sólidos solúveis totais aumentaram. Para uma melhor comparação entre a semente integral e a desengordurada, a Figura 11 mostra os perfis de reduções para as principais análises realizadas no extrato.

Figura 11 - Comparação das reduções de fenólicos totais (a), lipídeos (b) e sólidos totais (c) do extrato de queijo com moringa integral e com moringa desengordurada.

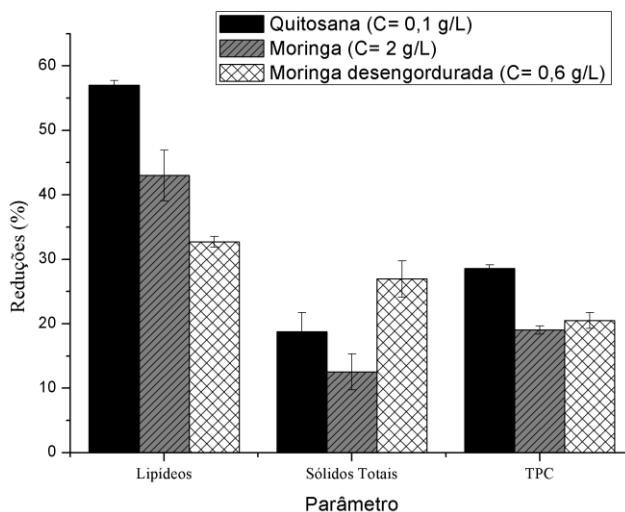


\*Letras diferentes em uma mesma concentração de moringa indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Em comparação com as sementes de moringa integrais, as sementes de moringas desengorduradas permitiram maiores reduções nos sólidos totais principalmente a concentrações mais baixas de adsorvente. Portanto, extração de óleo das sementes melhorou a remoção de sólidos suspensos, resultando em uma melhor coagulação. No entanto, as reduções de lipídios e de compostos fenólicos foram semelhantes usando sementes de moringa integral e desengordurada a baixas concentrações. Camacho et al. (2017) também observaram que as ações de sementes de moringa integral e desengordurada foram semelhantes durante o tratamento de água. O comportamento dos perfis de redução para moringa integral e desengordurada foi também semelhante: o aumento da concentração de sementes de moringas desengorduradas até aproximadamente  $1 \text{ g L}^{-1}$  aumentou as reduções de sólidos totais e compostos fenólicos, mas reduções nesses parâmetros permaneceram aproximadamente constantes para maiores concentrações de adsorvente. Na concentração de  $2 \text{ g L}^{-1}$  (concentração

determinada como a ideal para este trabalho usando moringa integral) os resultados na redução de lipídeos pelos dois adsorventes foram semelhantes, porém sendo a maior redução de lipídeos (11%) e sólidos totais (35%) observada para a semente de moringa desengordurada em relação à semente integral. Porém, com a semente desengordurada, houve uma redução de 21% a mais de compostos fenólicos totais em relação à semente integral, o que é prejudicial neste trabalho, sendo o foco do trabalho a concentração posterior destes compostos. Como para os outros adsorventes analisados (quitosana e semente de moringa integral), dois aspectos principais devem ser observados então para escolher uma concentração adequada de sementes de moringas desengorduradas: clarificação do extrato de pequi (reduções sólidas e lipídicas) e baixa perda de compostos fenólicos. Conforme apresentado na Figura 10 e na Figura 11, a concentração de semente de moringa desengordurada para a clarificação do extrato deve ser inferior a  $1 \text{ g L}^{-1}$  para reduzir menos de 30% de compostos fenólicos do extrato de pequi. No entanto, os resultados apresentados na Tabela 9 mostram que os valores de sólidos totais e lipídios foram estatisticamente equivalentes para as concentrações de sementes de moringas desengorduradas na concentração de 1 e  $0,6 \text{ g L}^{-1}$ . Assim, a aplicação de semente de moringa desengordurada a uma concentração de  $0,6 \text{ g L}^{-1}$  é então sugerida para a clarificação do extrato de pequi utilizando a semente desengordurada. A Figura 12 apresenta uma comparação em termos de reduções no conteúdo lipídico, sólidos totais e compostos fenólicos totais entre os três bioadsorventes avaliados (quitosana e sementes de moringa integral e desengordurada) nas concentrações escolhidas.

Figura 12 - Comparação em termos de reduções no conteúdo lipídico, sólidos totais e compostos fenólicos totais entre os três adsorventes avaliados nas concentrações escolhidas.



A quitosana removeu uma maior porcentagem de lipídios e compostos fenólicos totais enquanto as reduções nos sólidos totais foram maiores com a moringa desengordurada. Esta maior redução dos lipídios pela quitosana faz com que seja mais vantajoso a utilização deste para o pré-tratamento do extrato de pequi, uma vez que o alto teor de lipídeos pode comprometer o fluxo das filtrações sequenciais das membranas. Devido aos melhores resultados de redução no teor de lipídeos alcançados pela concentração de 2 g L<sup>-1</sup> de semente integral e a semelhança de reduções de fenólicos totais e sólidos totais para com o extrato de pequi com 0,6 g L<sup>-1</sup> de semente desengordurada, para o sequencial tratamento utilizando membranas, sugere-se o uso do extrato de 2 g L<sup>-1</sup>(EM) de semente integral, já que este foi capaz de reduzir lipídeos e sólidos totais significativamente sem comprometer o teor de polifenóis, além de apresentar esforço operacional reduzido, pois neste caso, dispensou-se o processo de extração de óleo da semente de moringa, havendo economia energética e de solvente.

#### 4.4.1. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos extratos de polpa de pequi escolhidos para as filtrações

A Tabela 10 mostra os resultados para os polifenóis presentes nos extratos de pequi escolhidos para a realização das microfiltrações subsequentes.

Tabela 10 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos de pequi sem tratamento (EC), pré-tratado com moringa 2 g L<sup>-1</sup>(EM) e pré-tratado com quitosana 0,1 g L<sup>-1</sup> (EQ) ( $\mu$ g mL<sup>-1</sup> de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
<b>EC</b>	34,71 <sup>a</sup> ± 0,15	8,43 <sup>a</sup> ± 0,31	17,85 <sup>a</sup> ± 0,07
<b>EQ</b>	26,00 <sup>b</sup> ± 1,56	7,31 <sup>b</sup> ± 0,07	14,51 <sup>b</sup> ± 0,36
<b>EM</b>	27,51 <sup>b</sup> ± 0,16	7,28 <sup>b</sup> ± 0,18	13,46 <sup>b</sup> ± 0,04

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p\leq 0,05$ ).

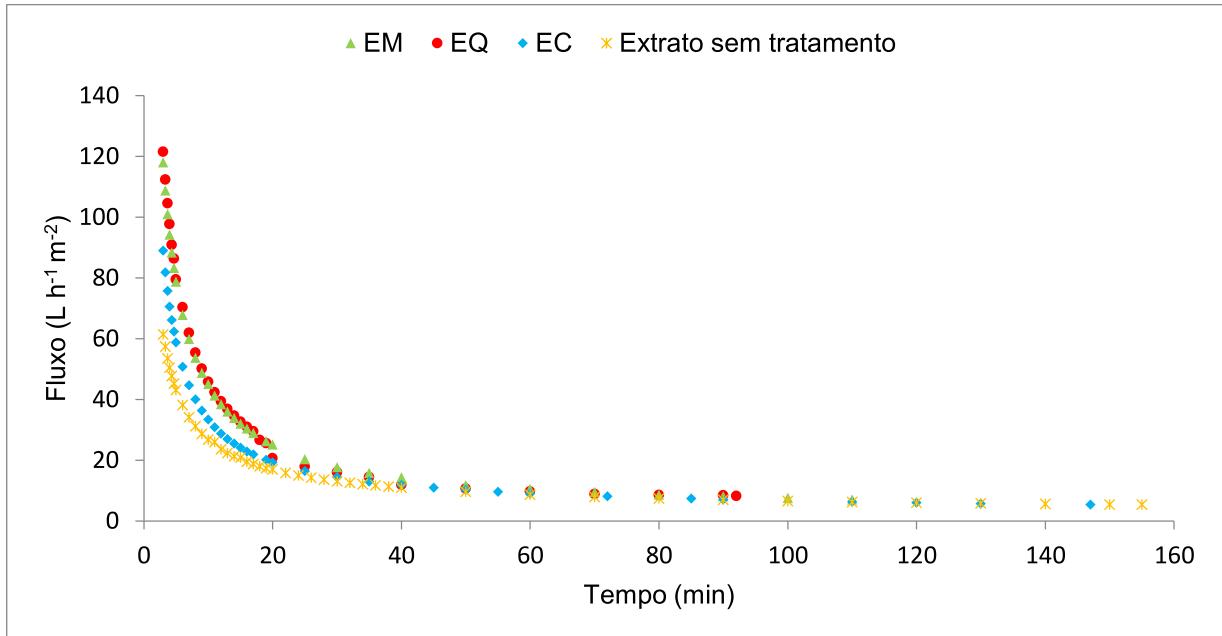
O ácido gálico foi o ácido fenólico encontrado em maior quantidade nos extratos aquosos de pequi, seguido pelo ácido elágico e ácido p-cumárico. Perfil de composição semelhante foi relatado por Chisté e Mercadante (2012)em uma fruta brasileira da mesma

família *Caryocaraceae* (*Caryocar villosum* (Aubl.) Ers. (Nome Brasil: piqui)). O ácido é encontrado em uma variedade de alimentos e ervas que são conhecidos como poderosos antioxidantes. Como ocorrido com os compostos fenólicos totais houve uma redução dos compostos fenólicos individuais quando se utilizou os pré-tratamentos com quitosana e moringa. Essa redução se deve ao fato de a quitosana apresentar afinidade com os compostos fenólicos (SHAHIDI; ARACHCHI; JEON, 1999; SPAGNA et al., 1996) bem como com outros sólidos de carga negativa presentes em soluções, ocasionando as reduções. Do mesmo modo que a quitosana, a moringa também apresenta em sua composição proteínas catiônicas que possuem propriedades coagulantes e podem precipitar partículas orgânicas e minerais de uma solução(BHATIA; OTHMAN; AHMAD, 2007), bem como podem ter se aglomerado aos compostos fenólicos individuais, promovendo suas reduções.

#### **4.5. Microfiltração dos extratos de polpa de pequi**

Os experimentos utilizando microfiltração foram realizados a fim de realizar a clarificação dos extratos de polpa de pequi. A centrifugação permitiu reduzir o tempo necessário de filtração em 10 min para atingir o mesmo fator de concentração. Além disso, o fluxo inicial através da membrana foi 1,45 vezes maior quando se utilizou a centrifugação. O fluxo estabilizado do extrato sem tratamento e do extrato centrifugado foi de  $5,3 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ , porém considerando que o fluxo do extrato centrifugado se manteve mais alto durante 40 min de filtração, é mais vantajoso utilizar o extrato centrifugado para evitar sobrecarga da membrana e também para que haja economia de tempo de processo, além do provável aumento da vida útil da membrana. A Figura 13 mostra a influência dos pré-tratamentos utilizando os bioadsorventes (quitosana e semente de moringa) nas condições previamente determinadas comparando com o extrato de pequi sem tratamento e com o extrato centrifugado no comportamento do fluxo de permeado durante as microfiltrações.

Figura 13 - Fluxo de permeado por tempo de filtração dos extratos de pequi sem tratamento, centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e pré-tratado com quitosana (EQ).



O fluxo de permeado reduziu de forma muito rápida nos primeiros 10 min de filtração para os todos os extratos de polpa de pequi, sendo essa queda mais acentuada no extrato apenas centrifugado devido a maior quantidade de sólidos contidos neste. Após esse tempo, o fluxo continuou reduzindo, porém de forma menos acentuada. Esse mesmo comportamento foi verificado na microfiltração de suco de laranja feito por Nandi et al. (2012), utilizando uma pressão de 1,4 bar e membrana cerâmica. De fato, este declínio de fluxo acentuado nos primeiros minutos de filtração é um comportamento típico para filtrações *dead-end* de soluções que contém um alto valor de sólidos suspensos como extratos de frutas.

O extrato aquoso de pequi tratado com quitosana foi o extrato cujo fluxo de permeado foi maior durante todo o processo de filtração, fazendo com que o fator de concentração de 1,7 fosse alcançado 20 min antes dos demais extratos. No final dos processos de microfiltração, para todos os extratos de pequi utilizados os fluxos de permeado encontrados para o fator de concentração de 1,7 foram de  $5,30 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ,  $7,06 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  e de  $8,20 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  para EC, EM e EQ respectivamente. Estes resultados mostram que o pré-tratamento com quitosana foi mais eficiente para a remoção de sólidos totais e lipídeos, aumentando o fluxo de permeado, mostrando que o pré-tratamento com quitosana é uma alternativa promissora sendo que esta aumentou o fluxo de permeado em aproximadamente 32% é importante para a viabilidade do

processo de filtração por membranas para o tratamento de sucos em geral. O uso da quitosana é vantajoso pois, além de ser um bom coagulante natural que promoveu o maior aumento no fluxo de permeado na microfiltração, é um produto comercial de baixo custo e de fácil disponibilidade durante todo o ano e tem sua qualidade garantida pelo fornecedor. A moringa por sua vez, não é disponibilizada o ano todo e tem que haver um cuidado no armazenamento das sementes para evitar degradação.

#### 4.5.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na microfiltração

Para investigar os mecanismos de incrustação envolvidos na microfiltração foi utilizado o modelo de Hermia que descreve o decaimento do fluxo em filtrações *dead-end*. Os valores de  $R^2$  e os parâmetros ajustados ( $k$ ) para cada mecanismo, ou seja, para cada valor de  $n$ , são exibidos na Tabela 11. Um alto valor de  $R^2$  indica um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo de Hermia.

Tabela 11 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de microfiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).

	Bloqueio completo $n=2$		Bloqueio padrão $n=1,5$		Bloqueio intermediário $n=1$		Formação de torta $n=0$	
	$R^2$	$k_c$	$R^2$	$k_p$	$R^2$	$k_i$	$R^2$	$k_t$
<b>EC</b>	0,7594	-0,0187	0,8899	0,0024	0,9681	0,0013	0,9949	0,0002
<b>EM</b>	0,8026	-0,0253	0,9228	0,0027	0,9843	0,0013	0,9871	0,0002
<b>EQ</b>	0,778	-0,029	0,8918	0,003	0,9555	0,0014	0,9832	0,0002

O mecanismo que melhor se ajustou aos dados experimentais para todos os extratos de pequi foi o de formação de torta, pois foi neste caso em que os valores de  $R^2$  foram maiores, logo esse foi o mecanismo que mais contribuiu para o decaimento do fluxo durante as microfiltrações. Nandi, Das e Uppaluri (2012) realizaram a microfiltração de suco de laranja centrifugado e pré-tratado com enzima e verificaram que o decaimento do fluxo obtido foi

devido à formação de torta na membrana. Aghdam et al. (2015) estudaram a clarificação de suco de romã utilizando a microfiltração e obtiveram como resultado que a formação de torta foi o principal responsável pelo decaimento do fluxo de permeado. De Oliveira et al.(2012) realizou a microfiltração de suco de maracujá, utilizando membrana de fibra oca e uma pressão transmembrana de 0,5 bar e também verificou a formação de torta como a principal causa da queda do fluxo de permeado durante o processo.

#### 4.5.2. Cálculo de resistências das membranas de microfiltração

A Tabela 12 mostra a resistências obtidas para os processos de microfiltração dos extratos de pequi.

Tabela 12 - Resistências obtidas para os processos de microfiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC), pré-tratado com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).

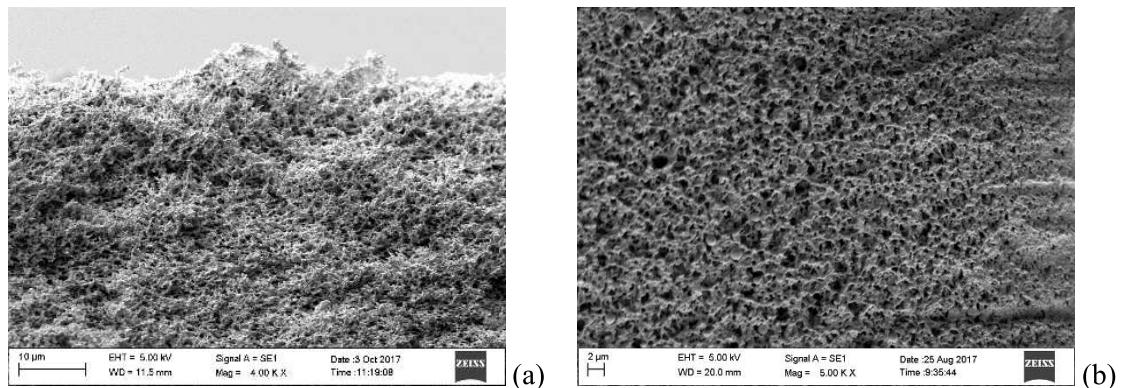
	Resistências ( $10^{12} \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ )			
	$R_M$	$R_C$	$R_P$	$R_T$
<b>EC</b>	0,0394	61,58	0,276	61,9
<b>EQ</b>	0,0394	47,9	0,449	48,4
<b>EM</b>	0,0394	50	0,197	50,2

A resistência hidráulica da membrana para todos os processos foi a mesma, pois este valor está diretamente relacionado com a permeabilidade hidráulica da membrana e é a resistência que menos contribui para o decaimento do fluxo. Nota-se por intermédio da Tabela 12, que a maior resistência total ( $R_T$ ) é da microfiltração do extrato centrifugado, isso devido a maior formação de torta nesse extrato. A resistência que possui a maior contribuição para as microfiltrações dos três extratos é a resistência da torta ( $R_C$ ) representando cerca de 98% para o extrato tratado com quitosana e 99% para os demais extratos, em relação à resistência total ( $R_T$ ). Qin et al. (2015) realizou experimentos de microfiltração em suco de kiwi utilizando três membranas com diâmetro de poros diferentes (2,13, 1,25 e 0,3  $\mu\text{m}$ ), esses experimentos foram realizados utilizando uma pressão de 1,5 bar. Os autores também verificaram que a resistência intrínseca da membrana foi o que menos contribuiu para o decaimento do fluxo e a resistência devido a formação de torta foi a que mais contribuiu.

#### 4.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das membranas de microfiltração

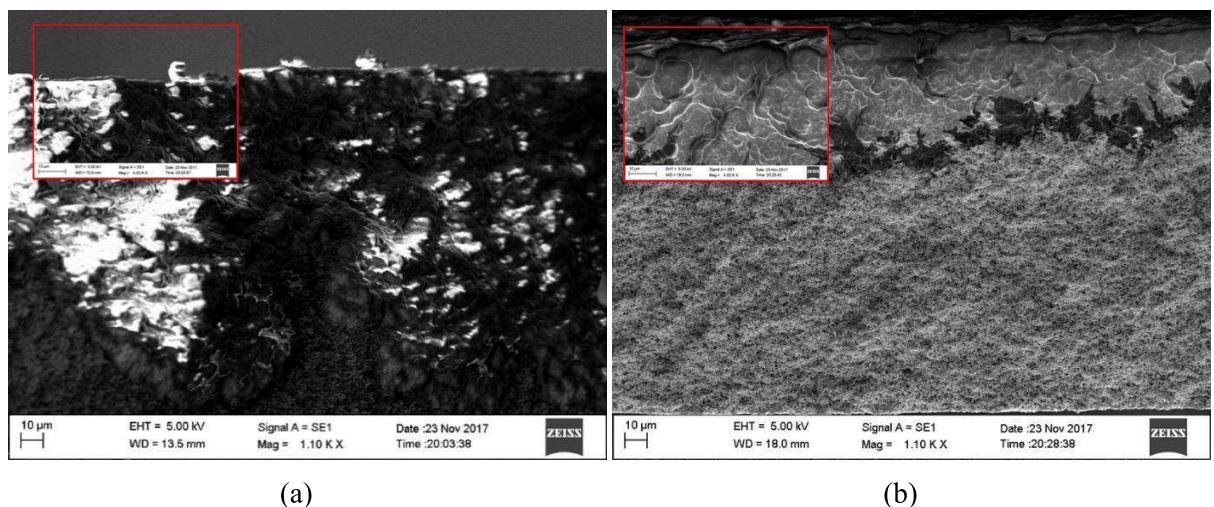
A Figura 14 mostra a sessão transversal e a superfície da membrana de microfiltração de 0,22 µm antes do processo de filtração.

Figura 14 - Sessão transversal (a) e superfície (b) da membrana de microfiltração de 0,22 µm antes do processo de filtração.



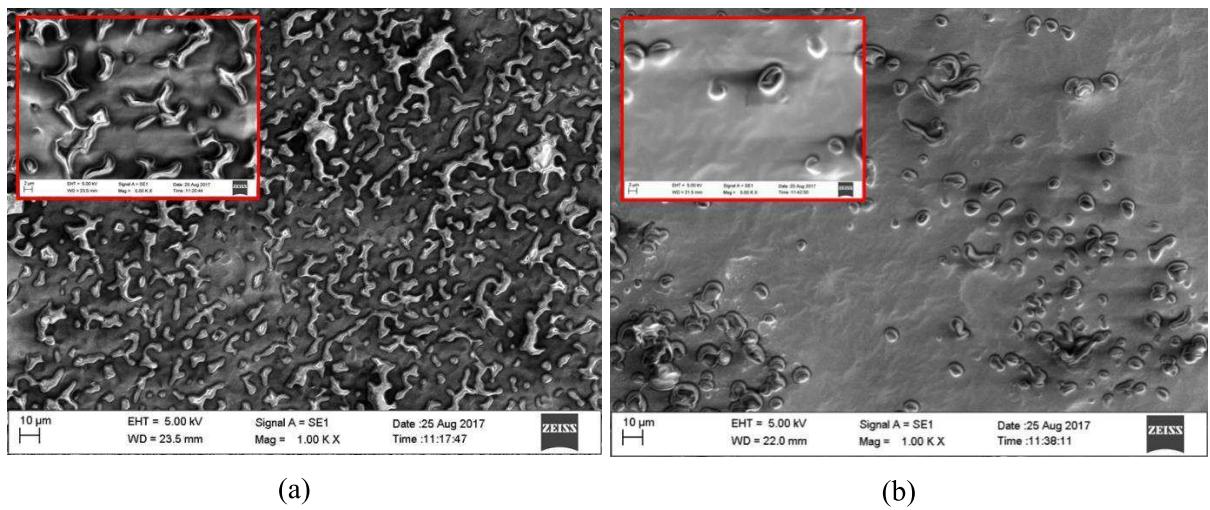
Observa-se nas micrografias que as membranas estavam limpas e porosas, sem depósito de matéria orgânica e sujidades. Essas membranas então foram utilizadas para realizar a clarificação dos extratos de polpa de queijo. As sessões transversais e superfícies das membranas após as microfiltrações do extrato centrifugado e pré-tratado com quitosana são apresentadas na Figura 15.

Figura 15 - Sessões transversais das membranas de microfiltração (a) usada para o extrato centrifugado e (b) para o extrato tratado com quitosana.



É possível observar uma maior formação de torta na membrana utilizada para microfiltrar o extrato apenas centrifugado. Isso se deve ao fato de que esse extrato contém uma maior quantidade de sólidos totais e lipídeos em suspensão. O menor teor de sólidos e lipídeos também pode ser notado na Figura 16 que apresenta as superfícies das membranas supracitadas.

Figura 16 -Superfícies das membranas de microfiltração (a) usada para o extrato centrifugado e (b) para o extrato tratado com quitosana.



Foi possível identificar uma maior quantidade de partículas depositadas na superfície da membrana utilizada na filtração do extrato centrifugado. Esse resultado era esperado pois para o extrato tratado com quitosana os valores de sólidos totais e lipídeos foram menores fazendo com que a torta formada na superfície da membrana fosse menor.

No trabalho de Machado, Mello e Hubinger (2015) foi também realizado o MEV das membranas de ultrafiltração e nanofiltração utilizadas na concentração de compostos bioativos extraídos da polpa de pequi. Na superfície das membranas utilizadas pelos autores, podem ser observados moléculas orgânicas, que podem ser atribuídas à presença de lipídios, proteínas e carboidratos extraídos do pequi. Resultado semelhante ao deste trabalho que pode ser observado na Figura 16 (b).

#### 4.5.4. Caracterização dos permeados da microfiltração dos extratos de polpa de pequi

A Tabela 13 mostra os resultados para as análises realizadas nos permeados das microfiltrações dos extratos de pequi centrifugado (MEC) e pré-tratado com semente de moringa (MEM) e quitosana (MEQ).

Tabela 13 - Caracterização dos permeados dos extratos de polpa de pequi centrifugado (MEC) e pré-tratados com quitosana (MEQ) e extrato de semente de moringa (MEM).

Extrato	Fenólicos (mg <sub>AG</sub> 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Teor de Lipídeos (%)	pH
MEC	58,83 <sup>a</sup> ± 0,40	1,02 <sup>a</sup> ± 0,06	8,97 <sup>a</sup> ± 0,62	0,30 <sup>a</sup> ± 0,11	4,71 <sup>a</sup> ± 0,05
MEM	56,97 <sup>a</sup> ± 0,86	0,86 <sup>b</sup> ± 0,06	8,4 <sup>a</sup> ± 0,02	0,30 <sup>a</sup> ± 0,10	4,85 <sup>a</sup> ± 0,03
MEQ	54,53 <sup>b</sup> ± 0,50	0,83 <sup>b</sup> ± 0,06	8,3 <sup>a</sup> ± 0,84	0,16 <sup>b</sup> ± 0,03	4,18 <sup>b</sup> ± 0,02

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Pode-se verificar por meio da Tabela 13 que a microfiltração foi capaz de reduzir de forma significativa o teor de sólidos totais em 56, 56, e 50% e lipídeos 72, 67 e 45% em comparação aos extratos de alimentação EC, EM e EQ. Contudo, houve uma redução de 45, 35 e 30% em relação aos extratos da alimentação EC, EM e EQ respectivamente, no teor de compostos fenólicos. Segundo, Laorko et al.(2010), esses compostos podem se associar a outros solutos presentes em solução, formando partículas maiores que ficam retidas na camada superior da membrana, fazendo com que haja a rejeição destes. Devido ao alto teor de sólidos solúveis e lipídeos nos extratos, mesmo após pré-tratamentos como centrifugação e adsorção com quitosana e semente de moringa, houve formação de torta na superfície da membrana, fazendo com que aumentasse a barreira para que houvesse então a retenção de parte dos compostos fenólicos, sendo a maior retenção observada no extrato somente centrifugado, no tratado com moringa e por fim no tratado com quitosana respectivamente. Além disso, membranas com tamanho de poros maiores tendem a ser mais susceptíveis à incrustação, porque o bloqueio de poros ocorre juntamente com a formação de torta. (HWANG, K. J.; LIAO; TUNG, 2008).

Os sólidos solúveis totais sofreram pequenas reduções (15, 22 e 13% em comparação a EC, EM e EQ respectivamente) após a microfiltração. Houve a concentração desses sólidos solúveis principalmente representados por pectina e proteínas, fazendo esse valor ser menor no permeado (USHIKUBO; WATANABE; VIOTTO, 2007). Na microfiltração de suco de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam), utilizando uma membrana de polipropileno de 0,2  $\mu$ m, Ushikubo, Watanabe e Viotto (2007) verificaram esse mesmo comportamento.

A Figura 17 mostra o extrato de polpa de pequi pré-tratado com quitosana e o extrato permeado após a microfiltração utilizando a membrana de 0,22 µm. Pode-se perceber também, uma grande redução na coloração do extrato de pequi após a microfiltração.

Figura 17 - Extrato de polpa de pequi pré-tratado com quitosana (EQ) e o extrato permeado após a microfiltração (MEQ) utilizando a membrana de 0,22 µm.



Os permeados de EQ (MEQ) e EM (MEM) obtidos na clarificação por microfiltração foram submetidos sequencialmente à caracterização de compostos fenólicos individuais e à uma ultrafiltração seguida de uma nanofiltração a fim de concentrar os compostos fenólicos presentes em solução, conforme resultados apresentados no item seguinte.

#### 4.5.5. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos permeados da microfiltração dos extratos centrifugados (MEC), pré-tratados com quitosana (MEQ) e semente de moringa (MEM).

A Tabela 14 mostra os resultados para os polifenóis presentes nos permeados obtidos após as microfiltrações.

Tabela 14 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos de pequi microfiltrados centrifugados (MEC), pré-tratados com quitosana (MEQ) e com moringa (MEM) ( $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
MEC	$24,64^{\text{a}} \pm 0,67$	$7,01^{\text{a}} \pm 0,13$	$12,97^{\text{a}} \pm 0,70$
MEQ	$22,14^{\text{a,b}} \pm 0,89$	$6,64^{\text{a,b}} \pm 0,15$	$11,58^{\text{b}} \pm 1,23$
MEM	$20,81^{\text{b}} \pm 1,13$	$5,72^{\text{b}} \pm 0,20$	$12,28^{\text{a}} \pm 0,17$

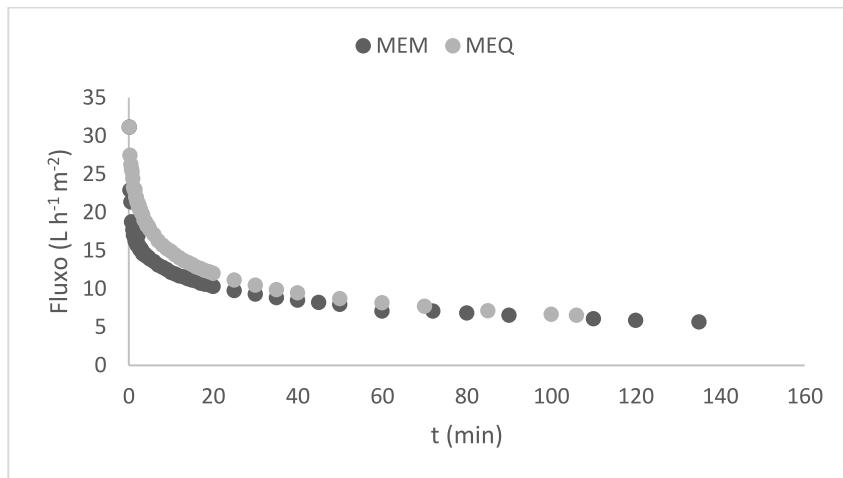
\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Houve uma retenção de 29, 24 e 19% de ácido gálico, 27, 8 e 20% para o ácido elágico e 16, 21 e 9% para o ácido p-cumárico, sendo essas porcentagens para os extratos microfiltrados centrifugado, pré-tratado com moringa e pré-tratado com quitosana respectivamente. Pode se verificar comportamento semelhante de redução dos compostos fenólicos individuais quando comparados com os compostos fenólicos totais. A microfiltração reteve uma quantia desses compostos individuais. De acordo com Gerke et al., 2017 e Laorko et al., (2010) essa retenção pode ser causada pela associação destes com outros solutos presentes em solução, formando partículas maiores que ficam retidas na camada superior da membrana.

#### 4.6. Ultrafiltração sequencial dos extratos de polpa de pequi

Os experimentos de ultrafiltração e nanofiltração sequenciais foram realizados a fim de realizar a concentração dos compostos fenólicos presentes nos permeados resultantes da microfiltração dos extratos de polpa de pequi. Os fluxos de permeado obtidos nas ultrafiltrações de MEM e MEQ são mostrados na Figura 18.

Figura 18 - Fluxo de permeado por tempo de filtração das ultrafiltrações dos permeados da microfiltração MEM e MEQ.



O fluxo de permeado para as ultrafiltrações sequenciais dos extratos reduziu de forma acentuada nos primeiros 10 min de filtração, sendo essa queda mais acentuada no extrato tratado com semente de moringa, devido ao maior teor de lipídeos que ainda estava presente no permeado vindo da microfiltração. Após esse tempo, o fluxo continuou reduzindo porém de forma menos acentuada até se estabilizar em  $5,67 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  para o extrato tratado com moringa e  $6,56 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  para o extrato tratado com quitosana para um fator de concentração de 2. Machado; Mello; Hubinger, (2015) realizaram a ultrafiltração de extrato aquoso de queijo utilizando uma membrana de 100 kDa e obtiveram um fluxo de permeado de  $7,32 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$  a 8 bar. Um maior valor de fluxo obtido por esses autores deve ter ocorrido devido ao maior tamanho de poros da membrana e também à maior pressão de operação utilizada para a ultrafiltração.

#### 4.6.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração

Para investigar os mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração, como na microfiltração, foi utilizado o modelo de Hermia. Os valores de  $R^2$  e os parâmetros ajustados ( $k$ ) para cada mecanismo são exibidos na Tabela 15. Um alto valor de  $R^2$  indica um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo.

Tabela 15 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de ultrafiltração.

	Bloqueio completo		Bloqueio padrão		Bloqueio intermediário		Formação de torta	
	n=2		n=1,5		n=1		n=0	
	R <sup>2</sup>	k <sub>c</sub>	R <sup>2</sup>	k <sub>p</sub>	R <sup>2</sup>	k <sub>i</sub>	R <sup>2</sup>	k <sub>t</sub>
<b>MEM</b>	0,8876	-0,0076	0,9245	0,0013	0,9542	0,0009	0,9901	0,0002
<b>MEQ</b>	0,8783	-0,0107	0,9185	0,0016	0,9558	0,0014	0,9956	0,0002

Assim como na microfiltração, a formação de torta foi o modelo que melhor ajustou o decaimento de fluxo nas ultrafiltrações. Machado, Mello e Hubinger (2015) utilizaram o modelo de Hermia para modelar o decaimento de fluxo e verificaram que a formação de torta foi a principal responsável pelo decaimento do fluxo de permeado na ultrafiltração de extratos aquosos de pequi utilizando uma membrana de *cut-off* de 100 kDa e pressão de operação de 7 bar. Sousa et al. (2016) realizaram a ultrafiltração de chá verde a fim de concentrar compostos fenólicos extraídos da planta e avaliaram o decaimento do fluxo também pelo modelo de Hermia. Como resultados, os autores obtiveram para uma membrana de ultrafiltração de 20 kDa que a modelagem dos dados de fluxo experimental mostrou que todos os mecanismos de incrustação foram responsáveis pelo decaimento do fluxo nos primeiros 10 min de filtração. Quando o fluxo se estabilizou, o modelo de incrustação que mais se ajustou foi o de formação de torta, como neste trabalho.

#### 4.6.2. Cálculo de resistências das membranas de ultrafiltração

A Tabela 16 mostra as resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi microfiltrados pré-tratados com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).

Tabela 16 - Resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi microfiltrados pré-tratados com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).

	Resistências ( $10^{13} \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ )			
	$R_M$	$R_C$	$R_P$	$R_T$
<b>MEQ</b>	1,88	3,96	3,69	9,54
<b>MEM</b>	1,88	3,30	3,35	11,5

A resistência hidráulica da membrana, como esperado, é a resistência que menos contribui para o decaimento do fluxo e é a mesma para as duas ultrafiltrações, pois este valor está diretamente relacionado com a permeabilidade hidráulica da membrana. Por meio da Tabela 16 que a maior resistência total ( $R_T$ ) é da ultrafiltração do extrato microfiltrado e pré-tratado com moringa, isso se deve a maior formação de torta no processo de ultrafiltração desse extrato. A resistência que possui a maior contribuição para as ultrafiltrações dos dois extratos é a resistência da torta ( $R_C$ ) representando cerca de 42% para o extrato tratado com quitosana e 55% para o extrato pré-tratado com moringa, em relação à resistência total ( $R_T$ ). Sousa et al. (2016) concluíram que por formação de torta ( $R_C$ ) representava aproximadamente 70% da resistência total na ultrafiltração de chá verde utilizando diferentes membranas (30, 20, 10 e 5 kDa).

#### 4.6.3. Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos extratos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana.

A Tabela 17 mostra os resultados para as análises realizadas nos permeados das ultrafiltrações, nos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana.

Tabela 17 - Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos permeados vindos da microfiltração de MEM (UEM) e de MEQ (UEQ).

	Fenólicos (mgAG 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Teor de Lipídeos (%)	pH
<b>Alimentação</b>					
<b>MEM</b>	56,97 <sup>a</sup> ± 0,86	0,86a± 0,06	8,4 <sup>a</sup> ± 0,02	0,30 <sup>a</sup> ± 0,10	4,85 <sup>a</sup> ± 0,03
<b>MEQ</b>	54,53 <sup>b</sup> ± 0,50	0,83 <sup>a</sup> ± 0,06	8,3 <sup>a</sup> ± 0,84	0,16 <sup>b</sup> ± 0,03	4,18 <sup>b</sup> ± 0,02
<b>Permeado</b>					
<b>UEM</b>	32,63 <sup>b</sup> ± 1,54	0,73 <sup>b</sup> ± 0,06	6,63 <sup>b</sup> ± 0,03	0,06 <sup>c</sup> ± 0,01	4,21 <sup>c</sup> ± 0,05
<b>UEQ</b>	31,44 <sup>b</sup> ± 0,89	0,73 <sup>b</sup> ± 0,06	6,33 <sup>b</sup> ± 0,81	0,08 <sup>c</sup> ± 0,06	4,18 <sup>a</sup> ± 0,04

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

A partir da Tabela 17 tem-se que quase todo o açúcar (em termos de sólido solúvel total) e ácido (pouca variação no pH) presente na alimentação pôde ser recuperado no permeado. A ligeira diminuição nos sólidos solúveis totais pode ser atribuída à remoção de sólidos suspensos. A presença de pectina suspensa e solúvel em sucos aumenta as leituras refratométricas (RAI et al., 2007). Os valores de lipídeos reduziram 50 e 90% e os valores de sólidos totais reduziram de 21 e 23% para UEM e UEQ respectivamente, pois ficaram retidos na superfície da membrana de ultrafiltração. A ultrafiltração sequencial do permeado da microfiltração utilizando a membrana de 5 kDa foi capaz de reter 43 e 42% de compostos fenólicos presentes nos extratos microfiltrados de moringa e quitosana, respectivamente. Laorko et al. (2010) utilizaram ultrafiltração (membranas com *cut-off* de 200 a 10 KDa) para clarificação de suco de figo da índia, maçã e abacaxi, respectivamente e obtiveram coeficiente de retenção de compostos fenólicos entre 4 e 28%. Machado; Mello e Hubinger, (2015) estudaram a concentração de compostos fenólicos extraídos da polpa de pequi e conseguiram reter 65% dos compostos fenólicos utilizando uma membrana de ultrafiltração de 100 kDa, porém neste trabalho, os autores realizaram a ultrafiltração sem nenhum tratamento prévio. Já neste trabalho o extrato de pequi foi pré-tratado com os adsorventes (moringa e quitosana) e na sequência passou por clarificação por microfiltração, o que explica a diferença na retenção dos compostos fenólicos entre os trabalhos. Foram realizados então duas ultrafiltrações diretas utilizando como

alimentação o extrato centrifugado (EC) e o extrato pré-tratado com quitosana (EQ). Este foi escolhido devido aos melhores resultados obtidos de redução de lipídeos e sólidos totais além de ter apresentado maior fluxo na microfiltração e também na ultrafiltração sequencial.

A Figura 19 mostra o extrato concentrado e o permeado respectivamente advindos da ultrafiltração do permeado da microfiltração de 5 kDa do permeado da microfiltração do extrato pré-tratado com quitosana.

Figura 19 - Concentrado e permeado da membrana de ultrafiltração de 5 kDa do permeado da microfiltração do extrato pré-tratado com quitosana.



Ainda sequencialmente a estas ultrafiltrações, foi realizada uma nanofiltração a fim de concentrar os compostos fenólicos ainda presentes no extrato permeado da ultrafiltração do extrato tratado com quitosana. Este extrato foi escolhido por ter mostrado melhores resultados de fluxo durante todo processo além de apresentar resultados muito semelhantes com o extrato permeado pré tratado com moringa.

#### 4.6.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes nos permeados das ultrafiltrações dos extratos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana.

A Tabela 18 mostra os resultados para os polifenóis presentes nos permeados das ultrafiltrações dos extratos permeados vindos da microfiltração dos extratos de pequi pré-tratados com extrato de semente de moringa e com quitosana.

Tabela 18 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nas alimentações e nos permeados das ultrafiltrações ( $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
<b>Alimentação</b>			
<b>MEQ</b>	22,14 <sup>a</sup> ± 0,89	6,64 <sup>a</sup> ± 0,15	11,58 <sup>a</sup> ± 1,23
<b>MEM</b>	20,81 <sup>a</sup> ± 1,13	5,72 <sup>a</sup> ± 0,20	12,28 <sup>b</sup> ± 0,17
<b>Permeado</b>			
<b>UEQ</b>	9,12 <sup>b</sup> ± 1,01	1,61 <sup>b</sup> ± 0,15	6,05 <sup>c</sup> ± 0,50
<b>UEM</b>	10,82 <sup>c</sup> ± 0,54	1,67 <sup>b</sup> ± 0,19	5,12 <sup>d</sup> ± 0,23

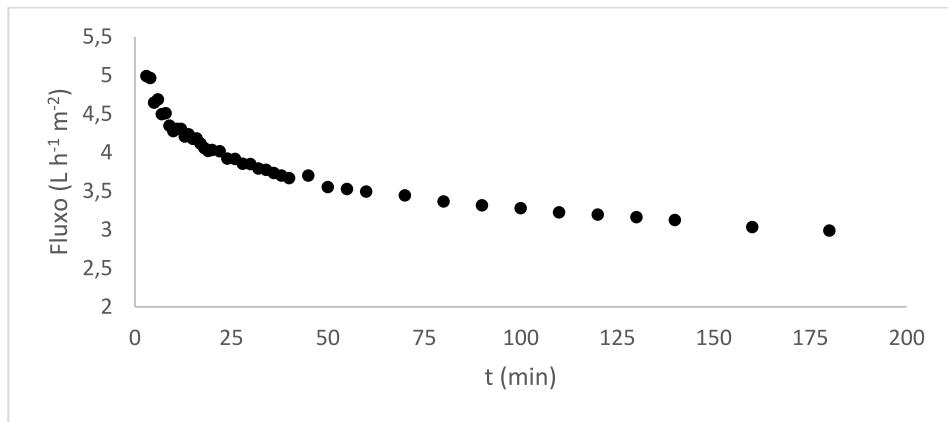
\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Houve retenção dos compostos fenólicos individuais da mesma maneira que houve a retenção dos compostos fenólicos totais, sendo uma retenção de ácido gálico (48 e 59% para UEM e UEQ respectivamente), p-cumárico 74 e 71% para UEM e UEQ, respectivamente) e ácido elágico (58 e 47% para UEM e UEQ, respectivamente) sendo que após a concentração ainda há uma quantidade considerável de compostos fenólicos no permeado, sendo aconselhável uma nanofiltração a parte para uma maior concentração.

#### 4.7. Nanofiltração sequencial do extrato ultrafiltrado de quitosana

O experimento de nanofiltração sequencial foi realizado a fim de avaliar a concentração dos compostos fenólicos presentes no permeado resultante da ultrafiltração dos extratos de polpa de pequi pré-tratado com quitosana (UEQ). O fluxo de permeado obtido na nanofiltração deste permeado é mostrado na Figura 20.

Figura 20 - Fluxo de permeado por tempo de filtração das nanofiltração do permeado da ultrafiltração do extrato de quitosana (UEQ).



O fluxo de permeado para ultrafiltração sequencial do extrato reduziu de forma mais acentuada nos primeiros 25 min de filtração. Após esse tempo, o fluxo continuou reduzindo, porém de forma menos acentuada até se estabilizar em  $3\ L\ h^{-1}\ m^{-2}$ . Machado; Mello; Hubinger, (2015) realizaram a nanofiltração de extrato aquoso de pequi utilizando membranas de 200-300 Da feitas de poliamida e polisulfona e poliamida de polipiperazina e polisulfona e obtiveram um fluxo de permeado em torno de  $8,5\ L\ h^{-1}\ m^{-2}$  a 8 bar para as duas membranas. Um maior valor de fluxo obtido por esses autores deve ter ocorrido devido ao maior tamanho de poros da membrana. O menor fluxo obtido nesse trabalho se deve ao fato do material da membrana (polietersulfona) ser pouco hidrofilico, logo o fluxo de compostos aquosos é dificultado e este material facilita a tendência ao *fouling* (GHIGGI, 2014).

#### 4.7.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na nanofiltração

Para investigar os mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração foi utilizado o modelo de Hermia. Os valores de  $R^2$  e os parâmetros ajustados ( $k$ ) para cada mecanismo são exibidos na Tabela 19. Um alto valor de  $R^2$  indica um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo.

Tabela 19 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de nanofiltração.

	Bloqueio completo		Bloqueio padrão		Bloqueio intermediário		Formação de torta	
	<b>n=2</b>		<b>n=1,5</b>		<b>n=1</b>		<b>n=0</b>	
	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>k<sub>c</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>k<sub>p</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>k<sub>i</sub></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>k<sub>t</sub></b>
<b>UEQ</b>	0,8270	-0,0026	0,8528	0,0007	0,8767	0,0007	0,9179	0,0004

Assim como nas microfiltrações e ultrafiltrações, a formação de torta foi o modelo que melhor ajustou o decaimento de fluxo nas ultrafiltrações. Machado, Mello e Hubinger (2015) utilizaram o modelo de Hermia para modelar o decaimento de fluxo e verificaram que a formação de torta foi a principal responsável pelo decaimento do fluxo de permeado na nanofiltração de extratos aquosos de pequi utilizando membranas de 200-300 Da e pressão de operação de 8 bar.

#### 4.7.2. Cálculo de resistências das membranas de nanofiltração

A Tabela 20 mostra as resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato de pequi ultrafiltrado e pré-tratados com quitosana (UEQ).

Tabela 20 - Resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato de pequi ultrafiltrado e pré-tratados com quitosana (EQ).

	Resistências ( $10^{14} \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ )			
	<b>R<sub>M</sub></b>	<b>R<sub>C</sub></b>	<b>R<sub>P</sub></b>	<b>R<sub>T</sub></b>
<b>UEQ</b>	2,22	3,45	0,80	6,49

Pode-se verificar por intermédio das Tabelas 12, 16 e 20 que membranas com peso molecular de corte menores apresentam maiores resistências ( $R_M$ ,  $R_C$ ,  $R_P$  e  $R_T$ ). Essa observação também foi verificada por Sousa et al. (2016) que realizaram filtrações de chá verde com diferentes membranas de ultrafiltração (30, 20, 10 e 5 kDa). A resistência devido ao bloqueio

dos poros da membrana foi a resistência que menos contribui para o decaimento do fluxo. A Tabela 20 mostra que a resistência que apresentou maior contribuição para nanofiltração nos dois extratos é a resistência da torta ( $R_C$ ) representando cerca de 53% em relação à resistência total ( $R_T$ ).

#### 4.7.3. Caracterização do permeado da nanofiltração

A Tabela 21 mostra os resultados para as análises realizadas no permeado da nanofiltração.

Tabela 21 - Caracterização do concentrado (CN) e do permeado (PN) da nanofiltração.

	Fenólicos (mgAG 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Teor de Lipídeos (%)	pH
UEQ	31,44 <sup>a</sup> ± 0,89	0,73 <sup>a</sup> ± 0,06	6,33 <sup>a</sup> ± 0,81	0,08 <sup>a</sup> ± 0,06	4,18 <sup>a</sup> ± 0,04
CN	35,65 <sup>b</sup> ± 0,76	0,76 <sup>a</sup> ± 0,06	6,90 <sup>b</sup> ± 0,05	0,12 <sup>b</sup> ± 0,23	4,35 <sup>b</sup> ± 0,01
PN	21,43 <sup>c</sup> ± 0,30	0,53 <sup>b</sup> ± 0,06	2,93 <sup>c</sup> ± 0,17	0,00 <sup>c</sup> ± 0,00	4,16 <sup>a</sup> ± 0,03

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

A partir da Tabela 21 tem-se que quase todo o ácido (pouca variação no pH) presente na alimentação pôde ser recuperado no permeado, porém um pouco dos açúcares presentes no permeado da ultrafiltração foram retidos na nanofiltração (redução de 28% no teor de sólidos solúveis totais). A diminuição nos sólidos solúveis totais pode ser atribuída à remoção de sólidos suspensos ainda presentes no permeado da ultrafiltração. O teor de lipídeos não pôde ser verificado no permeado da nanofiltração provavelmente devido ao baixíssimo teor. A nanofiltração sequencial do permeado da ultrafiltração utilizando a membrana de 400 Da foi capaz de reter 31% de compostos fenólicos e houve uma redução de 54% no teor de sólidos totais. Quando a quantidade de compostos fenólicos encontrados no permeado da nanofiltração é comparada com o teor desses compostos do extrato tratado com quitosana (EQ) houve uma

redução de 72% indicando que houve uma concentração considerável desses compostos. A Figura 21 mostra o extrato permeado da nanofiltração.

Figura 21 - Concentrado e permeado da nanofiltração.



#### 4.7.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado e no concentrado na nanofiltração

A Tabela 22 mostra os resultados para os polifenóis presentes no concentrado e no permeado da nanofiltração.

Tabela 22 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos concentrado e permeado das nanofiltração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
<b>UEQ</b>	$9,12^{\text{a}} \pm 1,01$	$1,61^{\text{a}} \pm 0,15$	$6,05^{\text{a}} \pm 0,50$
<b>Concentrado</b>	$13,97^{\text{b}} \pm 0,11$	$1,77^{\text{b}} \pm 0,01$	$7,78^{\text{b}} \pm 0,81$
<b>Permeado</b>	$3,20^{\text{c}} \pm 0,05$	$0,52^{\text{c}} \pm 0,02$	$1,16^{\text{c}} \pm 0,07$

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

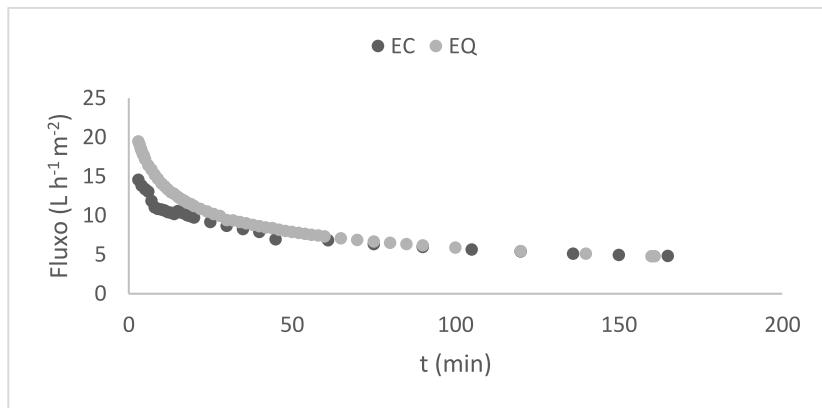
Observa-se na Tabela 22 que houve a retenção de (65, 67 e 80 % para o ácido gálico, p-cumárico e elágico respectivamente) e o extrato permeado apresentou baixos teores desses

ácidos orgânicos. Esse comportamento foi semelhante ao verificado para compostos fenólicos totais e evidencia a eficiência da nanofiltração na concentração destes compostos.

#### 4.8. Ultrafiltração direta do extrato de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ)

Os experimentos utilizando ultrafiltração direta dos extratos de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ) foram realizados a fim de concentrar uma maior quantidade dos compostos fenólicos presentes nesses extratos. Os fluxos de permeado dos extratos de pequi centrifugado (EC) pré-tratado com quitosana (EQ) são mostrados na Figura 22.

Figura 22 - Fluxo de permeado por tempo de filtração dos extratos de pequi sem centrifugado e com quitosana (EQ).



Durante os 20 min iniciais houve um decaimento de fluxo mais acentuado devido a formação da camada de polarização na superfície da membrana. Ao longo de todo o processo o fluxo dos dois extratos foram caindo continuamente até se estabilizarem num fluxo de aproximadamente  $5 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . O pré-tratamento com quitosana permitiu reduzir o tempo necessário de filtração em 5 min para atingir o fator de concentração de 2. Além disso, o fluxo inicial através da membrana foi 1,4 vezes maior quando se utilizou este extrato. É mais vantajoso então utilizar o extrato pré-tratado com quitosana para evitar sobrecarga da membrana. Chhayaet al. (2012) utilizaram a ultrafiltração com o objetivo de clarificar e concentrar steviosídeo presente em extratos de Stévia utilizando uma membrana (Composto de filme fino – TFC) de 5kDa. Os autores conseguiram um fluxo de permeado para essa membrana de apenas  $2 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ , valor 60% do obtido neste trabalho na ultrafiltração direta dos extratos

de pequi. A Figura 23 mostra a alimentação do extrato pré-tratado com quitosana (EQ) e seu respectivo permeado após a ultrafiltração.

Figura 23 - Alimentação e permeado da ultrafiltração direta do extrato pré-tratado com quitosana (EQ).



#### 4.8.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração

Para investigar os mecanismos de incrustação envolvidos na ultrafiltração, e na microfiltração, foi utilizado o modelo de Hermia. Os valores de  $R^2$  e os parâmetros ajustados ( $k$ ) para cada mecanismo são exibidos na Tabela 23. Um alto valor de  $R^2$  indica um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo.

Tabela 23 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de ultrafiltração direta de extrato de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ).

	Bloqueio completo		Bloqueio padrão		Bloqueio intermediário		Formação de torta	
	$n=2$	$n=1,5$	$n=1,5$	$n=1$	$n=1$	$n=0$		
	$R^2$	$k_c$	$R^2$	$k_p$	$R^2$	$k_i$	$R^2$	$k_t$
<b>EC</b>	0,7775	-0,0097	0,8445	0,0017	0,8993	0,0012	0,9678	0,0003
<b>EQ</b>	0,8495	-0,0106	0,9068	0,0017	0,9523	0,0011	0,9982	0,0003

Assim como em todos os outros processos de filtração por membranas realizados neste trabalho, a formação de torta foi o modelo que melhor ajustou o decaimento de fluxo nas ultrafiltrações de ambos os extratos. Machado, Mello e Hubinger (2015) utilizaram o modelo de Hermia para modelar o decaimento de fluxo e verificaram que a formação de torta foi a principal responsável pelo decaimento do fluxo de permeado na ultrafiltração de extratos aquosos de pequi utilizando uma membrana de *cut-off* de 100 kDa e pressão de operação de 7 bar.

#### 4.8.2. Cálculo de resistências das membranas de ultrafiltração

A Tabela 24 apresenta as resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ).

Tabela 24 - Resistências obtidas para os processos de ultrafiltração dos extratos de pequi pré-tratados com semente de moringa (EM) e quitosana (EQ).

Resistências ( $10^{13} \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ )				
	$R_M$	$R_C$	$R_P$	$R_T$
<b>EC</b>	1,88	22,45	3,41	27,77
<b>EQ</b>	1,88	8,19	3,26	13,33

A resistência hidráulica da membrana, em relação aos processos foi a que menos contribuiu para o decaimento do fluxo e é a mesma para as duas ultrafiltrações pois este valor está diretamente relacionado com a permeabilidade hidráulica da membrana. A Tabela 24 mostra que a maior resistência total ( $R_T$ ) foi da ultrafiltração do extrato centrifugado, isso se deve a maior formação de torta no processo de ultrafiltração desse extrato sendo que é este o extrato que apresentou maior teor de lipídeos e sólidos totais. A resistência que apresentou maior contribuição para as ultrafiltrações dos dois extratos foi a resistência da torta ( $R_C$ ) representando cerca de 80% para o extrato centrifugado e 61% para o extrato pré-tratado com quitosana, em relação à resistência total ( $R_T$ ). Evans e Bird (2006) também concluíram que a formação de torta era o principal mecanismo de incrustação durante ultrafiltrações de licor de chá preto.

#### 4.8.3. Caracterização dos permeados da ultrafiltração direta

A Tabela 25 mostra os resultados para as análises realizadas nos permeados das ultrafiltrações.

Tabela 25 - Caracterização dos permeados das ultrafiltrações dos permeados vindos da ultrafiltração direta.

	Fenólicos (mgAG 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Teor de Lipídeos (%)	pH
<b>Alimentação</b>					
<b>EC</b>	108,56 <sup>a</sup> ± 0,44	1,07 <sup>a</sup> ± 0,20	20,6 <sup>a</sup> ± 0,39	1,20 <sup>a</sup> ± 0,00	4,66 <sup>a</sup> ± 0,02
<b>EQ</b>	77,52 <sup>b</sup> ± 0,57	0,46 <sup>b</sup> ± 0,35	16,73 <sup>b</sup> ± 0,18	0,96 <sup>b</sup> ± 0,06	4,06 <sup>b</sup> ± 0,02
<b>Permeados</b>					
<b>ECU</b>	29,46 <sup>c</sup> ± 1,33	0,53 <sup>b</sup> ± 0,06	4,57 <sup>c</sup> ± 0,18	0,02 <sup>c</sup> ± 0,002	4,67 <sup>a</sup> ± 0,03
<b>EQU</b>	29,01 <sup>c</sup> ± 0,29	0,53 <sup>b</sup> ± 0,06	4,30 <sup>c</sup> ± 0,25	0,01 <sup>c</sup> ± 0,003	4,16 <sup>b</sup> ± 0,02

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras (p≤0,05).

A partir da Tabela 25 observa-se que não houve diferença estatística significativa para as análises de fenólicos totais, sólidos solúveis e sólidos totais. A ultrafiltração dos extratos de pequi centrifugado (EC) e pré-tratado com quitosana (EQ) utilizando a membrana de 5 kDa foi capaz de reter 72 e 62% de compostos fenólicos presentes nos extratos centrifugado e de quitosana, respectivamente, uma maior retenção desses compostos no extrato centrifugado se deve ao fato de uma maior formação de torta na superfície da membrana, como os compostos fenólicos ficam ligados a outros sólidos em suspensão, uma maior torta provoca uma maior retenção dos mesmos. Houve pouca variação no pH dos dois extratos. Houve reduções nos valores de sólidos solúveis totais (56 e 45% para EC e EQ respectivamente), sólidos totais (78% e 74% para EC e EQ respectivamente) e lipídeos (aproximadamente 98% para os dois extratos). Utilizando a ultrafiltração direta na membrana de 5kDa obteve-se melhores resultados de retenção de compostos fenólicos quando comparada com a ultrafiltração do permeado da microfiltração dos extratos, isso devido a uma maior barreira formada pela torta da filtração. Os resultados obtidos pela ultrafiltração direta são semelhantes aos obtidos por Machado, Mello e Hubinger (2015) anteriormente discutidos no item 4.6.3.

#### 4.8.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado das ultrafiltrações

A Tabela 26 mostra os resultados para os polifenóis presentes nos permeados das ultrafiltrações.

Tabela 26 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos permeados da ultrafiltração direta ( $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
<b>Alimentação</b>			
<b>EC</b>	34,71 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15	8,43 <sup>a</sup> $\pm$ 0,31	17,85 <sup>a</sup> $\pm$ 0,07
<b>EQ</b>	26,00 <sup>b</sup> $\pm$ 1,56	7,31 <sup>b</sup> $\pm$ 0,07	14,51 <sup>b</sup> $\pm$ 0,36
<b>Permeados</b>			
<b>ECU</b>	8,13 <sup>c</sup> $\pm$ 1,30	0,56 <sup>c</sup> $\pm$ 0,02	3,74 <sup>c</sup> $\pm$ 0,02
<b>EQU</b>	8,94 <sup>c</sup> $\pm$ 1,27	0,60 <sup>c</sup> $\pm$ 0,02	2,56 <sup>d</sup> $\pm$ 0,71

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

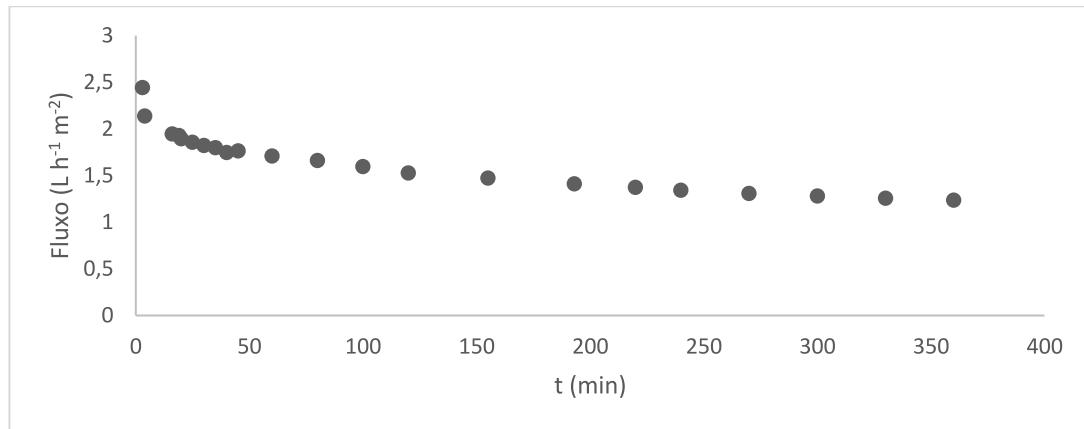
Os extratos ECU e EQU são iguais estatisticamente exceto no teor de ácido elágico, onde o ECU apresenta um teor maior desse ácido. Com a utilização da aplicação direta dos extratos de queijo na ultrafiltração houve a retenção de 77% de ácido gálico, 93% de ácido p-cumárico e 79% para ácido elágico no extrato centrifugado e a retenção de 65% de ácido gálico, 91% de ácido p-cumárico e 82% para ácido elágico no extrato pré-tratado com quitosana. Esses resultados colocam em evidência a maior retenção desses compostos quando comparada com a ultrafiltração do permeado da microfiltração, logo sugere-se este tipo de ultrafiltração para uma melhor retenção dos compostos fenólicos.

#### 4.9. Nanofiltração direta do extrato de queijo pré-tratado com quitosana (EQ)

O experimento utilizando nanofiltração direta do extrato de queijo pré-tratado com quitosana (EQ) foi realizado a fim de concentrar uma maior quantidade dos compostos

fenólicos totais presentes nesses extratos. O fluxo de permeado do extrato de pequi pré-tratado com quitosana (EQ) obtido nesta nanofiltração é mostrado na Figura 24.

Figura 24 - Fluxo de permeado por tempo de filtração da nanofiltração direta do extrato de pré-tratado com quitosana (UEQ).



O fluxo de permeado para a nanofiltração do extrato pré-tratado com quitosana reduziu de forma mais acentuada nos primeiros 25 min de filtração. Após esse tempo, o fluxo continuou reduzindo porém de forma menos acentuada até se estabilizar em  $1,24\ L\ h^{-1}\ m^{-2}$ . O baixo fluxo obtido nesse trabalho se deve ao fato do material da membrana (polietersulfona) ser pouco hidrofílico, logo o fluxo de compostos aquosos são dificultados e este material facilita a tendência ao *fouling* (GHIGGI, 2014). Arend et al., (2017) realizaram a nanofiltração de suco de morango utilizando membrana de difluoreto de polivinilideno (PVDF) com corte de massa molar variando entre 150 e 300 Da. O suco de morango foi obtido processando os frutos em um triturador sem pré-tratamento. Os autores conseguiram obter um fluxo de permeado estabilizado em torno de  $1,2\ L\ h^{-1}\ m^{-2}$  para o suco sem tratamento, valor muito semelhante ao encontrado neste trabalho.

#### 4.9.1. Mecanismos de incrustação envolvidos na nanofiltração

O modelo de Hermia foi utilizado para investigar os mecanismos de incrustação envolvidos na nanofiltração direta. Os valores de  $R^2$  e os parâmetros ajustados ( $k$ ) para cada

mecanismo são exibidos na Tabela 27. Um alto valor de  $R^2$  indica um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo.

Tabela 27 - Avaliação dos parâmetros de incrustação aplicando os modelos da Hermia no processo de nanofiltração direta de extrato de pequi pré-tratado com quitosana (EQ).

	Bloqueio completo		Bloqueio padrão		Bloqueio intermediário		Formação de torta	
	$n=2$		$n=1,5$		$n=1$		$n=0$	
	$R^2$	$k_c$	$R^2$	$k_p$	$R^2$	$k_i$	$R^2$	$k_t$
EQ	0,8678	-0,0016	0,9026	0,0006	0,9283	0,0009	0,9656	0,0012

Assim como em todos os outros processos de filtração por membranas realizados neste trabalho, a formação de torta foi o modelo que melhor ajustou o decaimento de fluxo na nanofiltração direta do extrato de pequi. Machado, Mello e Hubinger (2015) utilizaram o modelo de Hermia para modelar o decaimento de fluxo e verificaram que a formação de torta foi a principal responsável pelo decaimento do fluxo de permeado na nanofiltração de extratos aquosos de pequi utilizando uma membrana de *cut-off* de 200-300 Da e pressão de operação de 8 bar.

#### 4.9.2. Cálculo de resistências da membrana de nanofiltração

A Tabela 28 apresenta as resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato pré-tratado com quitosana (EQ).

Tabela 28 - Resistências obtidas para o processo de nanofiltração do extrato de pequi pré-tratado quitosana (EQ).

	Resistências ( $10^{14} \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ )			
	$R_M$	$R_C$	$R_P$	$R_T$
EQ	2,22	7,21	1,69	11,10

Por meio da Tabela 28 que a resistência que possui a maior contribuição para a nanofiltração direta é a resistência da torta ( $R_C$ ) representando cerca de 65% da resistência total ( $R_T$ ). Os sólidos suspensos e macromoléculas presentes no extrato de pequi se acumulam na superfície da membrana formando torta na superfície da membrana. Resultados semelhantes foram encontrados na nanofiltração de extrato de pequi realizada por Machado, Mello e Hubinger (2015).

#### 4.9.3. Caracterização do permeado da nanofiltração

A Tabela 29 mostra os resultados para as análises realizadas no concentrado e no permeados da nanofiltração.

Tabela 29 - Caracterização do concentrado (CN) e do permeado (PN) da nanofiltração.

	Fenólicos (mgAG 100 g <sup>-1</sup> polpa)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Teor de Lipídeos (%)	pH
<b>EQ</b>	77,52 <sup>a</sup> ± 0,57	0,96 <sup>a</sup> ± 0,06	16,73 <sup>a</sup> ± 0,18	0,46 <sup>a</sup> ± 0,35 <sup>a</sup>	4,06 <sup>a</sup> ± 0,02
<b>CND</b>	95,33 <sup>b</sup> ± 0,47	1,05 <sup>b</sup> ± 0,00	20,35 <sup>b</sup> ± 0,42	0,53 <sup>b</sup> ± 0,24	4,07 <sup>a</sup> ± 0,01
<b>PND</b>	6,72 <sup>c</sup> ± 0,14	0,53 <sup>c</sup> ± 0,06	2,97 <sup>c</sup> ± 0,21	0,00 <sup>c</sup> ± 0,00	4,03 <sup>a</sup> ± 0,02

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam estatisticamente diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

A partir da Tabela 29 tem-se que quase todo o ácido (pouca variação no pH) presente na alimentação pôde ser recuperado no permeado, porém grande parte dos açúcares presentes no extrato de alimentação ficaram retidos na nanofiltração (redução de 44% no teor de sólidos solúveis totais). Houve a remoção total no teor de lipídeos do extrato de pequi e a nanofiltração utilizando a membrana de 400 Da foi capaz de reter a 91% de compostos fenólicos e reduzir 82% no teor de sólidos totais. Machado, Mello e Hubinger (2015) conseguiram uma retenção de 99% no teor de compostos fenólicos totais da polpa de pequi, porém utilizaram uma membrana de tamanho de poros menor do que a usada neste trabalho, o que explica a diferença nos resultados.

#### 4.9.4. Caracterização dos compostos fenólicos presentes no permeado e no concentrado da nanofiltração

A Tabela 30 mostra os resultados para os polifenóis presentes na alimentação, concentrado e no permeado da nanofiltração.

Tabela 30 - Resultados das médias e desvios dos polifenóis presentes nos extratos concentrado e permeado das nanofiltração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato).

	Ácido Gálico	Ácido p-cumárico	Ácido Elágico
<b>EQ</b>	26,00 <sup>a</sup> ±1,56	7,31 <sup>a</sup> ± 0,07	14,51 <sup>a</sup> ± 0,36
<b>CND</b>	37,32 <sup>b</sup> ± 0,38	8,15 <sup>b</sup> ± 0,25	17,92 <sup>b</sup> ± 1,39
<b>PND</b>	4,16 <sup>c</sup> ± 0,13	0,45 <sup>c</sup> ± 0,02	1,13 <sup>c</sup> ± 0,29

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p\leq 0,05$ ).

Por meio da Tabela 30 pode-se observar que houve a retenção de (84, 94 e 92 % para o ácido gálico, p-cumárico e elágico respectivamente), indicando que a nanofiltração foi capaz de reter os ácidos fenólicos. Esse comportamento foi semelhante ao verificado para compostos fenólicos totais e evidencia a eficiência da nanofiltração na concentração destes compostos extraídos da polpa de pequi.

#### 4.10. Comparação dos processos de tratamento dos extratos de pequi

A Tabela 31 mostra a comparação entre os resultados obtidos para as análises de compostos fenólicos totais, sólidos totais, lipídeos e ácidos fenólicos individuais presentes nos extratos de pequi nos diferentes tratamentos aplicados.

Tabela 31 - Comparaçao entre os resultados obtidos nos diferentes tratamentos aplicados aos extratos de pequi.

Extrato	TPC	Teor de	Sólidos	Ácidos individuais ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato)			Fluxo ( $\text{L h}^{-1} \text{m}^{-2}$ )	
	(mg <sub>AG</sub> 100 g de polpa <sup>-1</sup> )	Lipídeos (%)	Totais (g L <sup>-1</sup> )	Ácido gálico	Ácido elágico	Ácido p-cumárico	Inicial	Final
<b>EC</b>	108,56 <sup>a</sup> ± 0,44	1,07 <sup>a</sup> ± 0,20	20,60 <sup>a</sup> ± 0,39	34,71 <sup>a</sup> ± 0,15	17,85 <sup>a</sup> ± 0,07	8,43 <sup>a</sup> ± 0,31	-	-
<b>EQ</b>	77,52 <sup>b</sup> ± 0,57	0,46 <sup>b</sup> ± 0,35	16,73 <sup>b</sup> ± 0,18	26,00 <sup>b</sup> ± 1,56	13,46 <sup>b</sup> ± 0,04	7,28 <sup>b</sup> ± 0,18	-	-
<b>MEC</b>	58,83 <sup>c</sup> ± 0,40	0,30 <sup>b,c</sup> ± 0,11	8,97 <sup>c</sup> ± 0,62	24,64 <sup>b</sup> ± 0,67	2,97 <sup>c</sup> ± 0,70	7,01 <sup>b,c</sup> ± 0,23-	88,33	5,28
<b>MEQ</b>	54,53 <sup>d</sup> ± 0,50	0,16 <sup>c,d</sup> ± 0,03	8,30 <sup>c</sup> ± 0,84	22,14 <sup>c</sup> ± 0,89	2,58 <sup>c</sup> ± 1,23	6,64 <sup>c</sup> ± 0,15	121,47	8,21
<b>UEQ</b>	31,44 <sup>e</sup> ± 0,89	0,08 <sup>d</sup> ± 0,06	6,33 <sup>d</sup> ± 0,81	9,12 <sup>d</sup> ± 1,01	1,61 <sup>d</sup> ± 0,15	6,05 <sup>c</sup> ± 0,50	19,96	6,56
<b>PN</b>	21,43 <sup>e,f</sup> ± 0,30	0,00 <sup>d</sup> ± 0,00	2,93 <sup>e</sup> ± 0,17	2,70 <sup>e</sup> ± 0,05	1,16 <sup>d</sup> ± 0,07	0,52 <sup>d</sup> ± 0,02	4,99	2,98
<b>ECU</b>	29,46 <sup>f</sup> ± 1,33	0,02 <sup>d</sup> ± 0,00	4,57 <sup>d,e</sup> ± 0,18	8,13 <sup>d</sup> ± 1,30	3,74 <sup>c</sup> ± 0,02	0,56 <sup>d</sup> ± 0,02	14,57	4,78
<b>QUE</b>	29,01 <sup>f</sup> ± 0,29	0,01 <sup>d</sup> ± 0,00	4,30 <sup>e</sup> ± 0,25	8,94 <sup>d</sup> ± 1,27	2,56 <sup>c</sup> ± 0,71	0,60 <sup>d</sup> ± 0,02	19,46	4,84
<b>PND</b>	6,72 <sup>g</sup> ± 0,14	0,00 <sup>d</sup> ± 0,00	2,97 <sup>e</sup> ± 0,21	4,16 <sup>f</sup> ± 0,13	1,13 <sup>d</sup> ± 0,29	0,45 <sup>e</sup> ± 0,02	2,44	1,24

\*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam estatisticamente diferença significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ).

Legenda:

EC	Extrato centrifugado
EQ	Extrato pré-tratado com quitosana
MEC	Microfiltrado de EC
MEQ	Microfiltrado de EQ
UEQ	Ultrafiltrado de MEQ
PN	Nanofiltrado de UEQ
ECU	Ultrafiltrado direto de EC
QUE	Ultrafiltrado direto de EQ
PND	Nanofiltrado direto de EQ

A Tabela 31 mostra que o pré-tratamento utilizando quitosana a  $0,1\text{ g L}^{-1}$  (EQ) foi capaz de remover 57% do teor de lipídeos e 20% no teor de sólidos totais em relação ao extrato centrifugado (EC). O benefício dessas reduções pode ser verificado no aumento de fluxo de permeado da microfiltração deste extrato. Inicialmente, o fluxo de permeado de EQ foi 27% superior ao de EC e no final do processo de microfiltração essa diferença no fluxo passou para 35%, indicando economia de tempo de processo e também evitando a sobrecarga sobre a membrana. O pré-tratamento com quitosana aumentaria uma produção de 12 h de operação de extrato microfiltrado de pequi em  $35\text{ L m}^{-2}$  evidenciando então a importância de seu uso para a clarificação do extrato antes de um processo de concentração por membranas. Esse aumento no fluxo de permeado fez com que esse extrato fosse escolhido para a realização das ultra (UEQ) e nanofiltrações (PN) sequenciais para a concentração dos compostos fenólicos totais presentes no extrato de pequi. Esses processos de concentração, embora conseguissem purificar o extrato eliminando sólidos totais e lipídeos do meio, não concentraram satisfatoriamente o teor de compostos fenólicos totais e individuais presentes nos extratos, sendo assim, a aplicação destes diretamente nas membranas tornou-se uma alternativa mais viável à concentração destes compostos.

Nas ultrafiltrações diretas utilizando o extrato centrifugado (ECU) e o extrato pré-tratado com quitosana (EQU), este último fez com que o fluxo de permeado no início na filtração fosse 25% maior e no final do processo esse fluxo fosse aumentado em 1,23%, indicando que em todo o tempo o fluxo de permeado fosse maior, economizando novamente energia e aumentando a produção. Com base nos resultados obtidos para a ultra (UEQ) e a nanofiltração (PN) sequencial é possível verificar que houve baixa retenção dos compostos fenólicos quando comparados com a ultrafiltração (EQU) e nanofiltração direta (PND) sendo assim, essas últimas mais vantajosas quando se leva em conta a concentração dos compostos fenólicos totais, na EQU (65%) e na PND que conseguiu uma retenção dos compostos fenólicos totais de 91%. Porém, nesses processos onde o extrato foi colocado diretamente em contato com a membrana, os fluxos de permeado permaneceram baixos durante todo o processo. Levando em consideração, a retenção dos compostos bioativos e o tempo e fluxo de permeado, a EQU se mostrou mais vantajosa em relação à PND, já que conseguiu bons resultados na retenção dos compostos fenólicos e abaixou o tempo de processo em cerca de 3 h.

## 5. CONCLUSÕES

A extração de compostos fenólicos é favorecida quando se utiliza baixas concentrações de polpa em solução ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ). Entretanto, extratos muito diluídos não são apropriados economicamente para a concentração por membranas e altas concentrações ( $70 \text{ g L}^{-1}$ ) de polpa são inviáveis devido ao custo do fruto. Assim, uma concentração de  $25 \text{ g 100 mL}^{-1}$  de polpa foi suficiente para obter uma extração satisfatória. Com relação a influência temperatura, tem-se que o aumento da temperatura até valores de aproximadamente  $80^\circ\text{C}$  favorecem a extração, porém temperaturas acima de  $80^\circ\text{C}$  podem degradar esses compostos fazendo com que menores teores sejam obtidos. O planejamento experimental realizado a fim de mostrar a melhor faixa de extração evidenciou que as melhores condições de extração de compostos fenólicos são em baixas concentrações de solução e maiores temperaturas.

A quitosana na concentração de  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  foi o adsorvente que mais removeu lipídeos do extrato de pequi (redução de 57% no teor de lipídeos), porém os extratos de semente de moringa integral ( $2 \text{ g L}^{-1}$ ) e desengordurada ( $0,6 \text{ g L}^{-1}$ ) foram eficientes também na clarificação do extrato aquoso de pequi fazendo com que ocorresse a redução de sólidos (12 e 26%) e lipídeos (45 e 32%) para moringa integral e desengordurada, respectivamente. A moringa fez com que o fluxo de permeado na microfiltração fosse aumentado, contudo, a quitosana promoveu um maior aumento no fluxo de permeado na microfiltração (35% a mais) e na ultrafiltração direta (25% no início e 1,23% no final da filtração).

A microfiltração foi um processo eficiente na clarificação dos extratos aquosos de pequi fazendo com que obtivesse um permeado mais límpido que não sobrecarregasse a ultrafiltração para a concentração dos compostos fenólicos. A microfiltração foi capaz de reduzir o teor de sólidos totais em 56, 56, e 50% e lipídeos 72, 67 e 45% em comparação aos extratos de alimentação EC, EM e EQ. A ultrafiltração do permeado da microfiltração, por sua vez, fez com que fossem reduzidos 50 e 90% do teor de lipídeos e 21 e 23% dos sólidos totais para EM e EQ respectivamente, pois estes ficaram retidos na superfície da membrana de ultrafiltração. A ultrafiltração sequencial do permeado da microfiltração utilizando a membrana de 5 kDa foi capaz de reter 43 e 42% de compostos fenólicos presentes nos extratos microfiltrados de moringa e quitosana, respectivamente. A nanofiltração sequencial do permeado da ultrafiltração foi capaz de reter 54% no teor de sólidos totais porém houve apenas 31% de compostos fenólicos retidos. Já na ultrafiltração direta dos extratos EC e EQ houve reduções nos valores

de sólidos solúveis totais (56 e 45% para EC e EQ respectivamente), sólidos totais (78% e 74% para EC e EQ respectivamente) e lipídeos (aproximadamente 98% para os dois extratos). Utilizando a ultrafiltração direta na membrana de 5kDa conseguiu-se melhores resultados de retenção de compostos fenólicos quando comparada com a ultrafiltração do permeado da microfiltração dos extratos

A nanofiltração direta utilizando a membrana de 400 Da atingiu uma retenção de 91% no teor de compostos fenólicos totais e além disso promoveu uma redução de 82% no teor de sólidos totais, indicando que este processo foi o melhor na retenção destes compostos. O fluxo de permeado obtido nesta filtração, porém, foi muito baixo ( $1,24 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ) logo, a ultrafiltração direta foi o processo mais viável para a concentração dos compostos fenólicos totais pois reduziu o tempo de processo em relação à nanofiltração direta em aproximadamente 3 h, terminando a filtração com um fluxo de permeado de  $4,84 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ .

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a extração dos compostos fenólicos em diferentes tempos e avaliar a possibilidade de re-extrair compostos fenólicos da polpa para um melhor aproveitamento da mesma.
- Avaliar outros parâmetros físico-químicos nos extratos, tais como carotenóides.
- Avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos nos extratos com o tempo.
- Estudar a possibilidade de micro-encapsular e secar os compostos fenólicos presentes nos extratos a fim de aumentar sua estabilidade e também verificar a possibilidade de sua aplicação em outros produtos como sopas e sucos.
- Realizar análise sensorial de produtos enriquecidos com os compostos fenólicos extraídos da polpa de pequi.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. 18. ed. Gaithersburg, Maryland: [s.n.], 2005.
- AGHDAM, M. A. et al. Effect of ultrasound on different mechanisms of fouling during membrane clarification of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 30, p. 127–131, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.05.008>
- AHMAD, A. L.; SUMATHI, S.; HAMEED, B. H. Coagulation of residue oil and suspended solid in palm oil mill effluent by chitosan, alum and PAC. *Chemical Engineering Journal*, v. 118, n. 1–2, p. 99–105, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.02.001>
- AL-FARSI, M. A.; LEE, C. Y. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, v. 108, n. 3, p. 977–985, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.009>
- ALVES, V. N. et al. Determination of inorganic arsenic in natural waters after selective extraction using *Moringa oleifera* seeds. *Ecological Engineering*, v. 106, p. 431–435, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.007>
- ANADÃO, P. *Ciência e Tecnologia de Membranas*. 1. ed. [S.l.]: Artliber, 2010.
- ARENDE, G. D. et al. Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. *Journal of Food Engineering*, v. 201, p. 36–41, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.01.014>
- ASSUNÇÃO, P. E. V. Extrativismo e comercialização de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em duas cidades no estado de Goiás. *Revista Eletrônica de Economia da Universidade Estadual de Goiás*, v. 8, n. 2, p. 17–26, 2012.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 17, n. 3–4, p. 385–396, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.02.004>
- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana : aplicações como biomateriais. v. 3, p. 27–34, 2007.
- BAPTISTA, A. T. A. et al. Protein fractionation of seeds of *Moringa oleifera* lam and its application in superficial water treatment. *Separation and Purification Technology*, v. 180, p. 114–124, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.02.040>
- BARROS, H. D. F. Q. et al. The Journal of Supercritical Fluids Simultaneous extraction of edible oil from avocado and capsanthin from red bell pepper using supercritical carbon dioxide as solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 107, p. 315–320, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.025>
- BHATIA, S.; OTHMAN, Z.; AHMAD, A. L. Pretreatment of palm oil mill effluent (POME) using *Moringa oleifera* seeds as natural coagulant. *Journal of Hazardous Materials*, v. 145, p. 120–126, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.11.003>
- BHATTACHARJEE, C.; SAXENA, V. K.; DUTTA, S. Fruit juice processing using membrane technology: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 43, n. August, p. 136–153, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.002>

- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- BOERIS, V. et al. Interaction behavior between chitosan and pepsin. *Carbohydrate Polymers*, v. 84, n. 1, p. 459–464, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.008>
- BOUGH, W. A.; LANDES, D. R. Recovery and nutritional evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *Journal of dairy science*, v. 59, n. 11, p. 1874–80, 1976. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84456-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84456-6)
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, v. 56, n. 11, p. 317–38, 1998. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- CAMACHO, F. P. et al. The use of *Moringa oleifera* as a natural coagulant in surface water treatment. *Chemical Engineering Journal*, v. 313, p. 226–237, 1 abr. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.031>
- CARDOSO, L. DE M. et al. Chemical characteristics and bioactive compounds of cooked *pequi* fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) from the Brazilian Savannah. *Fruits*, v. 68, n. 1, p. 3–14, 2013. <https://doi.org/10.1051/fruits/2012047>
- CARMAGO, M. P. DE et al. A cultura do *Pequi* (*Caryocar Brasiliense* Camb.) na recuperação de áreas degradadas e como alternativa para a produção de biodiesel no Brasil. *Journal of Agronomic Sciences*, v. 3, p. 180–192, 2014.
- CARRAZZA, L. R.; ÁVILA, J. C. C. *Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Pequi (Caryocar brasiliense)*. [S.l: s.n.], 2010.
- CARVALHO, J. M. *Recuperação de Ácido Láctico por Filtração Tangencial*. 2008. 76 f. Dissertação de mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, 2008.
- CASTRO-MUÑOZ, R. et al. Current Role of Membrane Technology: From the Treatment of Agro-Industrial by-Products up to the Valorization of Valuable Compounds. *Waste and Biomass Valorization*, v. 0, n. 0, p. 1–17, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0003-1>
- CHATTERJEE, S. et al. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 12, p. 2229–2232, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.024>
- CHERYAN, M. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. New York: CRC Press, 1998.
- CHHAYA et al. Clarification of Stevia extract by ultrafiltration: Selection criteria of the membrane and effects of operating conditions. *Food and Bioproducts Processing*, v. 90, n. 3, p. 525–532, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.10.002>
- CHISTÉ, R. C. et al. The potential of extracts of *Caryocar villosum* pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, v. 135, n. 3, p. 1740–1749, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.027>
- CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of carotenoids and phenolic compounds from the Amazonian fruit *Caryocar villosum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 23, p. 5884–5892, 2012. <https://doi.org/10.1021/jf301904f>
- CHOY, S. Y. et al. Performance of conventional starches as natural coagulants for turbidity removal. *Ecological Engineering*, v. 94, p. 352–364, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.082>

COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2139–2142, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.032>

CONG-CONG, X. et al. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 15, n. 10, p. 721–731, 2017. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30103-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30103-6)

CONIDI, C. et al. Separation and purification of phenolic compounds from pomegranate juice by ultrafiltration and nanofiltration membranes. *Journal of Food Engineering*, v. 195, p. 1–13, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.09.017>

COSTA, G. H. G. et al. Use of *Moringa oleifera* Lamarck leaf extract as sugarcane juice clarifier : effects on clarified juice and sugar. *Food Science an Technology*, v. 2014, n. 6273, p. 204–209, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100029>

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, v. 26, n. 8, p. 1001, 2009. <https://doi.org/10.1039/b802662a>

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

DAMIANI, C. et al. Influência de diferentes temperaturas na manutenção da qualidade de pequi minimamente processado. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 1, p. 203–212, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000100030>

DATTA, D. et al. Separation of ovalbumin from chicken egg white using two-stage ultrafiltration technique. *Separation and Purification Technology*, v. 66, n. 2, p. 353–361, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.12.016>

DAVIS, R. H. Microfiltration. *Membrane Handbook*. New York: Chapman & Hall, 1992. p. 954.

DE OLIVEIRA, R. C.; DOCÊ, R. C.; DE BARROS, S. T. D. Clarification of passion fruit juice by microfiltration: Analyses of operating parameters, study of membrane fouling and juice quality. *Journal of Food Engineering*, v. 111, n. 2, p. 432–439, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.021>

DE SOUZA, V. R. et al. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, v. 156, p. 362–368, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>

DOMINGUES, R. C. C. et al. Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments. *Process Biochemistry*, v. 47, n. 3, p. 467–471, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.002>

DOMINGUES, R. C. C. et al. Microfiltration of passion fruit juice using hollow fibre membranes and evaluation of fouling mechanisms. *Journal of Food Engineering*, v. 121, n. 1, p. 73–79, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.037>

- ESPINOSA-PARDO, F. A. et al. Extraction of phenolic compounds from dry and fermented orange pomace using supercritical CO<sub>2</sub> and cosolvents. *Food and Bioproducts Processing*, v. 101, p. 1–10, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.10.002>
- EVANS, P. J.; BIRD, M. R. Solute-Membrane Fouling Interactions During the Ultrafiltration of Black Tea Liquor. *Food and Bioproducts Processing*, v. 84, n. 4, p. 292–301, 2006. <https://doi.org/10.1205/fbp06030>
- FANE, A. G.; FELL, C. J. D. A review of fouling and fouling control in ultrafiltration. *Desalination*, v. 62, p. 117–136, jan. 1987. [https://doi.org/10.1016/0011-9164\(87\)87013-3](https://doi.org/10.1016/0011-9164(87)87013-3)
- FERNÁNDEZ, M.; FOX, P. F. Fractionation of cheese nitrogen using chitosan. *Food Chemistry*, v. 58, n. 4, p. 319–322, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00168-9)
- GARCIA-SALAS, P. et al. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, v. 15, n. 12, p. 8813–8826, 2010. <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>
- GASSARA, F. et al. Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. *Journal of Food Engineering*, v. 166, p. 80–85, 1 dez. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.05.028>
- GEOCZE, K. C. et al. Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 1–8, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.005>
- GERKE, I. B. B. et al. Clarification of crude extract of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) by membrane processes: Analysis of fouling and loss of bioactive compounds. *Food and Bioproducts Processing*, v. 102, p. 204–212, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.12.008>
- GESSINGER, H. *Esportes Radicais*. . Rio de Janeiro: Universal Music. , 2002
- GHIGGI, F. F. *Síntese e Caracterização de Membranas de Ultrafiltração de Polietersulfona / Ftaloil- quitosana com Propriedade Antifouling*. . Porto Alegre: [s.n.]. , 2014
- GONÇALVES, F.; FERNANDES, C.; DE PINHO, M. N. White wine clarification by micro/ultrafiltration: effect of removed colloids in tartaric stability. *Separation and Purification Technology*, v. 22, p. 423–429, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(00\)00179-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(00)00179-9)
- GONÇALVES, N. B. et al. Abacaxi, pós colheita. *Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia*, p. 13 – 45, 2000.
- GONG, Y. et al. Optimization of extraction parameters of bioactive components from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*, v. 90, n. 1, p. 9–16, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.12.004>
- GUO, L. et al. Optimized synchronous extraction process of tea polyphenols and polysaccharides from Huaguoshan Yunwu tea and their antioxidant activities. *Food and Bioproducts Processing*, v. 100, p. 303–310, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.08.001>
- HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. *Processos de Separação por Membranas*. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.
- HERMIA, J. Constant Pressure Blocking Filtration Laws - Application to Power-Law Non-Newtonian Fluids. *Icheme*, v. 60, p. 183–187, 1982.
- HO, W. S. W.; SIRKAR, K. K. Overview. *Membrane Handbook*. New York: Chapman & Hall,

1992. p. 954. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3548-5>
- HWANG, D. C.; DAMODARAN, S. Selective Precipitation and Removal of Lipids from Cheese Whey Using Chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, n. 1, p. 33–37, 1995. <https://doi.org/10.1021/jf00049a008>
- HWANG, K. J.; LIAO, C. Y.; TUNG, K. L. Effect of membrane pore size on the particle fouling in membrane filtration. *Desalination*, v. 234, n. 1–3, p. 16–23, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.09.065>
- IBGE. *Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura*. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2016>>. Acesso em 25 de out. de 2017.
- JARTO, I. et al. Utilisation of chitosan flocculation of residual lipids and microfiltration for the production of low fat, clear WPC80. *International Journal of Dairy Technology*, v. 68, n. 4, p. 471–477, 2015. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12249>
- KHEMAKHEM, I. et al. Kinetic improvement of olive leaves' bioactive compounds extraction by using power ultrasound in a wide temperature range. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 34, p. 466–473, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.010>
- KULKARNI, S. S.; FUNK, E. W.; LI, N. N. Ultrafiltration. *Membrane Handbook*. New York: Chapman & Hall, 1992. p. 954.
- KUMAR, A.; THAKUR, B. K.; DE, S. Selective Extraction of (-)Epigallocatechin Gallate from Green Tea Leaves Using Two-Stage Infusion Coupled with Membrane Separation. *Food and Bioprocess Technology*, v. 5, n. 6, p. 2568–2577, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0580-0>
- KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- LAORKO, A. et al. Effect of membrane property and operating conditions on phytochemical properties and permeate flux during clarification of pineapple juice. *Journal of Food Engineering*, v. 100, n. 3, p. 514–521, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.039>
- LI, K. *Ceramic Membranes for Separation and Reaction*. Londres: Wiley, 2007. <https://doi.org/10.1002/9780470319475>
- LIMA, A. DE et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoia do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.
- LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. v. 46, p. 207–219, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.010>
- MACHADO, M. T. C. et al. Clarification and concentration of oligosaccharides from artichoke extract by a sequential process with microfiltration and nanofiltration membranes. *Journal of Food Engineering*, v. 180, p. 120–128, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.02.018>
- MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. *Food and Bioproducts Processing*, v. 95, n. October 2014, p. 304–312, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.10.013>
- MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Study of alcoholic and

aqueous extraction of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, v. 117, n. 4, p. 450–457, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.007>

MADRONA, G. S. et al. The Potential of Different Saline Solution on the Extraction of the *Moringa oleifera* Seed's Active Component for Water Treatment. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, v. 9, n. 1, 2011. <https://doi.org/10.1515/1542-6580.2511>

MAGA, J. A.; KATZ, I. Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 10, n. 4, p. 323–372, 1978. <https://doi.org/10.1080/10408397809527255>

MANGUNDAYAO, K.; YASURIN, P. Bioactivity of *Moringa oleifera* and its Applications: A Review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, v. 11, n. 1, p. 43–50, 2017. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.1.07>

MARUDOVA, M.; MACDOUGALL, A. J.; RING, S. G. Pectin-chitosan interactions and gel formation. *Carbohydrate Research*, v. 339, n. 11, p. 1933–1939, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.05.017>

MELLO, B. C. B. S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, v. 96, n. 4, p. 533–539, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.040>

MULDER, M. *Basic Principles of Membrane Technology*. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*. Holanda: Kluwer Academic Publishers, 1996. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-1766-8>

MURAKAMI, A. N. N. et al. Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration. *Food Chemistry*, v. 141, n. 1, p. 60–65, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.119>

MUTHURAMAN, G.; SASIKALA, S. Removal of turbidity from drinking water using natural coagulants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20, n. 4, p. 1727–1731, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.08.023>

NANDI, B. K.; DAS, B.; UPPALURI, R. Clarification of orange juice using ceramic membrane and evaluation of fouling mechanism. *Journal of Food Process Engineering*, v. 35, n. 3, p. 403–423, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00597.x>

NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K. S.; TALBOT, B. G. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. *Water Research*, v. 29, n. 2, p. 703–710, 1995. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00161-Y](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00161-Y)

NEDZAREK, A. et al. The influence of pH and BSA on the retention of selected heavy metals in the nanofiltration process using ceramic membrane. *Desalination*, v. 369, n. 3, p. 62–67, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2015.04.019>

NILSSON, J. L. Protein fouling of uf membranes: Causes and consequences. *Journal of Membrane Science*, v. 52, n. 2, p. 121–142, set. 1990. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(00\)80481-0](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(00)80481-0)

OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, v. 48, n. 1, p. 170–179, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.011>

- OLIVEIRA, M. E. B. DE et al. Aspetos Agronômicos e de Qualidade do Pequi. *Embrapa*, v. 113, p. 33, 2008.
- PASRIJA, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Techniques for Extraction of Green Tea Polyphenols: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, v. 8, n. 5, p. 935–950, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1479-y>
- PINELO, M.; ZEUNER, B.; MEYER, A. S. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. *Food and Bioproducts Processing*, v. 88, n. 2–3, p. 259–265, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.03.005>
- QIN, G. et al. Microfiltration of kiwifruit juice and fouling mechanism using fly-ash-based ceramic membranes. *Food and Bioproducts Processing*, v. 96, p. 278–284, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.09.006>
- RAI, P. et al. Effect of various pretreatment methods on permeate flux and quality during ultrafiltration of mosambi juice. *Journal of Food Engineering*, v. 78, n. 2, p. 561–568, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.10.024>
- RAO, L. et al. Effect of ultrafiltration and fining adsorbents on the clarification of green tea. *Journal of Food Engineering*, v. 102, n. 4, p. 321–326, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.007>
- RAVICHANDRAN, K. et al. The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Research International*, v. 48, n. 1, p. 16–20, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.011>
- RAVIKUMAR, K.; SHEEJA, A. K. Water clarification using *Moringa oleifera* Lam . seed as a natural coagulant. *Current Biotica*, v. 5, n. 4, p. 472–486, 2012.
- RECHARLA, N. et al. Novel technologies to enhance solubility of food-derived bioactive compounds: A review. *Journal of Functional Foods*, v. 39, p. 63–73, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.001>
- RIBEIRO, L. F. et al. Profile of bioactive compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) by spectrophotometric, chromatographic and spectral analyses. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v. 1007, p. 72–80, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.11.005>
- RIBEIRO, R. F. *Pequi: o rei do cerrado*. Belo Horizonte: Rede Cerrado, 2000.
- ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods : An overview of analytical methodology. *Agricultural and food chemistry*, v. 51, n. November, p. 2866–2887, 2003. <http://dx.doi.org/10.1021/jf026182t>
- ROCHA, M. A.; COIMBRA, M. A. ; NUNES, C. Applications of chitosan and their derivatives in beverages: a critical review. *Current Opinion in Food Science*, v. 15, p. 61–69, 1 jun. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.06.008>
- ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, v. 110, n. 3, p. 711–717, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.048>

- ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 53–60, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>
- SCHÄFER, A. I.; FANE, A. G.; WAITE, T. D. *Nanofiltration - Principles and Applications*. Inglaterra: [s.n.], 2005.
- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, v. 10, n. 2, p. 37–51, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00017-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00017-5)
- SILVA, C.; GARCIA, V. S.; FRANCISCATO, L. S. Extração Assistida por Ultrassom de Compostos Bioativos das Cascas de Lichia ( Litchi Chinensis Sonn .) Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Lichia Peels ( Litchi Chinensis Sonn .). *Revista Ciências Exatas e Naturais*, v. 18, n. 1, p. 81–96, 2016.
- SILVA, D. B. DA et al. Avaliação do potencial de produção do “Pequizeiro-Anão” sob condições naturais na região sul do estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 23, n. 3, p. 726–729, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452001000300057>
- SOOD, A.; GUPTA, M. Extraction process optimization for bioactive compounds in pomegranate peel. *Food Bioscience*, v. 12, p. 100–106, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.09.004>
- SOUZA, L. DOS S. et al. Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*, v. 168, p. 188–198, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.05.029>
- SOUZA, J. P. DE et al. Estabilidade de produtos de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) sob congelamento em diferentes tipos de embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 35, n. 4, p. 971–976, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452013000400007>
- SPAGNA, G. et al. The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Research International*, v. 29, n. 3–4, p. 241–248, 1996. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(96\)00025-7](https://doi.org/10.1016/0963-9969(96)00025-7)
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 10, p. 63–68, 1969. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
- TASTAN, O.; BAYSAL, T. Clarification of pomegranate juice with chitosan: Changes on quality characteristics during storage. *Food Chemistry*, v. 180, p. 211–218, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.053>
- TAŞTAN, Ö.; BAYSAL, T. Chitosan as a novel clarifying agent on clear apple juice production: Optimization of process conditions and changes on quality characteristics. *Food Chemistry*, v. 237, p. 818–824, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.025>
- UROŠEVIĆ, T. et al. Recent developments in microfiltration and ultrafiltration of fruit juices. *Food and Bioproducts Processing*, v. 106, p. 147–161, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.09.009>
- USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice. *Journal of Membrane Science*, v. 288, n. 1–2, p. 61–66, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.11.003>
- VERA, R. et al. Caracterização física de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) no

estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 35, n. 2, p. 71–79, 2005.

VIGNESWARAN, S. et al. Delineation of Membrane Process. In: ENGINEERS, A. S. OF C. (Org.). *Membrane technology and environmental applications*. [S.l: s.n.], 2012. p. 45–58. <https://doi.org/10.1061/9780784412275.ch02>

VUONG, Q. V. et al. Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of Separation Science*, v. 34, n. 21, p. 3099–3106, 2011. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000863>

WANG, J. et al. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, v. 106, n. 2, p. 804–810, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>

WILSON, I. D. - *Encyclopedia of Separation Science*. Oxford: Elsevier, 2000.

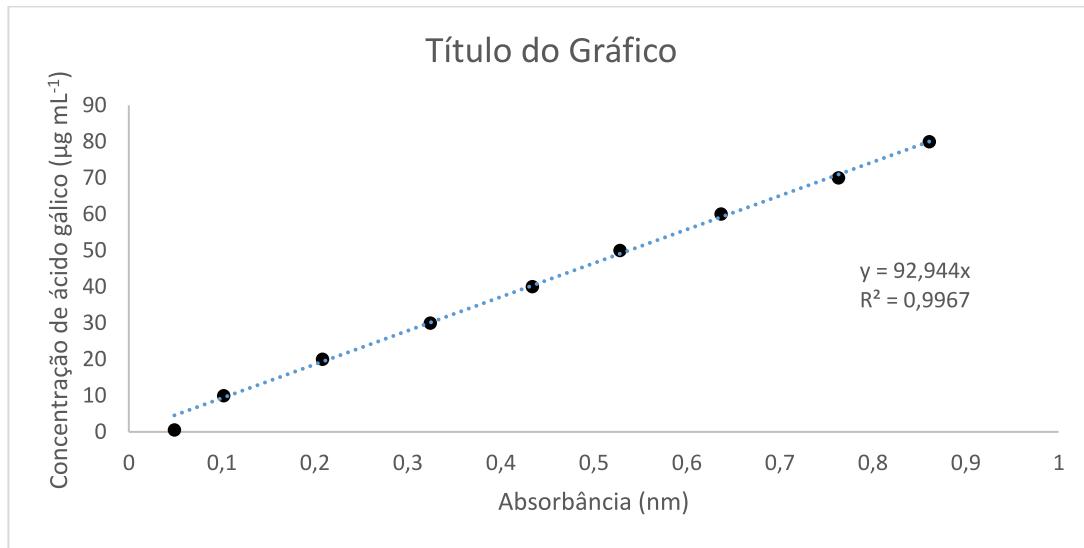
YANG, R. et al. A review on chitosan-based flocculants and their applications in water treatment. *Water Research*, v. 95, n. 2015, p. 59–89, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.068>

YOUSEFNEZHAD, B.; MIRSAEEDGHAZI, H.; ARABHOSSEINI, A. Pretreatment of Pomegranate and Red Beet Juices by Centrifugation Before Membrane Clarification: A Comparative Study. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 41, n. 2, p. 1–7, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12765>

## APÊNDICE A

A Figura 25 mostra a curva de calibração padrão de ácido gálico utilizada para os cálculos da análise de teor de compostos fenólicos totais (TPC).

Figura 25 - Curva de calibração padrão de ácido gálico.



A quantificação dos compostos fenólicos totais foi feita a partir da reta representada pela Equação 12.

$$y = 92,944x \quad (12)$$

sendo  $y$  a concentração de equivalentes de ácido gálico ( $\mu\text{g}_{\text{AG}} \text{ mL}^{-1}$ ) e  $x$  a absorbância (nm).

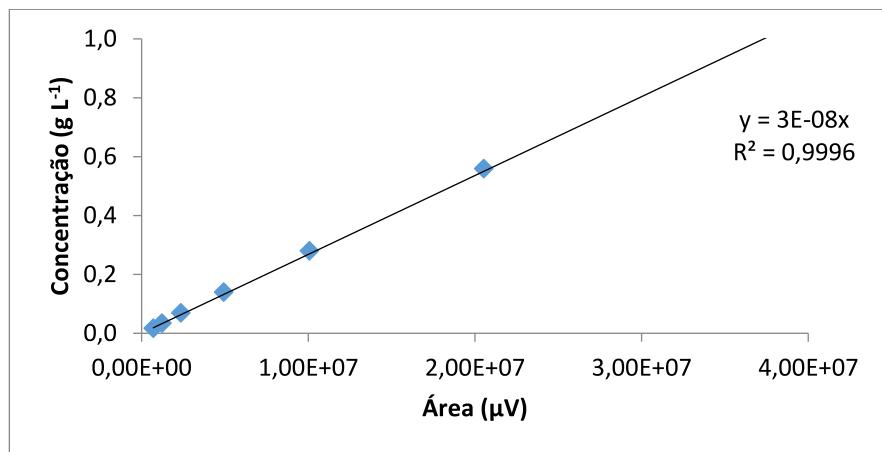
O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o modelo linear ajustado foi de 0,99 indicando que o modelo explicou 99% da variabilidade dos dados observados.

## APÊNDICE B

Neste tópico serão mostradas as curvas de calibração usadas para os cálculos da concentração dos ácidos fenólicos individuais presentes nos extratos de pequi.

A Figura 26 mostra a curva de calibração padrão para o ácido gálico.

Figura 26 - Curva de calibração padrão de ácido gálico.



A quantificação do teor de ácido gálico nos extratos de pequi foi feita a partir da reta representada pela Equação 13.

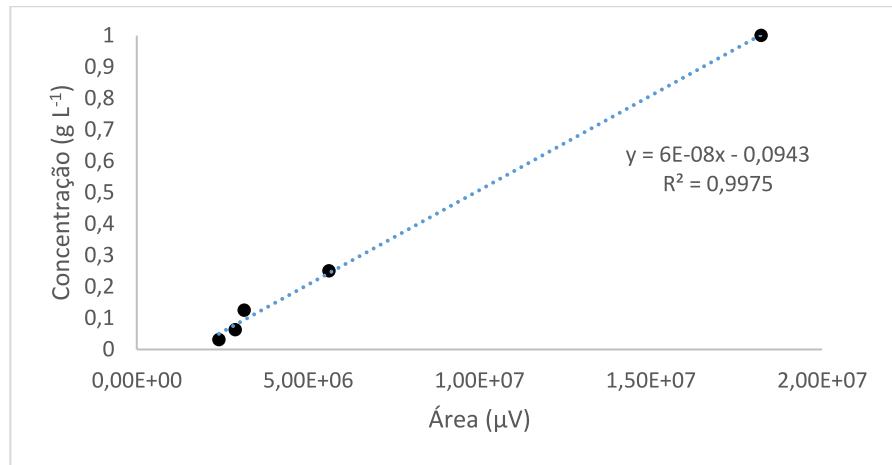
$$y = 3E-08x \quad (13)$$

sendo  $y$  a concentração de ácido gálico ( $\text{g L}^{-1}$ ) e  $x$  a área da curva ( $\mu\text{V}$ ).

O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o modelo linear ajustado foi de 0,99 indicando que o modelo explicou 99% da variabilidade dos dados observados.

A Figura 27 mostra a curva de calibração padrão para o ácido elágico.

Figura 27 - Curva de calibração padrão de ácido elágico.



A quantificação do teor de ácido elágico nos extratos de pequi foi feita a partir da reta representada pela Equação 14.

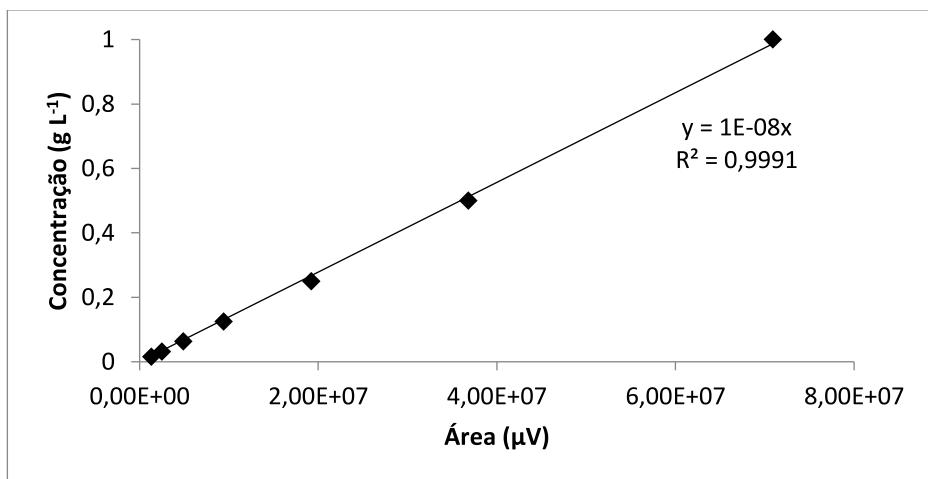
$$y = 6E-08x - 0,0943 \quad (14)$$

sendo  $y$  a concentração de ácido elágico ( $\text{g L}^{-1}$ ) e  $x$  a área da curva ( $\mu\text{V}$ ).

O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o modelo linear ajustado foi de 0,99 indicando que o modelo explicou 99% da variabilidade dos dados observados.

A Figura 28 mostra a curva de calibração padrão para o ácido p-cumárico.

Figura 28 - Curva de calibração padrão de ácido p-cumárico.



A quantificação do teor de ácido p-cumárico nos extratos de pequi foi feita a partir da reta representada pela Equação 15.

$$y = 1E-8x \quad (15)$$

sendo  $y$  a concentração de ácido p-cumárico ( $\text{g L}^{-1}$ ) e  $x$  a área da curva ( $\mu\text{V}$ ).

O coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o modelo linear ajustado foi de 0,99 indicando que o modelo explicou 99% da variabilidade dos dados observados.