



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS (PPGCTA)

LUZ ANGELA CARMONA GÓMEZ

SEPARAÇÃO MEDIANTE ULTRAFILTRAÇÃO E MICROENCAPSULAMENTO
POR ATOMIZAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DE UVA
BORDÔ (*Vitis labrusca*)

PORTO ALEGRE

2016

LUZ ANGELA CARMONA GOMEZ

**SEPARAÇÃO MEDIANTE ULTRAFILTRAÇÃO E MICROENCAPSULAMENTO
POR ATOMIZAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DE UVA
BORDÔ (*Vitis labrusca*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Caciano P.Z. Noreña

Co-Orientador: Prof. Dr. Adriano Brandelli

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

GOMEZ, LUZ ANGELA CARMONA
SEPARAÇÃO MEDIANTE ULTRAFILTRAÇÃO E
MICROENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS DA CASCA DE UVA BORDÔ (Vitis labrusca) / LUZ
ANGELA CARMONA GOMEZ. -- 2016.
109 f.

Orientador: CACIANO PELAYO ZAPATA NOREÑA.
Coorientador: ADRIANO BRANDELLI.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciências e Tecnologia de Alimentos, MESTRADO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Porto Alegre, BR-
RS, 2016.

1. COMPOSTOS FENOLICOS. 2. PROCESSOS DE SEPARAÇÃO
POR MEMBRANAS. 3. MICROENCAPSULAÇÃO POR ATOMIZAÇÃO.
4. ULTRAFILTRAÇÃO . I. ZAPATA NOREÑA, CACIANO PELAYO,
orient. II. BRANDELLI, ADRIANO, coorient. III. Título.

Luz Angela Carmona Gómez (Química Industrial, UTP-Colombia)

DISSERTAÇÃO

SEPARAÇÃO MEDIANTE ULTRAFILTRAÇÃO E MICROENCAPSULAMENTO POR ATOMIZAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DE UVA BORDÔ (*Vitis labrusca*)

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau em:

MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: 23/05/2016

Pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña
Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Adriano Brandelli
Co-Orientador

Homologada em:/...../.....

Por:

Prof. Dr. Rafael Costa Rodrigues
Banca – CTA/UFRGS

Profa. Dra. Rosane Rech
Coordenadora do Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos (PPGCTA)

Profa. Dra. Camila Carvalho Lago
Banca – IF Farroupilha

Profa. Dra. Carolina Pereira Kechinski
Banca – UFCSPA

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos - ICTA/UFRGS

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado as forças e a coragem para afrontar e enfrentar este grande desafio na minha vida.

Ao meu esposo e companheiro que a pesar dos obstáculos e das “pedras no caminho” nunca me deixou cair e sempre, desde longe ou desde perto é o meu apoio, porque não me deixou desistir e me fez entender que valia a pena fazer este imenso sacrifício.

A minha pequena Tamara porque a pesar da sua idade conseguiu entender minhas ausências e me cedeu grande parte do seu tempo, enfrentando também sacrifícios junto comigo para eu conseguir atingir meu objetivo.. Te Amo filha.

A minha bebe Thaisa, por me acompanhar incansavelmente dia a dia até conseguir imprimir este trabalho e engolir junto comigo as raivas, as tristezas, os desconfortos e também a alegria de ter culminado. Obrigada pequena.

Aos meus pais por ter roubado tantos anos de convívio por ser minha base, meu exemplo, apoiando nossa família para conseguir cumprir nossos sonhos, e pela sua amorosa espera do nosso retorno.

À minha sogra pelas tantas orações, apoio e força para continuar.

Ao meu irmão, pela amorosa espera e pelo apoio. Obrigada

Aos meus amigos do coração Alessandra, Karine e Lucas; graças a vocês meu caminho pelo ICTA foi bem mais leve, após de chegar num momento que as minhas forças estavam acabando, e conseguiram me dar forças e motivos para continuar o caminho; pela nossa torcida pelo sucesso de todos, nossa linda amizade que Deus cuidara por sempre, pela grande ajuda nas análises e conhecimentos compartilhados, Ale, sem você não tivesse conseguido, muitíssimo obrigada pela ajuda em tanta coisa. Deus abençoe e cuide de vocês.

À Alexandre Carvalho, você foi um anjo no caminho que me ensinou bastante, me ajudou, me escutou e acompanhou em tantos momentos difíceis com as membranas. Obrigada por tua ajuda, teve um grande valor.

À Anahi, o mais bonito foi que ganhei mais do que uma colega de laboratório, obrigada pela força, pelos ensinamentos e pela grande ajuda. Te espero na Colômbia.

À Edgar e Diogo, vocês me apoiaram bastante na parte técnica com o equipamento, muito obrigada.

À Marcela por ter me guiado nos meus primeiros passos sobre membranas.

À Luiza pela ajuda e os ensinamentos.

À Julia, pelo apoio, sorrisos e grande ajuda no laboratório.

À professora Poliana pelos ensinamentos, as conversas, os materiais e a grande ajuda.

À professora Isabel, pela disposição em me auxiliar e seus ensinamentos.

À Professora Rosane, pelos tantos pedidos de ajuda.

Ao professor Eliseu pelas explicações e os ensinamentos.

Ao professor Caciano, pela oportunidade, pela orientação e pela paciência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao Brasil por ter nos acolhido como estrangeiros e oferecido grandes oportunidades que marcaram nossas vidas com importantes acontecimentos.

*Haz lo necesario para lograr
tu más ardiente deseo, y
acabarás lográndolo.*
L. van BEETHOVEN

RESUMO

O consumo da uva e seus derivados está associado com a proteção contra doenças degenerativas devido a seu conteúdo de compostos fenólicos. A casca de uva é um subproduto da produção de suco de uva e vinho, que possui um alto conteúdo de compostos fenólicos, os quais se extraídos e protegidos por encapsulamento, agregariam valor a esse produto. O objetivo deste trabalho foi separar os compostos fenólicos do extrato aquoso acidificado com ácido cítrico 2% (p/v) da casca de uva a través de ultrafiltração (UF) utilizando membranas de polietersulfona com massas molares de corte 10 e 30 kDa e posterior microencapsulação dos permeados recolhidos do processo de separação, usando como agentes encapsulantes goma arábica 15% e povidona 15%. Inicialmente, estudou-se o desempenho das membranas a diferentes pressões transmembrana de 1,0 a 3,5 bar e temperaturas de 25, 35 e 45°C, com o intuito de definir as melhores condições de separação. Para isso, foram usadas uvas variedade bordô (*Vitis labrusca*) do município de Cotiporã, Serra Gaúcha RS. As uvas foram previamente branqueadas em banho de água a 80°C por 5 minutos e posteriormente resfriadas em banho de gelo por 3 minutos. A seguir, as cascas foram separadas manualmente da polpa e colocadas numa solução acidificada com ácido cítrico 2% (p/v) na proporção 1:4 (m/v). Após 20 horas, o extrato acidificado, com pH menor que 2,8, foi filtrado com papel Whatman nº 1 e posteriormente colocado no equipamento de membranas para realizar os diferentes experimentos de UF. Os resultados indicaram que a melhor condição de separação na UF foi à temperatura de 25°C e 3,5 bar de pressão transmembrana. Os resultados mostraram que as permeabilidades hidráulicas para as membranas novas de 10 e 30 kDa foram 10,96 e 20,52 L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹, respectivamente. Durante o processo de UF do extrato, os valores de *fouling* a 25°C foram de 85,9 e 89,6% para as membranas de 10 e 30 kDa, enquanto que a recuperação, após limpeza química, foi de 63,1 e 80,9%, respectivamente. Do estudo das resistências total ao fluxo, constituída pelas resistências da membrana, do *fouling* e da polarização por concentração, a maior foi a da polarização por concentração, com porcentagens com respeito à resistência total, de 80 a 90% e de 60 a 90% para as membranas de 10 kDa e de 30 kDa, enquanto que a do *fouling* foi a menor de 1 a 3% e de 2 e 15% nas membranas de 10 e de 30 kDa. As concentrações de polifenóis totais na membrana de 10 kDa a 25°C foram de 7,84, 2,51 e 10,89 mg ácido gálico (GA)/g amostra seca, no retido, permeado e extrato, respectivamente. Com a membrana de 30 kDa os teores foram de 7,12, 1,62 e 10,66 mg ácido gálico (GA)/g amostra seca, no retido, permeado e extrato, respectivamente. Quanto aos flavonoides os teores obtidos com a membrana de 10 kDa foram 1,78, 0,63 e 2,51, enquanto que na membrana de 30 kDa foram de 1,60, 0,40 e 2,26 mg Catequinas/g amostra seca, no retido, permeado e extrato, respectivamente. O valor de capacidade antioxidante medido como ABTS para o extrato a 25°C foi de 127,80 equivalentes Trolox (TEAC) (µmol/g amostra seca), e no permeado de 9,10 e 16,41 µmol de trolox equivalente/g amostra seca para as membranas de 10kDa e 30kDa, respectivamente, evidenciando que foram separados poucos compostos com essa propriedade. O índice de correlação entre os teores dos compostos

fenólicos e de flavonoides com a capacidade antioxidante foram de 0,99 e de 0,98, respectivamente. A membrana que apresenta melhores condições para a ultrafiltração de casca de uva bordô é a membrana de 10 kDa. Para o estudo de encapsulamento foram usados os permeados de UF obtidos das membranas 10 e 30 kDa a 25°C, utilizando goma arábica 15% e povidexrose 15% como materiais encapsulantes, e posterior secagem por atomização a 140°C. As micropartículas obtidas resultaram em teores de umidade e de atividade de água menores que 3,90% e 0,18%, respectivamente. Em relação à solubilidade, todas as amostras encapsuladas foram muito solúveis, com valores na faixa de 96,8 a 99,6%. A higroscopicidade dos pós apresentou diferença significativa entre os agentes encapsulantes sendo que a povidexrose foi a mais higroscópica. Para a cor, os parâmetros a^* e b^* indicaram que as amostras possuem cores entre vermelho e o azul, e de acordo com o *Chroma* os pós obtidos com povidexrose foram mais saturados do que os pós encapsulados com goma Arábica 15%. Quanto ao parâmetro *Hue*, os resultados também indicaram que as amostras se encontram no quarto quadrante do círculo cromático de cores (entre vermelho e o azul).

Palavras chave: compostos fenólicos, flavonoides, ultrafiltração, microencapsulação

ABSTRACT

Consumption of grape and its components is associated with protection against degenerative diseases due to a high content of phenolic compounds. The grape skin is a rich source of phenolic compounds as are byproducts of grape such as grape juice and compounds found in wine made from grapes resulting in a less recognized added value to these products. Current research separates the phenolic compounds of an acidic aqueous extract with citric acid 2% (w / v) of grape skin and using ultra-filtration with poly(ether sulfone) membranes. This research material had a molecular weight cut-off of 10 and 30 kDa and subsequent micro-encapsulation of collected permeate from the separation process and used Arabic gum and polydextrose 15% as encapsulating agents. Initially the performance of the membranes was compared to different trans-membrane pressure 1,0 to 3,5 bar and temperatures of 25, 35 and 45°C, in order to define the best separation conditions. Bordo grapes (*vitis labrusca*) that were grown in the city of Cotiporã, region of Rio grande do sul, Brazil, were used for the experiments. Grapes were previously subjected to bleaching with water bath at 80°C for 5 minutes and followed by cooling in an ice bath for 3 minutes. Then the grape skin was manually separated from the pulp and acidified water solution with citric acid 2% (w / v) was added in a ratio of 1:4 (water / pulp). Additionally it was homogenized and the mixture maintained at room temperature for 20 hours. The acidified extract with a pH lower than 2.8 was filtered with Whatman No. 1 paper and placed on the membrane equipment to begin the different UF experiments. The results showed that better separation conditions in the UF was to 25°C and a trans-membrane pressure of 3.5 bar. Results showed that the hydraulic permeabilities for the new membranes of 10 and 30 kDa were 10,96 and 20,52 L.m⁻¹.bar⁻².h⁻¹, respectively. During the UF process of the extract, the *fouling* values at 25°C were 85,9 and 89.6% for the membranes 10 and 30 kDa, while recovery after chemical cleaning was 63,1 and 80,9%, respectively. It was studied total resistance (R_t) to flow constituted by the intrinsic membrane resistance (R_m), *fouling* resistance (R_f) and cake layer resistance (R_c). The maximum resistance was a cake layer resistance (R_c) with percentages compared with the total resistance of 80 to 90% and from 60 to 90% for membrane 10 kDa and 30 kDa. The *fouling* was a lowest 1 to 3% and 2 to 15% in membranes 10 and 30 kDa. The total polyphenol concentrations in the 10 kDa membrane at 25°C were 7,84, 2,51 and 10,89 mg (GA)gallic acid/g dry sample, in the retentate, permeate and extract, respectively. With the membrane of 30 kDa, contents were 7,12, 1,62 and 10,66 mg gallic acid (GA)/g dry sample, in the retentate, permeate and extract respectively. Flavonoid contents obtained with the 10 kDa membrane were 1,78, 0,63 and 2,51, and the membrane 30 kDa were 1,60, 0,40 and 2,26 Catechins mg / g sample dry, in the retentate, permeate and extract respectively. The amount of antioxidant capacity measured as ABTS to the extract at 25°C was 127,80 Trolox equivalent (TEAC) (µmol/g dry sample) and permeate of 9,10 and 16,41 Trolox equivalent (TEAC) (µmol/g dry sample) for

membranes of 10 and 30 kDa respectively, showing that a few compounds were separated with this property. The correlation index between levels of flavonoids and phenolic compounds with antioxidant capacity were 0,99 and 0,98, respectively. The membrane that presents the best conditions for the ultrafiltration of the grape skin extract is 10 kDa membrane. The encapsulation study used the UF permeates obtained from the membrane process of 10 and 30 kDa to 25°C, using Arabic gum and polydextrose 15% as encapsulating agent and subsequent spray drying process at 140°C. The micro-particles obtained resulted in moisture content and lower water activity to 3.90% and 0.18, respectively. With regard to solubility, all of the encapsulated samples were very soluble, with values ranging from 96.8 to 99.6%. Hygroscopicity of powders showed significant difference between agents encapsulants and the polydextrose was the most hygroscopic. For color, parameters a^* and b^* indicate that the samples have color between red and blue, in accordance with the Chroma. Powders obtained with polydextrose have been more saturated than powders encapsulated with Arabic gum 15%. As for Hue parameter, the results also indicated that the samples are in the fourth quadrant of the circle chromatic color (from red to blue).

Keywords: phenolics compounds, flavonoids, ultra-filtration, microencapsulation

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	8
ABSTRACT	10
SUMARIO	12
RELAÇÃO DE TABELAS	15
RELAÇÃO DE FIGURAS	16
INTRODUÇÃO.....	18
1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	24
1.1 UVA	24
1.2 COMPOSTOS FENOLICOS.....	26
1.2.1 Flavonoides	27
1.2.2 Não Flavonoides	29
1.2.3 Compostos fenólicos presentes na uva	30
1.3 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS.....	31
1.3.1 Fenômenos que limitam o fluxo de permeado	33
1.4 MICROENCAPSULAÇÃO POR ATOMIZAÇÃO	35
1.5 MATERIAL DE PAREDE	37
1.5.1 Goma Arábica	38
1.5.2 Polidextrose	39
2. OBJETIVOS	40
2.1 OBJETIVO GERAL.....	40
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
3. MATERIAIS E METODOS.....	41
3.1 Local de execução	41
3.2 Matéria Prima	41
3.3 Procedimento experimental de extrato da casca de uva Bordô	41
3.4 Processo de Ultrafiltração	41
3.4.1 Procedimento experimental	43
3.4.1.1 Compactação das membranas de ultra filtração	43

3.4.1.2 Permeabilidade das membranas	44
3.4.1.3 Estudo do comportamento de fluxo a diferentes temperaturas e diferentes pressões transmembrana	45
3.4.1.4 Determinação de fouling e eficiência química	46
3.4.1.5 Análises das resistências	47
3.5. Encapsulamento por atomização	48
3.6. Análises físicas e químicas	49
3.6.1 Viscosidade	50
3.6.2 Teor de polifenóis totais	50
3.6.3 Teor de flavonoides	50
3.6.4 Determinação de capacidade antioxidante ABTS	51
3.6.5 Medição de cor	52
3.6.6 Determinação atividade de água	52
3.6.7 Determinação de umidade	52
3.6.8 Determinação de solubilidade	53
3.6.9 Determinação de higroscopicidade	53
3.7. Análises estatísticas	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1. Processo de Ultra filtração	54
4.1.1 Compactação das membranas de UF	54
4.1.2 Permeabilidade das membranas de UF	55
4.1.3 Estudo de comportamento de fluxo do extrato a diferentes pressões	56
4.1.4 Estudo do comportamento de fluxo do extrato a diferentes temperaturas	61
4.1.5 Determinação de fouling e eficiência da limpeza química	64
4.1.6 Análise das resistências ao fluxo durante UF do extrato de casca de uva Bordô	69
4.1.7 Análises físicoquímica de extratos, retidos e permeados dos processos de ultrafiltração	75
4.1.7.1 Viscosidade	75
4.1.7.2 Conteúdo de polifenóis totais	77
4.1.7.3 Conteúdo de flavonoides	79

4.1.7.4 Fator de concentração volumétrica e retenção observada	82
4.1.7.5 Capacidade Antioxidante ABTS	83
4.2. Microencapsulação de permeado do processo de UF	85
4.2.1. Análises físicas	85
4.2.2. Colorimetria	87
5. CONCLUSÕES.....	89
6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS	91
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
8. ANEXOS.....	105
ANEXO A – PROTOCOLO DE LIMPEZA DAS MEMBRANAS	105
ANEXO B –Curva de calibração de flavonoides	107
ANEXO C – Curva de calibração de polifenóis totais.....	108
ANEXO D – Curva de calibração de trolox	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores calculados de <i>Fouling</i> (%) e de recuperação (%) da membrana a diferentes temperaturas	67
Tabela 2. Contribuição de cada resistência com respeito à resistência total nas membranas de 10 e 30 kDa a 25 °C (velocidade tangencial de 0,54 m.s ⁻¹ , e vazão de 125 L.h ⁻¹)	71
Tabela 3. pH de amostras de extrato de casca de uva Bordô em cada etapa da ultrafiltração com diferentes membranas.....	72
Tabela 4. Retenção observada de flavonoides e polifenóis totais expresos em percentagem (%)	82
Tabela 5. Análises das microcápsulas obtidas do processo de secagem por atomização.....	86
Tabela 6. Parâmetros de cor CIELab, nas amostras encapsuladas do permeado do extrato de uva obtido das membranas de 10 e 30 kDa.	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Foto da cultivar bordô (<i>vitis labrusca</i>)	25
Figura 2. Estrutura genérica das moléculas dos flavonoides.....	27
Figura 3. Estrutura genérica das maiores classes dos flavonoides	27
Figura 4. Estrutura química de alguns compostos fenólicos das uvas	31
Figura 5. Esquema ilustrativo da filtração convencional e tangencial.....	32
Figura 6. Seletividade de membranas	33
Figura 7. Esquema de secagem por atomização.....	37
Figura 8. Equipamento de UF	43
Figura 9. Equipamento de secagem por atomização usado neste trabalho	49
Figura 10. Fluxo de permeado de água em função da compactação das membranas de 10 e 30 kDa a 4,0 bar e 25°C	55
Figura 11. Fluxo de permeado de água em função da pressão transmembrana (bar) a 25°C	56
Figura 12. Fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô em função do tempo, em diferentes pressões, a 25°C e velocidade tangencial de 0,54 m.s ⁻¹ , na membrana de 10 kDa	58
Figura 13. Fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô em função do tempo, em diferentes pressões, a 25°C e velocidade tangencial de 0,54 m.s ⁻¹ , na membrana de 30 kDa	58
Figura 14. Efeito da pressão no fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô no estado estacionário a 25°C nas membranas de 10 e 30 kDa.	60
Figura 15. Efeito da temperatura no fluxo do permeado do extrato de casca de uva na membrana de 10 kDa a 3,5 bar.	62
Figura 16. Efeito da temperatura no fluxo do permeado do extrato de casca de uva na membrana de 30 kDa a 3,5 bar.	63
Figura 17. Fluxo de permeado em função da pressão, na membrana de 10 kDa, após UF do extrato (o) e após da limpeza química (▼) a 25°C.	65

Figura 18. Fluxo de permeado em função da pressão, na membrana de 30 kDa, após UF do extrato (o) e após da limpeza química (▼) a 25°C.	66
Figura 19. Influência da pressão transmembrana sobre as resistências total (R_t), membrana (R_m), <i>fouling</i> (R_f), e polarização por concentração (R_c) na membrana de 10 kDa a 25°C.....	69
Figura 20. Influência da pressão transmembrana sobre as resistências total (R_t), membrana (R_m), <i>fouling</i> (R_f), e polarização por concentração (R_c) na membrana de 30 kDa a 25°C.....	70
Figura 21. Efeito da Temperatura sobre as resistências as resistências total (R_t), membrana (R_m), <i>fouling</i> (R_f), e polarização por concentração (R_c) na Membrana de 10 kDa a 3,5 bar	74
Figura 22. Efeito da Temperatura sobre as resistências as resistências total (R_t), membrana (R_m), <i>fouling</i> (R_f), e polarização por concentração (R_c) na Membrana de 30 kDa a 3,5 bar.	74
Figura 23. Viscosidades (mPa.s) no extrato, retido e permeado na separação por UF na membrana de 10 kDa a 25, 35 e 45°C.....	75
Figura 24. Viscosidade (mPa.s) no extrato, retido e permeado na separação por UF na membrana de 30 kDa a 25, 35 e 45°C.....	76
Figura 25. Resultados concentração de polifenóis (mg GA/g) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 10 kDa.	77
Figura 26. Resultados concentração de polifenóis (mg GA/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 30 kDa	78
Figura 27. Concentração de flavonoides (mg CAT/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 10 kDa.	80
Figura 28. Concentração de flavonoides (mg CAT/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 30 kDa.	81
Figura 29. Medição da capacidade antioxidante pelo método ABTS para o extrato e permeados das membranas de 10 e 30 kD (atividade antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) ($\mu\text{mol/g}$ de amostra).....	83

INTRODUÇÃO

As tendências atuais dos consumidores estão voltadas em escolher os alimentos prestando atenção em produtos preferencialmente naturais, que aportem propriedades funcionais para a promoção da saúde e prevenção de doenças.

A ingestão de legumes e frutas está associada com a diminuição do risco de muitas doenças crônicas, tais como cardiovasculares e câncer (Block et al., 1992; Duthie et al., 2000 e Leifert, 2008). Antioxidantes naturais presentes em vegetais e frutas, como vitaminas e polifenóis, são considerados responsáveis por esses benefícios para a saúde (Bartosz, 1997; Leja et al., 1996).

Atualmente, um dos desafios da indústria e pesquisadores é inovar e desenvolver alimentos funcionais que contenham na sua composição compostos biologicamente ativos, que ao serem incorporadas em uma dieta, desencadeie processos metabólicos ou fisiológicos que resultem na redução do risco de doenças e manutenção da saúde (Anjo, 2004).

Os compostos bioativos contidos nas matérias primas e sub produtos gerados nas indústrias de alimentos, podem ser separados e isolados por métodos de extração, filtração por membranas e microencapsulação que preservem a sua atividade e biodisponibilidade.

Um estudo da agência de pesquisa em mercado internacional (Euromonitor, 2015) os produtos fortificados e funcionais tem um forte crescimento anual a nível mundial de 5% em relação a 2012-2013, e também no Brasil vem crescendo nos últimos anos. Da mesma forma, segundo Euromonitor, 2015 no Brasil o mercado de nutrientes e bebidas ligados à saúde e ao bem-estar cresceu 82% entre 2004 e 2009, enquanto que dos alimentos diet & light e funcionais representou cerca de 6% da produção nacional da indústria de alimentação.

As reações de oxidação fazem parte da vida aeróbica e de nosso metabolismo e, como consequência os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (Barreiros et al., 2006). O excesso de radicais

livres no organismo, cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, participa de diversas reações, tais como a peroxidação dos lipídios da membrana celular, e ataque às proteínas, enzimas, carboidratos, DNA e membranas (Husain et al.,1987). Essas reações podem desencadear diversas patologias, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas e câncer, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (Halliwell et al.,1989).

Antioxidantes são compostos químicos com capacidade de reagir com os radicais livres e assim restringir seus efeitos adversos ao organismo. São substâncias que retardam a velocidade de oxidação, através de um ou mais mecanismos, como inibição de radicais livres e complexação de metais (Pietta, 2000). Assim, os possíveis mecanismos antioxidantes são: alteração de produção de radicais, eliminação de precursores de radicais, quelação de metais e elevação dos níveis de antioxidantes endógenos (Pimentel et al., 2005).

Os polifenóis estão relacionados com diversos benefícios para a saúde, tais como atividade antioxidante, antimutagênica, anticarcinogênica, antiproliferativa ou anti-estrogênica (Boyer e Liu, 2004).

A uva é uma fruta rica em compostos fenólicos que são principalmente distribuídos na casca, hastes, folhas e sementes (Makris et al., 2008). As uvas e seus produtos industrializados são amplamente consumidos e apresentam altas concentrações de compostos fenólicos, que são os principais responsáveis pela atividade antioxidante das frutas (Li et al., 2011).

Em 2013, a safra brasileira de uva foi de aproximadamente 1,3 milhão de toneladas, das quais 836 mil foram destinadas ao processamento, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2014) sendo que o estado do Rio Grande do Sul produz o 95% da uva do Brasil (Mello, 2013).

Os principais subprodutos da vinificação e do suco são obtidos durante as etapas de esmagamento e prensagem das uvas, sendo que o bagaço pode aproveitado e valorizado na geração de novos produtos (Torres et al., 2009).

No Rio Grande do Sul em 2011, das 709,7 mil toneladas de uvas produzidas, 20-25% foram resíduos contidos no bagaço (sementes, casca, polpa e

engajo), os quais podem ser usados na separação de compostos bioativos contidos neles, tais como antocianinas, flavonóis, estilbenos (resveratrol), ácidos fenólicos e taninos (Mello, 2014).

Considerando a importância dos compostos fenólicos como potenciais antioxidantes e, sua presença nos subprodutos da indústria dos sucos e vinhos de uva, resulta importante a sua separação através do processo de Ultrafiltração (UF).

Entre as vantagens de usar UF podemos citar a possibilidade de eliminação da etapa de clarificação convencional, pelo fato de não requerer a utilização de calor, não existir mudança de fase ou de pH, e evitar o uso de agentes químicos (Rezzadori, 2010). Assim, a separação envolvendo compostos termolábeis são favorecidas, preservando as propriedades organolépticas e nutricionais do produto fresco, importantes para a qualidade final do produto (Carneiro et al., 2002; Cassano et al., 2007). Além disso, os processos de separação por membranas são sistemas compactos e de fácil ampliação de escala, apresentando a possibilidade de emprego em sistemas contínuos e podem ser combinados com outros processos de separação (Kelly et al., 2000).

Um método industrial para proteger os compostos bioativos isolados é a microencapsulação, na qual ocorre a formação de partículas em tamanhos micro ou nano, onde um ingrediente ativo é coberto por uma fina camada de outro material, que possibilita o isolamento e a manutenção de suas propriedades (Almond et al., 2003).

Entre as vantagens da microencapsulação de componentes bioativos estão a capacidade de reduzir a reatividade e a taxa de evaporação do material de recheio para o ambiente externo, promover a liberação controlada, facilitar uma dissolução homogênea do material encapsulado em uma formulação alimentícia, mascarar o sabor (Wilson; Shah, 2007).

Um das técnicas mais utilizadas para o processo de microencapsulação na indústria alimentícia é o “*spray drying*” ou atomização onde uma emulsão é convertida em um produto seco em pó depois de um período

relativamente curto de secagem, com uma rápida evaporação da água em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente (Ré et al, 1998).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi separação por ultrafiltração e microencapsulamento por atomização dos compostos fenólicos presentes na casca de uva Bordô (*Vitis labrusca*).

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Uva

As primeiras variedades de uva foram introduzidas no Brasil pelos portugueses no ano 1532. Eram uvas finas (*Vitis vinifera*), cultivadas na Europa e selecionadas com base em informações e experiência pessoal dos vitivinicultores europeus (Mello, 2012). A viticultura brasileira, porém, somente se consolidou em meados do século XIX, com a introdução do cultivar de uva americana Isabel (*Vitis labrusca*) pelos imigrantes italianos, culminando na rápida substituição dos vinhedos de uvas europeias (Mello, 2012).

A produção de uvas no Brasil se divide em dois grandes grupos: um formado pelas uvas européias ou finas (*Vitis vinifera*) destinada para produção de vinhos finos (Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, entre outras) ou de mesa (Itália, Rubi, Brasil, e outros), e um outro grupo que engloba as uvas comuns ou americanas (*Vitis labrusca* ou híbridas) as quais são destinadas para produção de vinhos de mesa, sucos e derivados e para o consumo *in natura* (Bordô, Isabel, Concord, Niágara, Moscato, entre outras) (Camargo et al., 2007).

A produção brasileira de suco de uva está concentrada no estado do Rio Grande do Sul, mas observa-se, em anos recentes, uma forte tendência de expansão para regiões tropicais como Mato Grosso, Goiás e Vale do Rio São Francisco (Hoffman, 2005).

No cenário internacional, a vitivinicultura brasileira ocupou em 2009 o 19º lugar em área cultivada com uvas e o 14º em produção, segundo dados da FAO (2009). O Rio Grande do Sul, produz o 95% da uva do Brasil (Mello, 2014). Neste mesmo estado, em 2014 a produção de vinhos, sucos e derivados foi de 507,84 milhões de litros, 2,60% superior à verificada em 2013 (Mello, 2015)

Uva Bordô

A Uva Bordô (Figura 1) é uma variedade de *Vitis labrusca*, originalmente chamada de *Ives Seedling* ou simplesmente Ives, obtida em Cincinnati, EUA, por Henry Ives, a partir de sementes de Hartford Prolific (Souza e Martins, 2002).



Figura 1. Foto da cultivar Bordô.
Fonte: Embrapa, 2006

A cultivar Bordô é uma das principais videiras de *Vitis*. Na década de 1850 despertou interesse dos viticultores europeus devido à resistência ao oídio (*Uncinula necator*), doença que naquela época causava enorme prejuízo à viticultura mundial (Grigoletti e Sônego, 1993). Foi introduzida no Rio Grande do Sul em 1839 com o nome de 'Ives'. Sua expansão deu-se devido à fácil adaptação à variabilidade de condições edafoclimáticas, à boa produtividade e longevidade e relativa rusticidade (Zanuz, 1991; Camargo, 1994). Entre as cultivares de *Vitis labrusca*, a Bordô é uma das principais variedades no Brasil para produção de vinho tinto de mesa, suco, vinagre, geleias e, por sua precocidade, é consumida *in natura* (Rizzon et al., 2000).

Essa cultivar no Brasil é conhecida por nomes regionais, assim por exemplo Bordô no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, 'Terci' no Paraná, 'Folha de Figo' em Minas Gerais (Giovannini, 2008), tem importância comercial só em regiões com inverno definido, apresentando grande dificuldade de desenvolvimento em climas tropicais. Assim, a recomendação de cultivo está restrita aos polos do sul

de Minas Gerais e norte do Paraná, além dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. (Hoffman et al., 2005)

É uma cultivar muito rústica e resistente a doenças fúngicas, normalmente plantada de pé-franco. A uva apresenta alta concentração de matéria corante, motivo principal de sua significativa difusão. É muito procurada pelos vinicultores e indústrias, devido ao elevado teor de matéria corante do vinho e é usada em cortes com os vinhos pouco coloridos de Isabel, corrigindo a coloração de sucos elaborados com Isabel e Concord (Embrapa, 2007).

Segundo Giovannini (1999), a Bordô apresenta uma produtividade de 15 a 20 ton/ha, com teores de açúcar de 14 a 15°Brix. Carvalho (1972) considera como elemento de qualificação para a obtenção de um bom suco de uva, as relações de sólidos, acidez total, frutose e glicose, bem como os teores combinados de taninos, ésteres voláteis totais, antranilato de metila, potássio e cor. A Bordô é considerada como apta à elaboração de suco, principalmente se cortada com Isabel e/ou Concord, geralmente com coloração e acidez pouco pronunciadas (Carvalho, 1972).

Mansur et al. (2010) relataram no suco de uva Bordô orgânica os seguintes compostos: trans-resveratrol ($3,95 \pm 1,0$ mg/L), quercetina ($8,95 \pm 0,09$ mg/L), rutina (quercetina-3-rutinosídeo) ($3,75 \pm 0,03$ mg/L), ácido gálico ($81,07 \pm 2,03$ mg/l), ácido cafeico ($30,28 \pm 2,0$ mg/L) e flavonóides totais ($0,249 \pm 0,002$ mg/L). Quanto à capacidade antioxidante in vitro por meio do método DPPH, Dani et al. (2007) reportaram que os sucos das variedades Bordô apresentaram maior capacidade antioxidante do que os sucos do tipo branco (Niágara).

1.2. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (Lee et al., 2005). Os compostos fenólicos de maior ocorrência natural apresentam-se conjugados com mono e polissacarídeos, através de um ou mais grupos fenólicos, e podem também ocorrer como derivados funcionais, como

ésteres e metil ésteres (Vermerris et al., 2008). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende de sua estrutura, particularmente do número e posição dos grupos hidroxila, e da natureza das substituições nos anéis aromáticos (Balasundram et al., 2006).

Os polifenóis são divididos de acordo com o número de anéis fenólicos que eles contêm e os elementos estruturais que ligam esses anéis uns aos outros. Os grupos de polifenóis são os flavonóides e não flavonóides (D' Archivio et al., 2007).

1.2.1. Flavonóides

Os Flavonóides (Figura 2), dependendo do estado de oxidação do anel de pirano central, são agrupados em: antocianinas, flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonóis e flavanois (Figura 3).

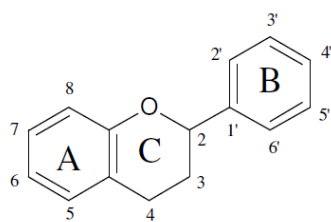


Figura 2. Estrutura genérica das moléculas dos flavonóides.
Fonte: Tsao, et al. (2009)

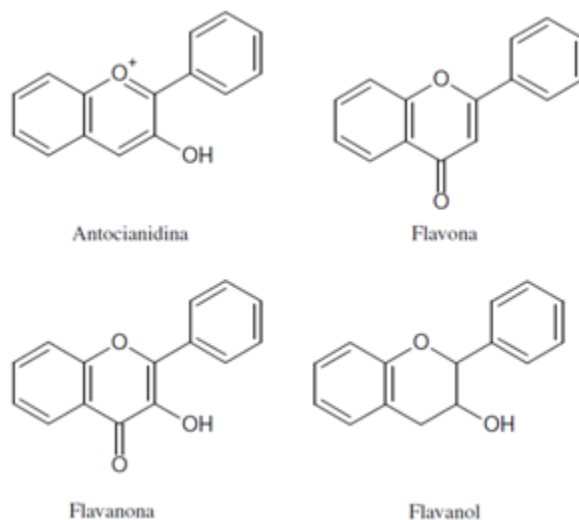


Figura 3. Estrutura genérica das maiores classes dos flavonóides.
Fonte: Tsao et al. (2009).

As antocianinas são pigmentos vacuolares solúveis em água que podem aparecer de cor vermelha, roxa ou azul, dependendo do pH (Ignat, 2011). Presentes em todos os tecidos vegetais, incluindo as folhas, talos, raízes, flores e frutas. As antocianinas isoladas são altamente instáveis e muito susceptíveis de degradação (Giusti et al., 2003). A sua estabilidade é afetada por vários fatores tais como pH, temperatura de armazenagem, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes, presença de enzimas, flavonóides, proteínas e íons metálicos (Castaneda-Ovando et al., 2009). As antocianinas, bem como outros compostos fenólicos, podem atuar como antioxidantes ao doar hidrogênio para radicais altamente reativos, impedindo assim a continuação da formação de radicais (Iversen, 1999).

As Flavonas são os flavonóides menos comuns, beterraba, pimentão, couve de Bruxelas, repolho, couve-flor, aipo, cebolinha, couve, alface, espinafre, pimentão, tomate, agrião representam importantes fontes de flavonas (Tsao et al, 2009). A casca de frutos contém grandes quantidades de flavonas polimetoxiladas, assim por exemplo na pele de tangerina (D'Archivio, 2007).

As Isoflavonas estão contidas quase exclusivamente em plantas leguminosas. A soja e seus derivados representam a principal fonte de isoflavonas, e contém as três principais moléculas (genisteína, daidzeína e gliciteína) que atuam como agliconas ou, mais frequentemente, como formas de glicose-conjugada. São sensíveis ao calor e são muitas vezes hidrolisadas para glicósídeos durante o processamento e armazenamento industrial, tal como a produção de leite de soja (Cortell, 2006).

As Flavanonas estão presentes em concentrações elevadas em cítricos, mas eles também são encontrados em tomates e certas plantas aromáticas, tais como hortelã (Tsao et al, 2009).

Dos Flavonóis, a quercetina é o composto mais representativo. Estão presentes em cebolas, couve, alho-poró, brócolis, mirtilo, chá e vinho tinto (D'Archivio, 2007). É importante mencionar que a biossíntese dos flavonóis é

estimulada pela luz, de forma que estes se acumulem no tecido exterior e aéreo de frutas (Eisen et al., 2003).

Entre os flavanóis se destacam pela sua presença nos frutos a catequina e epicatequina (Arts et al., 2001; Arts et al., 2000). As catequinas são encontradas em frutas, como damascos e cereja, também em vinho tinto, chá verde e chocolate. As proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados, são dímeros, oligômeros ou polímeros de catequinas, os quais são os responsáveis pelo caráter adstringente de frutas e bebidas e da amargura do chocolate (Rasmussen et al., 2005). É importante notar que esta adstringência muda ao longo da maturação, e muitas vezes desaparece quando o fruto atinge a maturação.

1.2.2. Não Flavonóides

Os não flavonoides são agrupados em ácidos fenólicos, hidroxicinamatos e estilbenos.

Os ácidos Fenólicos, podem ser divididos em derivados do ácido benzóico e derivados de ácido cinâmico, e constituem cerca de um terço dos fenóis dietéticos que podem estar presentes nas plantas em formas livres e conjugadas (Robbins, 2003). Os ácidos hidroxibenzóicos incluem o gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, ácidos vanílico e siringico, os quais têm em comum a estrutura (C6-C1) (Balasundram et al., 2006).

Os ácidos hidroxicinâmicos, por outro lado, são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três carbonos (C3-C6), tais como o cafeico, ferúlico, cumárico e p-ácidos sinápico (Bravo, 1998; Ignat et al., 2011).

Nos estilbenos, o principal representante é o resveratrol, que existe em ambas as formas cis e trans isoméricas, principalmente em formas glicosiladas (Gresele et al., 2011). É produzido por plantas em resposta a infecção por patógenos (Delmas, 2006) ou em condições de stress (Bavaresco, 2003). Está presente em mais de 70 espécies de plantas, incluindo as uvas e amendoins (Hemingway, 1981).

A casca fresca das uvas vermelhas é particularmente rico em resveratrol (50-100 μg de resveratrol/g de peso úmido (Baliga, 2005), o que contribui para uma concentração relativamente elevada de resveratrol no vinho tinto e suco de uva (Berletti, 1998; Bhat e Pezzuto, 2002).

1.2.3. Compostos fenólicos presentes na uva

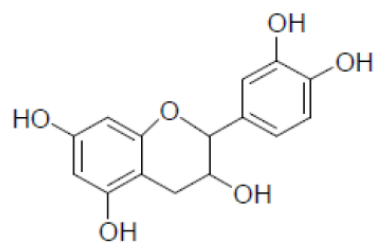
Entre as frutas, a uva é uma das maiores fontes de compostos fenólicos. Sendo que os principais são os flavonóides (antocianinas, flavanóis e flavonóis), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos) e uma larga variedade de taninos (Francis, 2000).

Os flavonóides estão distribuídos na uva, especialmente em sementes e hastes, e principalmente contem (+)-catequinas, (-)-epicatequinas e polímeros de procianidinas (Cabrita, 2003).

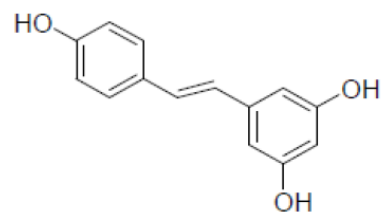
Na casca da uva estão presentes as proantocianidinas, ácido elágico, mircetina, quercetina, campferol e trans-resveratrol (Pastrana-Bonilla, 2003).

O teor de compostos fenólicos totais da casca da uva varia com a cultivar, composição do solo, clima, origem geográfica, e práticas de cultivo ou exposição a doenças, tais como infecções fúngicas (Bruno e Sparapano, 2007).

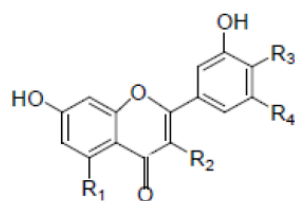
Na Figura 4 estão representadas estruturas químicas de alguns compostos fenólicos presentes na uva.



Catequina

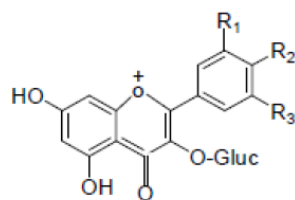


Resveratrol



Flavonois

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Quercetina	OH	OH	OH	-
Rutina	OH	O. Rutinosa	OH	-
Morina	OH	OH	-	OH
Mircetina	OH	OH	OH	OH
Fisetina	OH	OH	OH	-



Antocianinas

	R ₁	R ₂	R ₃
Peonidina-3-O-glucósido	OCH ₃	OH	-
Petunidina-3-O-glucósido	OH	OH	OCH ₃
Malvidina-3-O-glucósido	OCH ₃	OH	OCH ₃
Cianidina-3-O-glucósido	OH	OH	-
Delfinidina-3-O-glucósido	OH	OH	OH

Figura 4. Estrutura química de alguns compostos fenólicos nas uvas
 FONTE: Xia et al. (2010)

1.3. Processos de separação por membranas

O processo de filtração por membrana consiste em bombear uma solução (de alimentação) sob pressão sobre a superfície filtrante denominada de membrana que possui natureza química e configuração física apropriada (Cheryan, 1986). Da filtração se obtém dois fluxos, o retido ou concentrado e o que passa através da membrana, denominada de permeado (Cheryan, 1986).

Os métodos de filtração utilizados nos processos de separação com membranas são: a convencional quando um fluido escoia perpendicular a superfície da membrana (Figura 5a), apresentando um rápido acúmulo de componentes do líquido sobre a membrana, favorecendo o fenômeno chamado de polarização por concentração (James et al., 2003) o que resulta numa diminuição considerável do fluxo de permeado e exige frequentes paradas no processamento para limpeza ou troca do filtro (Dziezak, 1990).

A filtração tangencial (Figura 5b) ocorre quando o escoamento do fluido é paralelo à superfície da membrana e altas velocidades possibilitam o arraste dos solutos que tendem a se acumular na superfície (Cheryan, 1986; James et al., 2003).

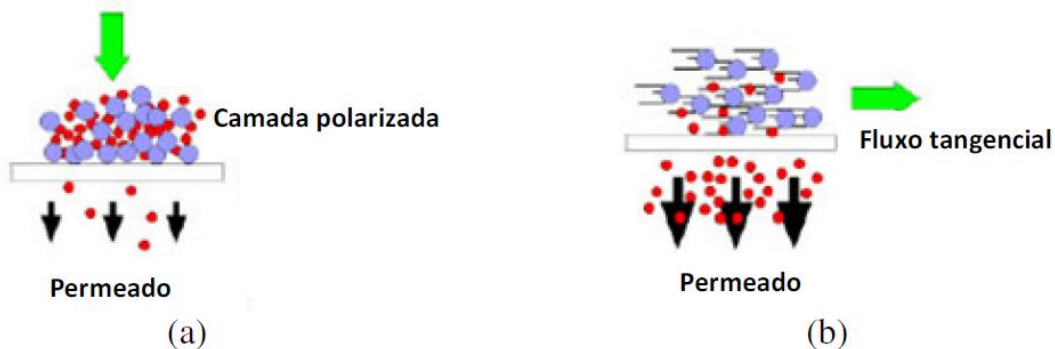


Figura 5. Esquema ilustrativo da filtração convencional (a) e tangencial (b).
 FONTE: DBD Filtros (2013)

O aumento do fluxo de permeado através da membrana é conseguido pela aplicação de pressões mais elevadas sobre a membrana, menor pressão osmótica na alimentação ou uma membrana mais permeável (Cheryan, 1986).

A microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e a osmose reversa (OI) (Figura 6) são os processos de separação por membranas mais utilizados na indústria de alimentos e apresentam, nesta sequência, a diminuição do poro (Ostergaard, 1989). A medida que se diminui o diâmetro médio dos poros das membranas tem-se o aumento da pressão que é de 0,2 a 3,45 bar para a MF; 0,5 a 5 bar para a UF; 1,5 a 40 bar para a NF; e de 20 a 100 bar para a OI (Teixeira, 2001).

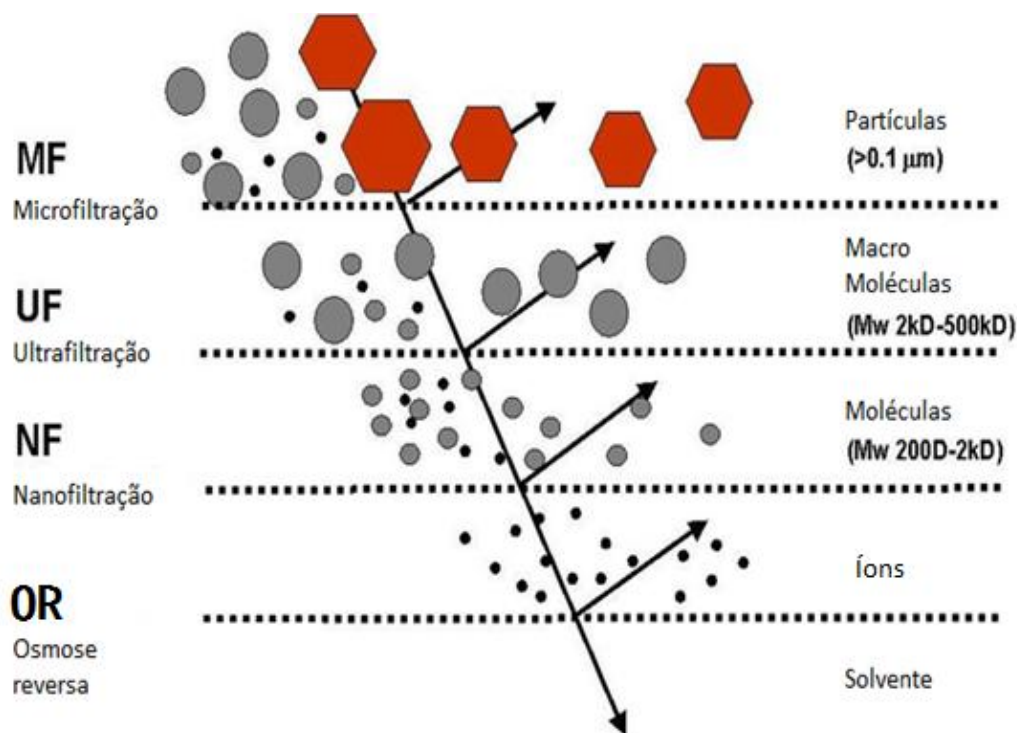


Figura 6. Seletividade de membranas
FONTE: Prozesstechnik (2013)

As membranas são classificadas de acordo com mecanismo de separação, geometria e composição da membrana, e podem ser dispostas em muitas formas a fim de oferecer diversas opções para a separação.

Os Processos de separação por membranas empregam membranas em diferentes tipos de módulos baseados em duas configurações: plana (usada neste trabalho) e tubular. Os módulos de placa e quadro e espiral envolvem membranas

planas, enquanto os módulos, tubular, capilar e de fibras ocas são baseados na configuração de membranas tubulares (Cheryan,1986).

1.3.1. Fenômenos que limitam o fluxo permeado

Três fenômenos são conhecidos por limitarem o fluxo de permeado: polarização por concentração, camada gel polarizada e *fouling*. Todos esses fatores induzem a resistências adicionais no transporte através da membrana.

Polarização por concentração

Consiste no acúmulo de soluto próximo ou sobre a superfície da membrana. Os solutos são conduzidos a superfície da membrana por meio de transporte convectivo, onde os solutos maiores que a massa nominal de corte da membrana são retidos pela membrana, enquanto que solutos menores do que os poros permeiam livremente ou parcialmente a través da membrana (Cheryan, 1986).

Os solutos que não passam pela membrana vão se acumulando sobre a superfície causando um incremento da resistência ao transporte de solvente ou um acréscimo na pressão osmótica local, que pode fazer com que decresça o fluxo ou a possibilidade de mudança nas características de permeabilidade da membrana (Cheryan, 1986).

Fouling

Fenômeno no qual a membrana adsorve ou interatua com solutos da corrente da solução de alimentação, resultando na deposição e acúmulo de sólidos na superfície das membranas ou interior dos poros diminuindo o fluxo de permeado e/ou incrementando a rejeição dos solutos na membrana isso é usualmente um fenômeno irreversível e dependente do tempo (Cheryan,1986).

Enquanto que os efeitos da polarização por concentração são afetados pelos parâmetros de operação, tais como velocidade, pressão, temperatura e concentração da alimentação, o *fouling* é dependente do tempo e também parcialmente dependente da concentração (Cheryan, 1986). Os efeitos do *fouling*

normalmente só podem ser compensados ao desligar o sistema e realizar a limpeza da membrana por meios químicos (Cheryan, 1986). A mais efetiva forma de minimizar o *fouling* é no pré-tratamento da solução de alimentação e na manipulação das condições de operação tais como temperatura, pressão e velocidade de alimentação (Cheryan, 1986).

Camada gel polarizada

A formação da camada gel é causada pelos coloides e as macromoléculas acumulados próximos da membrana, que quando atingem uma concentração crítica, geram uma grande resistência ao transporte; e para melhorar o transporte, a espessura desta camada limite deve ser reduzida através do aumento da velocidade tangencial (Cheryan, 1986), resultando em aumento na turbulência da solução junto à membrana, diminuindo assim os efeitos adversos da zona de polarização e controlando a formação da zona de polarização e a espessura da camada de gel (Mello et al., 2015).

1.4. Microencapsulação por atomização

A microencapsulação é um processo definido como tecnologia de “empacotamento” de materiais ativos na forma de sólidos, líquidos ou até mesmo gasosos, no qual ocorre a formação de partículas em tamanhos micros, onde um ingrediente ativo é coberto por uma fina camada de outro material, que possibilita o isolamento e a manutenção das características ideais de uma substância e com isso, protege o ativo de meios adversos, estabilizando o produto e aumentando sua vida útil (Almond et al, 2003). Posteriormente, o material ativo pode ser liberado ativo sob condições específicas e sob taxas controladas (Gibbs, 1999).

Gharsallaoui et al. (2007) definem esta técnica como um processo em que pequenas partículas ou gotículas são cercadas por um revestimento ou são incorporados à uma matriz homogênea ou heterogênea para se obter pequenas cápsulas. Os agentes encapsulantes usualmente empregados na

microencapsulação são hidrocolóides de goma vegetal, gelatina, amidos modificados, dextrinas, lipídeos, emulsificantes, carboidratos, entre outros (Constant e Stringheta, 2002). No processo de microencapsulação as micropartículas formadas podem ter a forma de microcápsulas ou microesferas (Madene et al., 2006). As microcápsulas são partículas constituídas por um núcleo interior, que contém a substância ativa, e que é coberto com uma camada de polímero constituindo assim a membrana da cápsula (Madene et al, 2006). As microesferas são sistemas tipo matriz, onde o material a encapsular é uniformemente disperso e/ou dissolvido na rede do polímero.

As micropartículas seladas podem liberar seus conteúdos a taxas controladas, podendo os mecanismos de liberação serem controlados pela mudança de temperatura, umidade, pH, aplicação de pressão ou de cisalhamento e adição de surfactantes (Favaro et al., 2008).

Entre as técnicas de microencapsulação utilizadas se encontram a secagem por pulverização, liofilização, extrusão e coacervação (Azeredo, 2005).

Para o processo de microencapsulação por atomização é preparada previamente uma emulsão dos compostos a encapsular e do material de parede, e a seguir atomizado pela pulverização de gotículas mediante bombeamento da emulsão através de um disco rotativo ou bico dispersor e colocado dentro de uma câmara aquecida por ar, onde a água da emulsão é evaporada produzindo partículas em pó (Shu et al., 2006). Uma característica importante é que os tempos de residência das partículas expostas ao calor são curtos (geralmente poucos segundos), e a temperatura do núcleo não ultrapassa os 100 °C, o que reduz a ocorrência de alterações indesejáveis em compostos termos sensíveis (Dziedzic, 1988).

Estudos tem mostrado que a estabilidade e tempo de vida dos polifenóis durante armazenamento e sua proteção contra degradação oxidativa pode ser aumentada pelo uso da técnica de encapsulação por spray dryer (Blackwell, 2014). No entanto, o rendimento da encapsulação, a eficiência e a proteção da atividade antioxidante dos polifenóis encapsulados é afetada por vários fatores, incluindo o tipo e composição dos materiais de parede, o tamanho da partícula, a

concentração de alimentação e a temperatura de entrada e saída do ar de secagem no atomizador (Blackwell, 2014).

O conjunto que compõe um equipamento do tipo “spray dryer” ou atomizador padrão (Figura 7) é constituído de: 1) Sistema de bombeamento e controle de vazão da alimentação de material a ser seco; 2) Sistema da alimentação de ar para secagem; 3) Sistema de atomização do material; 4) Câmara de secagem; 5) Sistema de separação ar - pó seco (ciclone); 6) Saída de Ar; 7) Saída de Produto (pó seco).

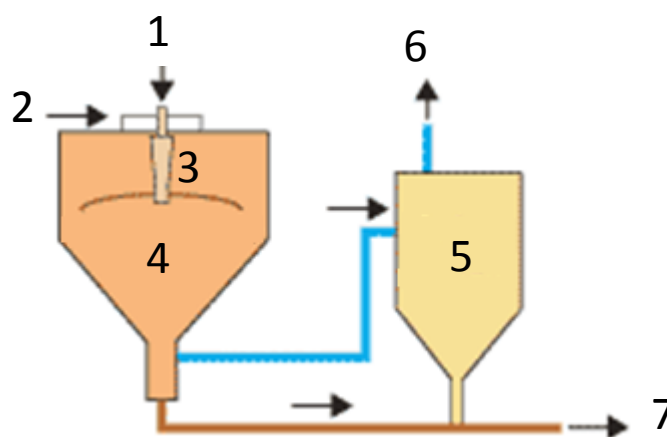


Figura 7. Esquema de secagem por atomização
FONTE: Eurotherm (2014)

1.5. Material de parede

Um dos principais fatores que influenciam na estabilidade de compostos encapsulados é a natureza do material encapsulante (Rosenberg, 1990). A escolha do material a ser utilizado deve levar em consideração uma série de fatores, tais como: propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede (viscosidade, propriedades mecânicas, transição vítrea, capacidade de formação de filme, solubilidade, higroscopicidade, sabor e odor suaves, fácil reconstituição, compatibilidade do núcleo com a parede, mecanismo de liberação controlada e baixo custo (Brazel, 1999). O material de parede deve ser não reativo com o núcleo (Jackson et al, 1991).

A estabilidade de emulsões é um fator importante a se considerar para encapsulação de compostos. Na prática, muitas vezes, pelo fato de um mesmo composto não englobar todas essas propriedades, usam-se misturas (Shahidi,1993; Trubiano,1998).

Entre os materiais mais usados como encapsulantes estão gelatina, gorduras, óleos, goma arábica, alginato de cálcio, ceras, amido de trigo, milho, arroz e batata, ciclodextrina, maltodextrina, caseinato de sódio, soro de leite ou proteína soro de leite e proteína da soja (Parra, 2010).

1.5.1. Goma Arábica

A goma arábica (ou acácia) é uma resina natural composta por polissacarídeos e glicoproteínas, que é extraída de duas espécies de acácia da região sub-ariana (Sul do deserto do Saara), mais especificamente das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal* (Anderson, 1985).

Esta goma é considerada como material encapsulante por excelência, graças à sua alta solubilidade, baixa viscosidade, boas propriedades emulsificantes, sabor suave e alta estabilidade oxidativa conferida a óleos (Kenyon, 1995; Thevenet, 1995). É constituída por um arranjo de polissacáridos altamente ramificado de galactose, arabinose, ramnose e ácido glicurônico, contendo ainda cerca de 2% de um componente proteico ligado covalentemente a esse arranjo molecular, exercendo um papel crucial na determinação das propriedades emulsificantes da goma (Anderson,1985; Randal,1988).

Constitui um agente encapsulante muito bom para óleos aromatizantes empregados em misturas em pó para bebidas, além de aprimorar a textura de sorvetes. É também usada em conjunto com outros tipos de polissacarídeos, devido ao fato de apresentar baixas viscosidades quando usado em pequenas concentrações. A goma arábica, por sua fácil e rápida solubilidade em água, facilita a reconstituição de produtos desidratados e de concentrados de aromas. A goma arábica tem recebido o status de mais alta segurança toxicológica pela

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (Anderson et al. 1985; Motlagh et al., 2006). Além disso, tem a propriedade funcional como prebiótico (Saenz et al., 2009).

1.5.2. Polidextrose

A polidextrose é um polissacarídeo sintetizado pela polimerização randômica da glicose (Stumm e Batles, 1997) e pode ser considerado como alimento funcional, pois é parcialmente fermentado pela microbiota intestinal no intestino grosso, mas não é digerido nem absorvido no intestino delgado e, em sua maior parte, é excretado nas fezes (Pfizer, 1978). Segundo Jie et al. (2000), a polidextrose pode ser também considerada como prebiótico, pois estimula o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias e a fermentação contínua ao longo do cólon. É tolerada uma média de 90 g por dia, sem efeitos laxativos (Fakhouri et al., 2005). Além disso, este polímero é extremamente estável, incolor e não apresenta sabor residual, sendo também altamente estável dentro de uma faixa ampla de pH, temperatura, condições de processamento e estocagem (Jie, 2000).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a separação dos compostos fenólicos a partir da casca de uva Bordô (*Vitis Labrusca*) pelo método de ultrafiltração e seu encapsulamento por atomização.

2.2 Objetivos específicos

- Obtenção do extrato da casca de uva Bordô, para a separação de compostos fenólicos através de extração aquosa acidificada com ácido cítrico de 2%;
- Separar compostos fenólicos do extrato da casca de uva Bordô usando o processo de Ultrafiltração, empregando membranas com massas molares de corte de 10 e 30 kDa;
- Estudar o efeito da pressão transmembrana (1,0, 1,5, 2, 2,5, 3,0, e 3,5 bar) e da temperatura (15, 25 e 35 °C) no processo de ultrafiltração a fim de maximizar o fluxo e minimizar o *fouling* e a formação de concentração por polarização;
- Determinar os teores de polifenóis totais e flavonóides totais, no extrato, retido e permeado de amostras recolhidas no processo de UF;
- Realizar a microencapsulação do permeado, obtido mediante UF do extrato fenólico, por atomização a 140°C utilizando como encapsulantes goma arábica e povidexrose 15%;
- Avaliar as características físicas das micropartículas, tais como umidade, cor, higroscopicidade, solubilidade e atividade de água.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de execução

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Engenharia de Processos em Alimentos e de Desidratação do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) – UFRGS

3.2. Matéria Prima

Foram adquiridas uvas variedade bordô (*Vitis labrusca*) colhidas o dia 09 de Fevereiro de 2014, na região Serra Gaúcha, município de Cotiporã, RS. Os cachos foram higienizados com água potável, selecionados, embalados em sacos de polietileno e armazenados a -18 ± 2 °C, até o momento do uso.

3.3. Procedimento experimental de extração do extrato da casca de Uva Bordô

Para a preparação do extrato da casca de uva, os frutos foram separados, pesados e descongelados sob-refrigeração à temperatura de 4 ± 2 °C. Após descongelamento foram submetidos a branqueamento em banho termostático, durante cinco minutos a 80° C e imediatamente resfriadas por 3 minutos em banho de gelo (Agüero et al., 2008). A seguir a casca foi retirada manualmente, pesada e liquidificada com solução aquosa acidificada 2% de ácido cítrico em uma razão de 1:4 (m/v), seguido de lixiviação por 20 horas a 20°C. Após esse período, o extrato foi filtrado ao vácuo com papel de filtro Whatman No 1, os extratos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar, hermeticamente fechados e armazenados a -18 ± 2 °C. Todos os tratamentos e procedimentos realizados ao extrato foram realizados no ambiente escuro.

3.4. Processo de Ultrafiltração

Previamente ao processo de separação por membranas, os extratos foram descongelados sob-refrigeração na temperatura de 4 ± 2 °C.

Foram utilizadas membranas poliméricas de ultrafiltração (UF), com massa molar nominal de corte (NMWCO) de 10 e 30 kDa, fabricadas em polietersulfona (PES) pela Synder Filtration Headquarters (Vacaville, USA). O equipamento de ultrafiltração empregado se mostra na Figura 8.

O sistema está constituído dos seguintes componentes: (1) tanque de alimentação encamisado de vidro, com volume total de 2.0 litros, com controle de temperatura através de um banho ultra termostático (CienlaB, modelo CE-110/10); (2) bomba pneumática tipo diafragma (Ingersoll-Rand, modelo PD05P-ARS-PAA-B) com vazão nominal de 54.5 L/min e pressão máxima de 6,9 bar (690 kPa), operada com compressor de ar comprimido (Schulz, modelo MSV 20); (3) pré-filtro (Marca CUNO, modelo 1BR1), com elemento filtrante de Poliéster Polietileno de 5 micras; (4) módulo para membrana plana fabricado em aço inoxidável 316 com área de 0.008903 m² para a membrana; (5) manômetro de entrada em aço inoxidável 316 com escala de 0 a 12 bar; (6) manômetro de saída em aço inoxidável 316 com escala de 0 a 12 bar; (7) válvula para controle de pressão.



Figura 8. Equipamento de ultrafiltração: (1) tanque de alimentação; (2) bomba; (3) pré-filtro; (4) módulo de membrana; (5) manômetro de entrada; (6) manômetro de saída; (7) válvula de controle de vazão.

3.4.1. Procedimento experimental

3.4.1.1. Compactação das membranas de UF

Para a separação de UF, inicialmente foi colocada uma membrana de PES nova no módulo, e compactadas mediante recirculação de água destilada através da imposição de uma pressão transmembrana (TMP) de 4 bar a 25°C, para dessa forma conseguir o adensamento da microestrutura (Rai et al., 2007). O processo de compactação foi realizado até que o fluxo de permeado de água tornar-se constante com o tempo.

O fluxo de água (J_p) foi calculado de acordo com a Equação (1) segundo metodologia descritas por Cheryan (1986), Mulder (1991), De Bruijn (2002) e Jiraratananon et al. (1996):

$$J_p = \frac{V_p}{A \times t} \quad (1)$$

onde V_p é o volume de permeado (L), A é a área efetiva da membrana 0,008903 (m²) e t é o tempo necessário (h) para coletar V_p .

3.4.1.2. Permeabilidade das membranas

Após compactação da membrana foi determinada a permeabilidade hidráulica da membrana nova (L_{pi}) (L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹) a través de medição do fluxo de permeado a diferentes TMP (4,0, 3,0, 2,5, 2,0, 1,5 e 1,0 bar).

A permeabilidade foi calculada do coeficiente angular da equação linear obtida dos dados do fluxo de permeado em função da TPM (Czekaj et al., 2001). O mesmo procedimento foi realizado para determinar as permeabilidades hidráulicas com água, após ultrafiltração do extrato (L_{pf}) (L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹) e limpeza do sistema (L_{pc}) (L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹).

3.4.1.3. Estudo do comportamento de fluxo do extrato da casca de uva a diferentes pressões e temperaturas

Os experimentos foram realizados de acordo com a metodologia proposta por Cassano et al. (2008) em modo batelada, com recirculação total do retido e separação do permeado, com vazão de 125 L.h⁻¹.

As separações foram realizadas às pressões de 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 bar, e temperaturas de 25, 35 e 45 °C todos eles com tempos de 6 horas. Foram empregadas dois tipos de membranas poliméricas de 10 e 30 kDa. Os

volumes de permeado coletados foram armazenados a -18 ± 2 °C para posteriores análises.

Após separação, foi retirado o volume que corresponde ao retido, e substituído por água destilada para começar a limpeza do sistema. Nestas condições foram realizadas as medições de fluxo de permeado de água para determinar a permeabilidade da membrana após separação do extrato.

A seguir foi realizada a limpeza química da membrana (Anexo A) com solução alcalina de hidróxido de sódio ($0,35 \text{ g.L}^{-1}$; pH 10,8-11,0) a 50°C por 30 minutos, seguida de enxague com água destilada a 50°C. Posteriormente, foi retirada a água destilada e adicionada solução de ácido cítrico (5 g.L^{-1} ; pH 2,0-2,2) no sistema a 50°C por 30 minutos; retirada essa solução, seguidamente foi realizado um novo enxague com água destilada por 20 min a 50°C. Logo após, foi adicionada solução de hipoclorito de sódio ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$) para manter no sistema aproximadamente 150 ppm de cloro livre por 20 minutos a 50°C. Depois, a solução de hipoclorito de sódio foi retirada e substituída por água destilada para o enxágue a 50°C. Finalmente, foi adicionada água novamente para circular dentro do sistema, com o intuito de realizar a compactação e as medições de fluxo de permeado de água e poder determinar a permeabilidade hidráulica da membrana após da limpeza química (L_{pc}) ($\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{bar}^{-1}$).

3.4.1.4. Determinação de Fouling, eficiência da limpeza química, retenção da membrana e fator de concentração

Com os resultados obtidos nos experimentos de permeabilidade da água da membrana nova, antes e após cada experimento de UF foi possível calcular o *fouling* (equação 2):

$$Fouling(\%) = \left(\frac{L_{pi} - L_{pf}}{L_{pi}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde (L_{pi}) é a permeabilidade hidráulica da membrana nova e (L_{pf}) é a permeabilidade hidráulica da membrana após o processo de UF do extrato antes de fazer a limpeza química (Saha et al., 2007).

A recuperação de fluxo foi calculada da equação (3) (Liikanen et al., 2002)

$$Rec. do fluxo(\%) = \left(\frac{J_{pc}}{J_{pi}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde J_{pc} ($L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) é o fluxo de permeado de água após limpeza química da membrana e J_{pi} ($L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) o fluxo de permeado de água da membrana nova.

O coeficiente de retenção observada R_{obs} , ou a capacidade seletiva da membrana em relação a uma dada espécie. Foi calculado de:

$$R_{obs} = \left[1 - \frac{C_p}{C_r} \right] \times 100 \quad (4)$$

Onde C_p é a concentração do componente em estudo, neste caso concentração de polifenóis ou flavonoides na corrente de permeado e C_r concentração do componente no retido.

O fator de concentração volumétrico (Fcv) foi calculado da equação 5:

$$Fcv = \frac{V_i}{V_r} = \frac{V_i}{V_i - V_p} \quad (5)$$

Onde: V_i é o volume inicial de solução de alimentação, V_p é o volume recolhido no permeado e V_r é o volume retido.

3.4.1.5. Análise das resistências

As resistências correspondentes a cada uma das fases do ciclo de separação: membrana nova, após separação do extrato, e após limpeza química, foram determinadas de acordo com o modelo de resistências em série, propostas por (Jiraratananon et al., 1996), (Cheryan, 1998) e (Bruijn et al., 2002):

A Equação (6) representa a resistência total que considera todos os efeitos resistivos como um somatório de componentes (Habert et al., 2006):

$$R_t = R_m + R_c + R_f \quad (6)$$

onde R_t é a resistência total (m^{-1}), R_m a resistência da membrana nova com água (m^{-1}); R_c resistência à polarização por concentração (m^{-1}) e R_f resistência ao *fouling*.

Para determinar a resistência da membrana nova é usada a equação (7):

$$R_m = \frac{1}{\mu_w L_{pi}} \quad (7)$$

onde μ_w é a viscosidade da água ($kg.m^{-1}.s^{-1}$) e L_{pi} ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$) é a permeabilidade hidráulica da membrana nova .

A resistência total foi calculada da equação (8):

$$R_t = \frac{1}{\mu_w L_{pf}} \quad (8)$$

onde L_{pf} é a permeabilidade hidráulica da membrana após o processo de UF do extrato e μ_w é a viscosidade da água ($kg.m^{-1}.s^{-1}$)

Após realizar o procedimento de limpeza foi determinada a resistência ao *fouling* R_f (m^{-1}), pela Equação (9):

$$R_m + R_f = \frac{1}{\mu_w L_{pc}} \quad (9)$$

Onde R_m é a resistência da membrana nova com água (m^{-1}); μ_w é a viscosidade da água ($kg.m^{-1}.s^{-1}$); e L_{pc} é a permeabilidade hidráulica da membrana após da limpeza química ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$).

Finalmente, usando a equação (6) por diferença foi calculada a resistência a polarização por concentração (R_c).

3.5. Encapsulamento por atomização

Foi usado para cada experimento de atomização 400 mL do permeado obtido na Ultrafiltração do extrato de casca de uva em cada uma das membranas de 10 e 30 kDa. Ao extrato foi adicionado o agente encapsulante a uma concentração de 15%, homogeneizado em Ultra Turrax (IKA; T25) por 3 minutos a 5000 rpm, até completa dispersão.

Os agentes encapsulantes utilizados foram goma Arábica (Instantgum BA; Nexira Brasil Comercial Ltda., São Paulo, Brasil) e polidextrose (MasterSense Ing. Alim. Ltda. São Paulo, Brasil), foi escolhido trabalhar com esses tipos de encapsulantes já que em estudos realizados previamente no laboratório foram usadas para a microencapsulação de extratos de amora-preta (*Rubus fruticosus*) (Rigon, et al 2016), Repolho Roxo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra*) (Bernstein, et al 2015), casca de uva (Kuck, et al 2016), yacon (Brites, et al 2016), onde houve resultados satisfatórios.

A seguir a dispersão foi seca por atomização, empregando atomizador de duplo fluido, do tipo pneumático (Mini-Spray-Dryer, LM MSDi 1.0, LABMAQ, Brasil), com bico de alimentação de 1,0 mm de diâmetro (Figura 9). A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica com vazão de 0,60L/h; temperatura do ar de secagem 140 °C; pressão de ar comprimido 3,5 Kg/cm² e vazão de ar de 40,5 L/h.



Figura 9. Equipamento de secagem por atomização usado neste trabalho.

3.6. Análises físicas e químicas

As análises realizadas em amostras do extrato, retido e permeado proveniente da separação UF foram: viscosidade, polifenóis totais, flavonoides e capacidade antioxidante. Para as microesferas foram determinadas: atividade de água, umidade, higroscopicidade, solubilidade e cor.

3.6.1. Viscosidade

Foi medida a viscosidade no extrato, retido e permeado nas temperaturas de 25, 35 e 45° C com o viscosímetro (Brookfield, Modelo DV2T) de acordo com metodologia recomendada por (Aguiló-Aguayo et al., 2010).

3.6.2. Teor de polifenóis totais

Foi determinado de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi pelo método colorimétrico de (Folin-Ciocalteu, 1965). As amostras para análise foram usadas a partir do extrato acidificado com ácido cítrico em proporção 1:4 (m/v) previamente preparado. Para análise foram diluídas amostras do extrato em água em proporção de: 1:10 para o extrato; 1:5 para o retido; sem diluição para o permeado. Posteriormente, 0,5 mL de cada amostra foram colocadas separadamente em tubos de ensaio e foi adicionado 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1,25 mL de carbonato de sódio Na_2CO_3 a 20% em cada tubo, depois foram homogeneizados por meio de agitação manual e mantidos à temperatura ambiente, sob o abrigo da luz por 2 horas, para posterior leitura espectrofotométrica. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Genesys S10, Thermo Scientific) a uma absorvância de 765 nm. A curva de calibração (Anexo B) foi elaborada utilizando solução de ácido gálico dissolvido como solução padrão em água destilada na concentração de ácido gálico ($0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a partir desta, foram preparadas soluções de concentrações entre 0 a $40 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. A equação da reta obtida por regressão linear e as leituras das absorvâncias no espectrofotômetro foram usados para realizar os cálculos do teor de compostos fenólicos expressos em equivalentes de ácido gálico ($\text{mgGA}\cdot\text{g}^{-1}$).

3.6.3. Teor de Flavonóides

Foi determinado de acordo com o ensaio colorimétrico proposto por (Zhishen et al., 1999). As amostras para análise foram usadas a partir do extrato acidificado com ácido cítrico em proporção 1:4 (m/v) previamente preparado. Para análise foram diluídas amostras do extrato em água em proporção de: 1:10 para o extrato; 1:5 para o retido; sem diluição para o permeado. Inicialmente, foram colocados 0,25 ml de cada amostra em tubos separados e foi adicionado 1,25 ml de água destilada a cada tubo; posteriormente se adicionaram 0,075 ml de NaNO_2 (5% w/v) e deixou-se em repouso por 5 minutos. A seguir, adicionou-se 0,15 ml de

AlCl_3 (10% w/v) e, depois de 6 minutos, adicionou-se 0,5 ml de solução de NaOH (1M). A seguir, foram acrescentados 0,775 ml de água destilada, ficando num volume total de 3 ml. A mistura foi agitada vigorosamente e lida a absorvância a 510 nm.

A curva de calibração foi preparada utilizando uma solução padrão de catequina (de 0 a 4 mg.L^{-1}) (Anexo C) para determinar o teor de flavonoides nas amostras. As leituras das absorvâncias foram realizadas no espectrofotômetro (Genesys S10, Thermo Scientific). Os resultados foram expressos como mg de catequinas equivalentes (CEQ). g^{-1} de amostra.

3.6.4. Determinação de capacidade antioxidante ABTS^{•+}

A capacidade antioxidante pelo ABTS^{•+} foi determinada pelo método descrito por Re et al. (1999) com modificações. O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS 7 mM (192 mg de ABTS com 50 mL de água destilada em balão volumétrico) e 88 μL de solução de persulfato de potássio 140 mM de concentração final (378,4 mg de persulfato de potássio em 10 mL de água destilada). Foi mantida a solução no escuro à temperatura ambiente por 16 horas antes do uso. A solução ABTS foi diluída com tampão fosfato (5 mM; pH 7,4) e etanol P.A. até atingir absorvância de 0,7 ($\pm 0,02$) a 734 nm.

Foi determinado ABTS^{•+} nas amostras de extrato e permeado, para o qual as amostras foram previamente diluídas da seguinte forma (Nenadis et al., 2004): o extrato foi diluído em concentrações de 1%, 5% e 10% em água destilada; o permeado foi diluído em 40%, 60% e 80% e 100% (amostra sem diluir).

Posteriormente, alíquotas de 300 μL dessas diluições foram colocadas em tubos, separadamente, e adicionados 2,7 mL da solução diluída de ABTS e se deixou reagir por 6 minutos. Após esse tempo foi lida a absorvância a 734 nm.

A curva de calibração foi preparada utilizando uma solução padrão de Trolox (de 12,5 a 200 TEAC $\mu\text{mol/g}$) (Anexo D). As leituras das absorvâncias foram realizadas no espectrofotômetro (Genesys S10, Thermo Scientific). Os

resultados foram expressos como equivalentes Trolox (TEAC) ($\mu\text{mol/g}$ de amostra).

3.6.5. Medição de Cor

A cor das amostras nos pós foi medida por meio de leitura direta com colorímetro minolta (CR400/410, Minolta sensing Inc. Osaka, Japão) e os resultados foram expressos de acordo com o sistema tridimensional CIEL*a*b*, onde L^* indica luminosidade (0-preto a 100-branco); as coordenadas de cromaticidade a^* (a^{*+} : predominante para o vermelho; a^{*-} : predominante para o verde) e b^* (b^{*+} : predominante para o amarelo; b^{*-} : predominante para o azul). A calibração foi feita por meio de placa de cerâmica cor branca ($L^*= 97,47$; $a^*= 0,08$; $b^*= 1,76$). Os parâmetros $L^*a^*b^*$ foram usados para calcular os valores de *Chroma*, ângulo *Hue* a partir das equações descritas por Ndiaye et al. (2009). Equações 10 e 11

$$Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (10)$$

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (11)$$

3.6.6. Determinação da Atividade de Água

A atividade de água da amostra foi medida em um analisador de atividade de água marca Aqualab, modelo 3TE, através do método n° 978.18 da AOAC (1995).

3.6.7. Determinação de Umidade

A determinação de umidade foi realizada de acordo com o método n° 984.25 da AOAC (1995).

3.6.8. Determinação de Solubilidade

A solubilidade das microcápsulas foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cano-Chauca et al. (2005), com algumas modificações. Aproximadamente 1 g do pó se adicionou em 100 mL de água destilada e se dissolveu em agitador magnético durante 5 minutos. Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi transferida para copos de béquer e a amostra se secou em estufa a 105°C durante 7 h. A solubilidade foi calculada por diferença de peso do pó antes e depois da secagem segundo equação 12. E foi expressa em porcentagem (%).

$$\text{Solubilidade} = \frac{(Pa - Pb)}{0.25} \times 100 \quad (12)$$

Onde: Pa (g) é a massa do béquer mais a amostra após 7 horas de secado a 105°C e Pb (g) é a massa inicial do béquer.

3.6.9. Determinação de Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada de acordo com o método proposto por (Tonon et al., 2009). 1 g de amostra do pó atomizado foi pesado e acondicionado em um recipiente contendo solução saturada a 75% de cloreto de sódio (NaCl) e hermeticamente fechado; as amostras se colocaram em incubadora marca Ethik Technology modelo 411/FDP, (Vargem Grande Paulista, SP) a 25 °C e foram pesadas em intervalos de 48 h até que o equilíbrio foi atingido. A higroscopicidade se expressa em %.

3.7. Análise estatística

As análises foram feitas em triplicata e expressas como média \pm desvio-padrão. Foi realizada análise de variância (ANOVA) e para a comparação das

médias dos tratamentos, foi empregado o teste de Tukey, usando o software estatístico SAS 9.3.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Processo de Ultrafiltração

4.1.1. Compactação das membranas de UF

A compactação da membrana nova foi realizada como primeira etapa em todos os experimentos de UF. Os perfis de fluxo de permeado de água em função do tempo durante a compactação das membranas de 10 e 30 kDa são mostrados na Figura 10. Nelas se observam que, em condições de compactação de 4,0 bar a 25°C, para a membrana de 30 kDa o fluxo de permeado inicial foi de 75,45 L.m⁻²h⁻¹ e teve uma redução no fluxo de permeado com água de 6,34% até atingir as condições de fluxo estacionário, enquanto que com a de 10 kDa, o fluxo de permeado da água inicial foi de 63,49 L.m⁻²h⁻¹ e teve uma redução no fluxo de 40,82% até o início do estado estacionário. Esse comportamento observado é típico na compactação das membranas. A maior independência do fluxo do permeado com o tempo da membrana de 30 kDa, pode indicar uma maior estabilidade mecânica da membrana quando comparado com a membrana de 10 kDa (Cheryan, 1998).

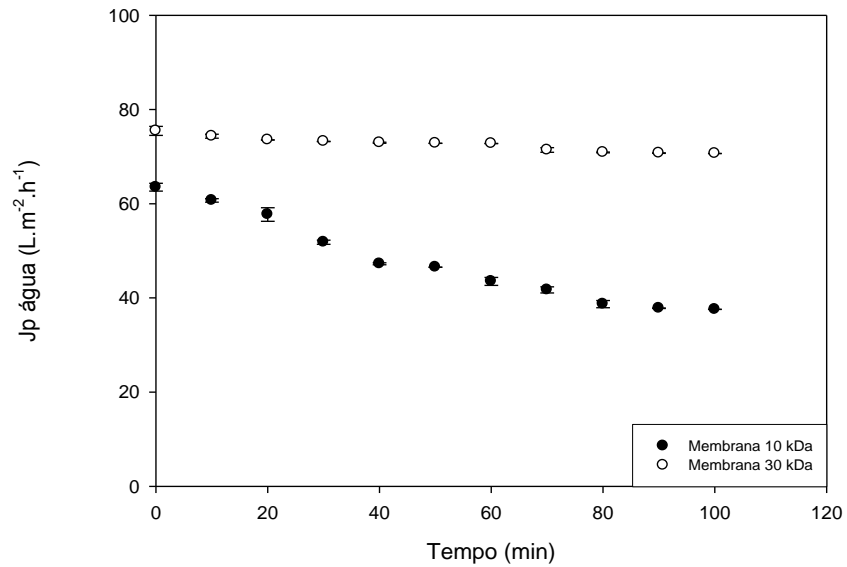


Figura 10. Fluxo de permeado de água em função da compactação das membranas de 10 e 30 kDa a 4,0 bar e 25°C.

4.1.2. Permeabilidade das membranas

Após a compactação das membranas, com o intuito de estimar a permeabilidade hidráulica de água na membrana nova (L_{pi}) ($L.m^{-2}.h^{-1}.kPa^{-1}$), foram realizados experimentos para obter os valores de fluxo de permeado de água em função de diferentes valores de pressão transmembrana (TMP), cujos resultados são mostrados na Figura 11. Nela se observa que o comportamento do fluxo permeado de água em função da pressão transmembrana foi linear para as duas membranas. As permeabilidades hidráulicas para as membranas 10 e 30 kDa foram 10,96 e 20,52 $L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$, respectivamente, sendo que a maior permeabilidade é consequência do maior tamanho de poro. É muito importante salientar que a permeabilidade hidráulica, segundo a equação de Hagen-Poiseuille depende de vários parâmetros, entre eles, a porosidade, espessura da membrana, tortuosidade e tamanho do poro, e por tanto o valor de permeabilidade hidráulica é característica de cada membrana avaliada (Cheryan, 1986). Porém, Mulder (1996)

menciona que a permeabilidade depende não só das características da membrana, tais como material e morfologia, mas também da dispersão e da temperatura de operação.

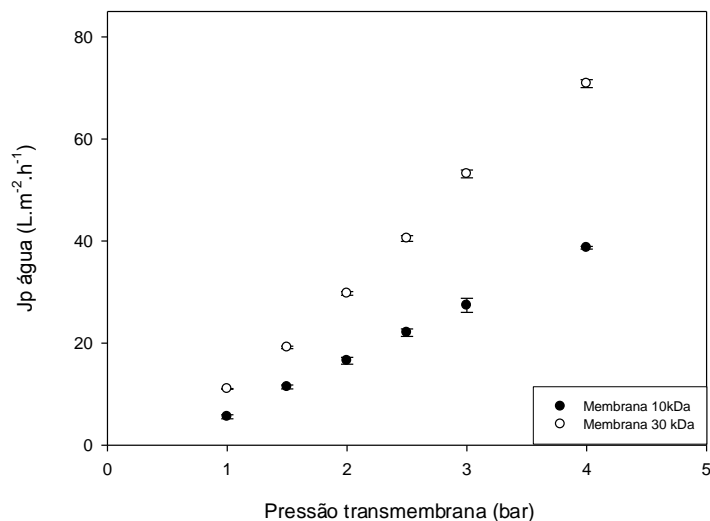


Figura 11. Fluxo de permeado de água em função da pressão transmembrana (bar) a 25°C.

4.1.3. Estudo do comportamento de fluxo do extrato da casca de uva a diferentes pressões

Nas Figuras 12 e 13 são apresentadas as curvas de fluxo de permeado do extrato da casca de uva a diferentes pressões para as duas membranas. Em ambas figuras se observam que o fluxo de permeado aumentou com a pressão, sendo que para pressões maiores do que 2,5 bar esse aumento foi maior do que para pressões menores. Segundo Cheryan (1998), o aumento da pressão transmembrana tende a incrementar o fluxo até a consolidação da camada de gel, após, o fluxo se torna independente da pressão, apenas aumentando a espessura ou a densidade da camada. Para fluidos que não contêm componentes causadores de colmatagem nas membranas, altas pressões podem aumentar o valor do fluxo permeado. Porém, nos casos em que se forma com facilidade a

camada polarizada e o entupimento, o aumento na pressão resulta na compactação das partículas sobre a superfície da membrana. Isto leva a um fluxo estável ou até mesmo a redução do fluxo com o aumento da pressão, já que maiores pressões podem levar à compactação e com isso reduzir os fluxos permeados. Assim, utilizando-se valores mais baixos de pressão, tem-se um fluxo inicial mais baixo, mas que é mantido com o tempo de filtração (Porter, 1990). Segundo Cheryan e Alvarez (1995), este comportamento deve-se à consolidação da camada gel polarizada, que no caso do suco de uva se forma devido à pectina presente, uma vez que a pectina tem um grande potencial para formar géis. Logo, no processo de separação por membranas ocorre à formação da camada gel sobre a membrana, que é comprimida pela pressão resultando em diminuição dos valores de fluxos permeados.

Também nas figuras se observam que em todas as pressões transmembrana usadas, a presença de dois períodos bem definidos, uma de queda do fluxo e uma outra estacionária. No período inicial a membrana fica exposta às macromoléculas que podem estar presentes no extrato da uva tais como proteínas, carboidratos (glicose, fructose, pectina) e lipídeos (ácidos graxos), moléculas que podem ser rapidamente adsorvidas na superfície das membranas ou no interior dos poros (Carneiro et al., 2002). O acúmulo dessas moléculas na superfície da membrana gera um gradiente de concentração que pode favorecer inicialmente a polarização por concentração e provocar a retro-difusão das moléculas em direção ao fluido circulante, até atingir o estado quase-estacionário (Marshall e Daufin, 1995). Assim, a redução do fluxo permeado é devido à polarização por concentração, a incrustação e/ou bloqueio dos poros da membrana (Carneiro et al., 2002). Segundo Habert et al. (2006) na operação de escoamento tangencial são comuns à queda inicial nos valores de J_p com posterior tendência ao fluxo constante no decorrer do processo, que nosso caso o fluxo de permeado constante foi atingido na maioria dos casos após 240 minutos.

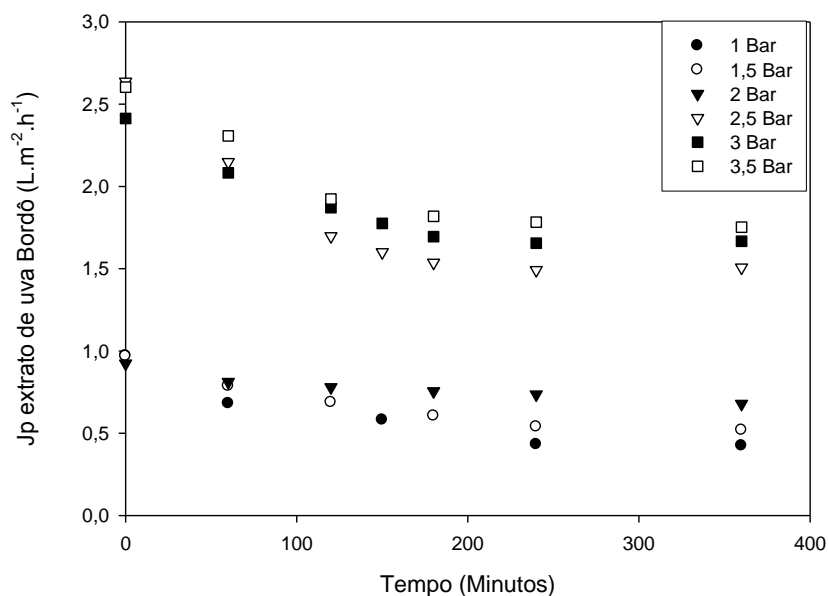


Figura 12. Fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô em função do tempo, em diferentes pressões, a 25°C e velocidade tangencial de $0,54 \text{ m.s}^{-1}$, na membrana de 10 kDa.

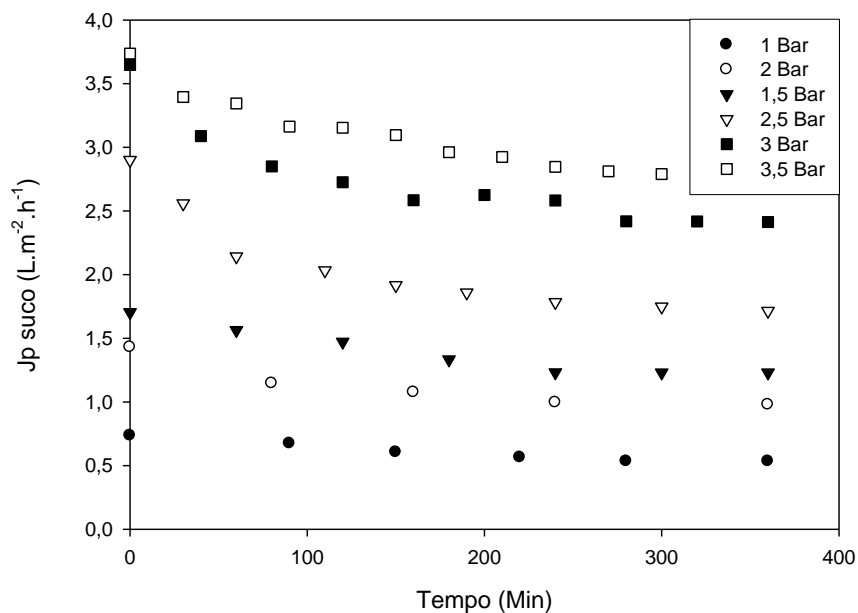


Figura 13. Fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô em função do tempo, em diferentes pressões, a 25°C e velocidade tangencial de $0,54 \text{ m.s}^{-1}$, na membrana de 30 kDa.

(Nigam et al. 2008) mencionam que a diminuição inicial do fluxo é decorrente da polarização por concentração, geralmente inevitável nos processos com membranas, e após um determinado período de tempo, a queda do fluxo deve-se ao depósito de partículas sobre a membrana. (Aydiner , 2010) destaca que a redução no fluxo de permeado está associada não somente à concentração da solução de alimentação, mas também ao processo de bloqueio de poros, interno e externo, da membrana.

Os dados de fluxo de permeado no estado estacionário em função da pressão (Figura 14) foram usados com o intuito de verificar se as interações da superfície com o extrato de alimentação, apresentavam ou não valores de fluxo limite. Durante o processo de separação, o fluxo aumenta com a pressão até um limite máximo denominado de fluxo limite, o qual depende da composição da alimentação e, mesmo que não ocorra a colmatação por adsorção ou entupimento dos poros, haverá a polarização por concentração, com a conseqüente queda no fluxo e a perda de comportamento linear entre o fluxo de permeado e a pressão aplicada. Neste caso, foram realizados experimentos adicionais para observar o comportamento do fluxo de permeado a diferentes pressões, de 1,0 bar até 3,5 bar.

Para o processo de separação por membranas, de forma geral, um aumento no fluxo de permeado é atingido com um aumento da pressão transmembrana; neste modelo, o fluxo é diretamente proporcional á pressão transmembrana, considerando que as características da membrana não são alteradas, uma mudança no fluxo de permeado em uma determinada pressão ocorre devido a alteração da viscosidade, que é influenciada pela acumulação de sólidos e pela temperatura onde se origina uma maior concentração das espécies retidas próximo a superfície da membrana até que uma diminuição no fluxo atinge o seu valor limite (Campos et al., 2013). Porém a medida que a pressão aumenta o fluxo de permeado deixa de ser linear e tende a diminuir sua ascensão até se estabilizar. A conseqüência é que o fluxo de permeado permanece inalterado com o aumento da pressão. Este fenômeno ocorre devido à polarização por concentração que se forma na superfície da membrana. (Campos et al, 2013)

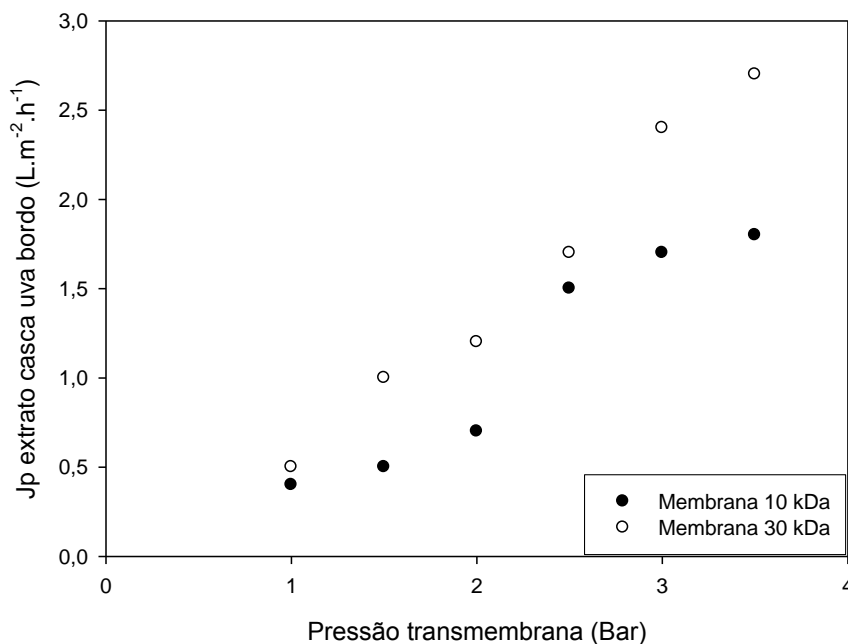


Figura 14. Efeito da pressão no fluxo de permeado do extrato de casca de uva bordô no estado estacionário a 25°C nas membranas de 10 e 30 kDa.

Na Figura 14, na membrana de 10 kDa, se observa que para pressões maiores do que 2,5 bar não apresentou mais linearidade entre o fluxo de permeado e a pressão aplicada, porém não foi possível verificar a existência de fluxo limite, já que não foi possível de verificar o estado estacionário para pressões maiores do que 3,5 bar, devida às limitações operacionais do equipamento. Sendo assim, foi definido realizar os experimentos de UF na membrana de 10 kDa com condições de funcionamento de 3,5 bar. Na membrana de 30 kDa evidenciou o aumento do fluxo de permeado, e nas condições de pressão empregadas, não apresentou tendência a independência do fluxo com respeito a pressão transmembrana, mostrando assim que o fluxo limite não foi atingido, sendo escolhida também a pressão de 3,5 bar como pressão de operação, protegendo a membrana dos fatores que afetam o desempenho dela como *fouling* e polarização por concentração.

4.1.4. Estudo do comportamento de fluxo do extrato da casca de uva a diferentes temperaturas

Nas Figuras 15 e 16 são mostrados o comportamento do fluxo de permeado com a mudança da temperatura à pressão de 3,5 bar, e em todas elas também se observaram os dois períodos, um de diminuição do fluxo e um outro de estado estacionário.

(Barros et al., 2002), (Carneiro et al. 2002), (Jegatheesan et al., 2009) e Cassano et al. (2010), no estudo de clarificação por UF dos sucos de abacaxi e acerola, abacaxi, caldo de cana e pera, respectivamente, também descreveram comportamento do fluxo permeado similar ao nosso trabalho, com a ocorrência da queda de fluxo no início e após uma taxa praticamente constante, com valores de fluxo diferentes em cada caso, até o final do experimento, correspondendo à etapa de consolidação da incrustação. (Jiraratananon et al., 1997) afirma que moléculas celulósicas presentes na maioria das frutas são longas e rígidas e tem tendência de formar agregados com outras macromoléculas via pontes de hidrogênio. Segundo (Kuberkar et al., 2000), a presença de partículas grandes causam a formação de uma camada que serve como uma segunda membrana que age como um filtro e removem muitas das pequenas partículas antes que elas alcancem a superfície da membrana, porém algumas chegam à superfície da membrana, causando uma resistência extra à permeação, e quando sob pressão, essas pequenas partículas não atravessam a membrana, ocasionando um pequeno aumento do fluxo com a pressão, até que estas partículas não consigam mais permear a camada secundária, quando então o efeito da pressão deixa de existir.

Na membrana de 10 kDa, o fluxo de permeado no estado estacionário aumentou de $1,75 \text{ L.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ a $2,6 \text{ L.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ com a temperatura, e esse fenômeno pode ser atribuído a que a pressão constante, com o aumento da temperatura a densidade e viscosidade do fluido diminuem, com o conseqüente aumento do fluxo (Cheryan, 1998). Os valores de viscosidade no retido na membrana de

10 kDa foram de 1,35 mPa·s a 25°C, 1,30 a 35°C, e de 1,20 mPa·s a 45°C. Cassano (2008) no estudo de UF de extrato de bagaço de uva com membrana de 100 kDa também observou o aumento em 52% no fluxo no estado estacionário, quando a temperatura aumento de 15 para 39°C.

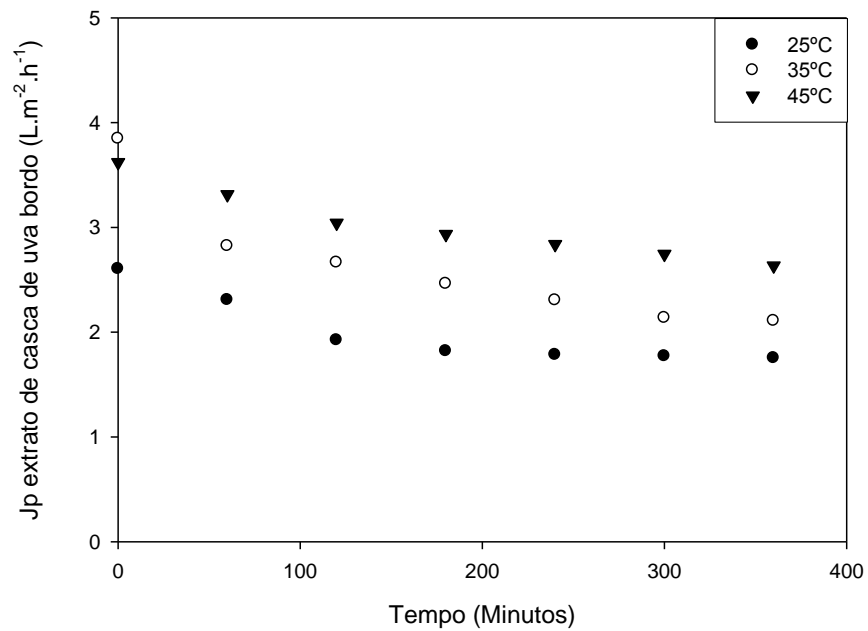


Fig. 15. Efeito da temperatura no fluxo do permeado do extrato de casca de uva na membrana de 10 kDa a 3,5 bar.

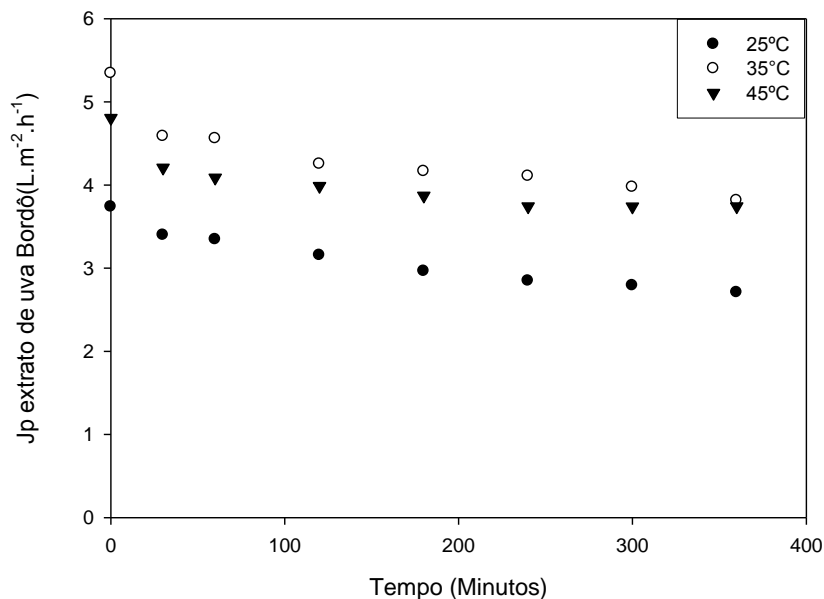


Fig. 16. Efeito da temperatura no fluxo do permeado do extrato de casca de uva na membrana de 30 kDa a 3,5 bar.

Na membrana de 30 kDa, os valores de fluxo de permeado em condições estacionárias foram de 2,7, 3,8 e 3,7 $\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ a 25, 35 e 45°C, respectivamente. O fluxo de permeado aumentou ao aumentar a temperatura de 25°C a 35°C, mas quando a temperatura mudou de 35°C para 45°C o valor de fluxo de permeado teve uma ligeira queda com respeito ao fluxo a 35°C. Essa queda no fluxo de permeado ao aumentar a temperatura a 45°C, pode ser devido a que em meios menos viscosos as partículas são carregadas mais facilmente pelo suco (os valores de viscosidade no retido foram de 1,36, 1,34 e 1,27 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ a 25°C, 35°C, e 45°C, respectivamente, sendo que com o aumento da temperatura diminuiu a viscosidade do meio), e com o aumento do tamanho dos poros, facilita o ingresso dessas partículas a través dos poros, resultando no fechamento destes e conseqüente redução de fluxo. De acordo com o modelo Hagen-Poiseuille, o aumento da temperatura resulta num aumento de fluxo, mas em algumas suspensões poderia resultar num decréscimo do fluxo devido ao decréscimo da solubilidade de alguns componentes e à precipitação dos sais insolúveis e, desse

modo, agravar o *fouling* e o deterioro da membrana, com a conseqüente redução do fluxo do permeado (Cheryan, 1986). Em alguns sistemas biológicos pode acontecer que por causa do aumento da temperatura podem existir desnaturação das proteínas e outros danos, como exemplo mudanças na estrutura da membrana que podem resultar em declínio do fluxo, principalmente devido ao *fouling* (Cheryan, 1986). (Maubois, 1980) também reportou que na UF do soro de leite, que com o aumento da temperatura o fluxo de permeado diminuiu, devido à diminuição da solubilidade de componentes de alimentação em altas temperaturas. (Goosen et al.,2002) reportou que a porosidade das membranas de polisulfona podem ser muito sensíveis a mudanças da temperatura da solução de alimentação. (De Barros et al., 2013), (Watkinson e Wilson, 1997) afirmam que a temperatura é uma variável muito importante e que influencia no aparecimento do *fouling* da membrana, pois dependendo dos componentes da solução de alimentação poderia mudar as características do fluido chegando a produzir depósitos. (Jiraratananon et al.,1996) também reportaram que no suco de maracujá, os resultados mostraram que o fluxo aumentou com a temperatura de 30 para 40°C, e decresceu a 50°C.

Analisando esses resultados e tendo em consideração a degradação dos compostos fenólicos por causa do aumento da temperatura e os custos de energia para operar com maiores temperaturas, foi definido como parâmetros de separação por UF 25°C e 3,5 bar.

4.1.5. Determinação de *Fouling* e eficiência da limpeza química

As Figuras 17 e 18, mostram os fluxos de permeado em função da pressão, na membrana após UF do extrato e após da limpeza química nas membranas de 10 e 30 kDa a 25°C. A partir desses dados foi obtida a permeabilidade da membrana usando a inclinação da reta do fluxo de permeado em função da pressão transmembrana, resultando em valores de permeabilidades, na membrana de 10 kDa, de $1,80 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (após UF do extrato), e de $10,56 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (após limpeza química).

$\text{L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ (após limpeza química). Na membrana de 30 kDa as permeabilidades foram de 2,14 e 17,4 $\text{L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$, para a membrana após UF do extrato e após limpeza química, respectivamente.

Os resultados de permeabilidade após limpeza química da membrana, foram menores que as da membrana nova (10,96 e 20,52 $\text{L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{bar}^{-1}$ para 10 e 30 kDa, respectivamente), entretanto, os resultados indicam que houve uma alta recuperação do fluxo de água das membranas após a limpeza química. Entre os fatores que propiciaram a que as membranas não fossem recuperadas completamente, estão o *fouling* não reversível, eficiência no procedimento de limpeza química, produtos de limpeza usados e tempo de vida da membrana. Com os valores de permeabilidade de membrana obtidos, foi possível calcular a recuperação da membrana, o *fouling* e a polarização por concentração.

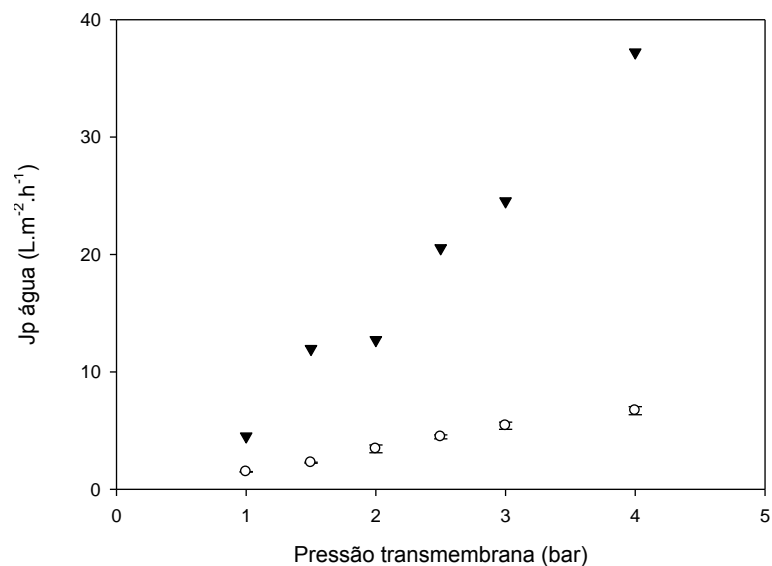


Figura 17. Fluxo de permeado em função da pressão, na membrana de 10 kDa, após UF do extrato (o) e após da limpeza química (▼) a 25°C.

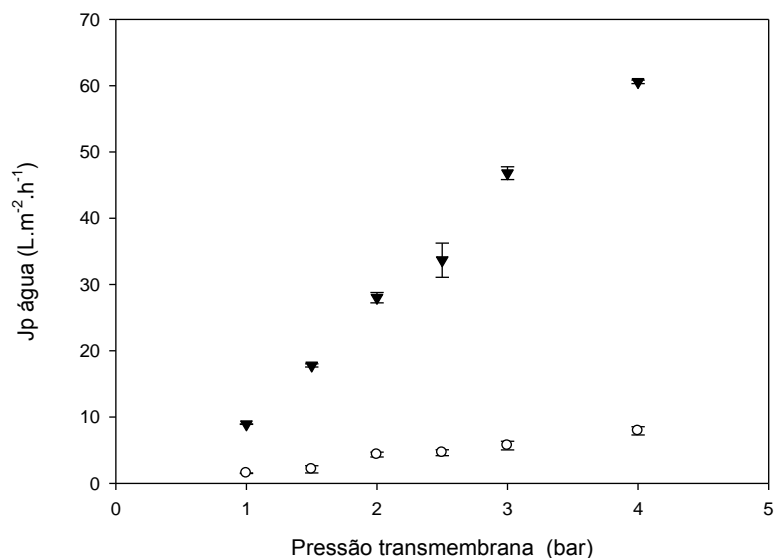


Figura 18. Fluxo de permeado em função da pressão, na membrana de 30 kDa, após UF do extrato (o) e após da limpeza química (▼) a 25°C.

A Tabela 1, mostra as porcentagens de recuperação e de *fouling* nas membranas para as três temperaturas estudadas. Os resultados indicam que a membrana de 30 kDa foi a que teve maior recuperação (89,4%) a 35°C, após a limpeza química. Porém, à 25°C foi possível verificar uma boa recuperação nas duas membranas, mostrando que efeitos como polarização por concentração ou *fouling* reversível foram possíveis de serem removidos mediante limpeza química. Segundo (Wiley, 2010), a polarização por concentração ocasiona o acúmulo de partículas ou solutos, formando uma camada limite à transferência de massa adjacente à superfície da membrana, sendo esse fenômeno inevitável, mas pode ser reversível por meio de limpeza química da membrana. (Rodrigues et al., 2003) avaliaram parâmetros de ultrafiltração de suco de banana em membranas polietersulfona de 10 e 30 kDa e constataram que a limpeza química da membrana, permitiu a recuperação do fluxo permeado inicial num 75%, sendo um indicativo da possibilidade de reutilização da membrana.

Quanto ao *fouling* teve valores maiores do que 80%, para ambas membranas e para todas as condições.

Tabela 1. Valores calculados de *Fouling* (%) e de recuperação (%) da membrana a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Membrana 10 kDa		Membrana 30 kDa	
	% Fouling	% Recuperação	% Fouling	% Recuperação
25	85,9	63,1	89,6	80,9
35	82,3	19,6	82,3	89,4
45	80,3	20,6	88,6	54,5

O *fouling* pode-se apresentar devido à adsorção, bloqueio dos poros, e na deposição de camada de partículas na superfície da membrana, ocasionando uma resistência hidráulica ou formação de gel, e por causa de alguns tipos de macromoléculas, a polarização por concentração pode gerar um gel nas vizinhanças da superfície da membrana, assim o *fouling* externo pode ser reversível (formação de camada por deposição de sólidos suspensos e a precipitação de sais e componentes da solução de alimentação na superfície da membrana) ou o interno (tamponamento dos poros com os sólidos que se depositam sobre a membrana) que é irreversível. Assim, a recuperação do valor de fluxo de permeado que foi perdido por causa do *fouling* e polarização por concentração só ocorre com a limpeza química (Cheryan, 1998) ou pela troca da membrana. Borsi et al. (2012) também afirmam que o *fouling* orgânico está associado à redução de permeabilidade causada pelo acúmulo de compostos orgânicos dissolvidos ou coloidais na superfície da membrana, e que os elevados percentuais de *fouling*, mesmo a baixas pressões, pode ser devido à hidrofobicidade da membrana, o qual apresenta significativa tendência à adsorção na superfície, provocando a formação da camada de torta.

Segundo (Cheryan, 1986) se a formação de sólidos sobre a membrana é significativa, este pode atuar como uma membrana secundária e mudar a permeação e as propriedades de transporte do sistema. O *fouling*, no caso do

suco de frutas, pode ser causado pela pectina, taninos, proteínas, amido, hemicelulose e celulose (Carneiro et al., 2002).

Os fatores que afetam o fluxo de permeado na UF estão fortemente influenciados pela natureza química da membrana e suas interações membrana-soluto, superfície química-soluto, soluto-soluto são tanto como as condições de operação do equipamento (Cheryan, 1986). No caso do presente estudo, quanto às condições de operação houve limitantes como valores limites de pressão transmembrana de 3,5 bar, baixa velocidade tangencial de $0,54 \text{ m.s}^{-1}$ e a área pequena de membrana. A velocidade tangencial ao módulo promove a turbulência próxima à membrana necessária para arrastar as partículas sólidas que tenderiam a se depositar sobre a superfície da membrana e reduzir os efeitos de polarização por concentração. (Cheryan, 1986) explica que a mais efetiva forma de minimizar o *fouling* e os fatores que afetam o fluxo de permeado depende da natureza da solução de alimentação e o tratamento feito antes do PSM, o equipamento usado nos experimentos deste estudo possui um prefiltro de tamanho de poro do filtro de $5\mu\text{m}$, o que ajuda a proteger a membrana reduzindo a quantidade de sólidos suspensos. (Cheryan, 1986) também relata que é importante a apropriada manipulação das condições de operação tais como temperatura, velocidade de alimentação e pressão, e controlando essas variáveis, pode-se minimizar os efeitos que afetam o desempenho da membrana tais como *fouling* e polarização por concentração.

4.1.6. **Análise das resistências ao fluxo durante a UF do extrato de casca de uva**

As Figura 19 e 20 mostram a influência da pressão sobre as resistências total, membrana, *fouling* e polarização por concentração. A maior resistência encontrada foi a da polarização por concentração. Com a elevação da pressão aumenta o fluxo de permeado. No entanto, o aumento de fluxo com a pressão não é exatamente linear, devido à existência das resistências de polarização de

concentração e a deposição de material na superfície da membrana, e com o tempo, a elevação da PTM pode trazer como consequência o declínio de fluxo, devido ao acúmulo de material na superfície da membrana e aos mecanismos de bloqueio dos poros (Chakrabarty et al., 2008).

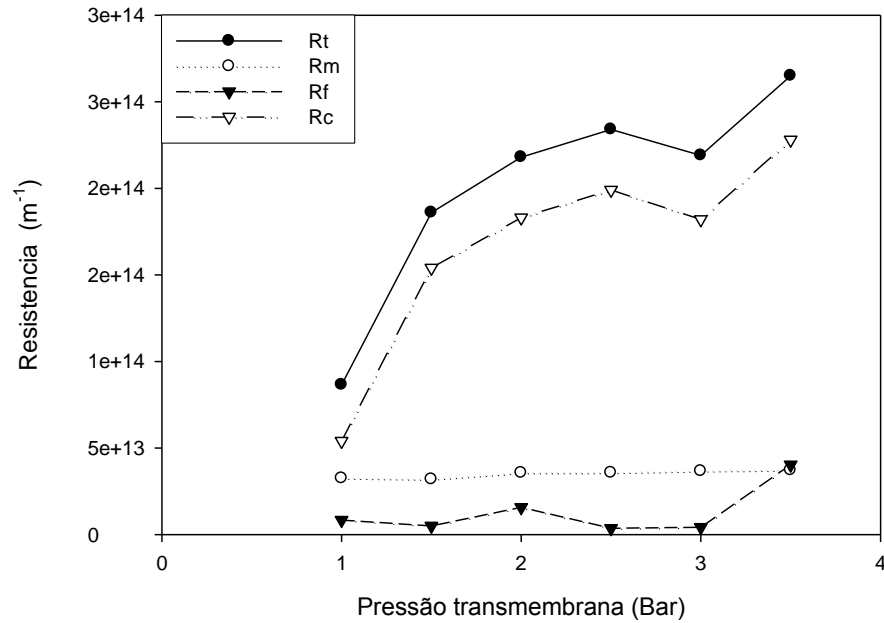


Figura 19. Influência da pressão transmembrana sobre as resistências total (R_t), membrana (R_m), *fouling* (R_f), e polarização por concentração (R_c) na membrana de 10 kDa a 25°C.

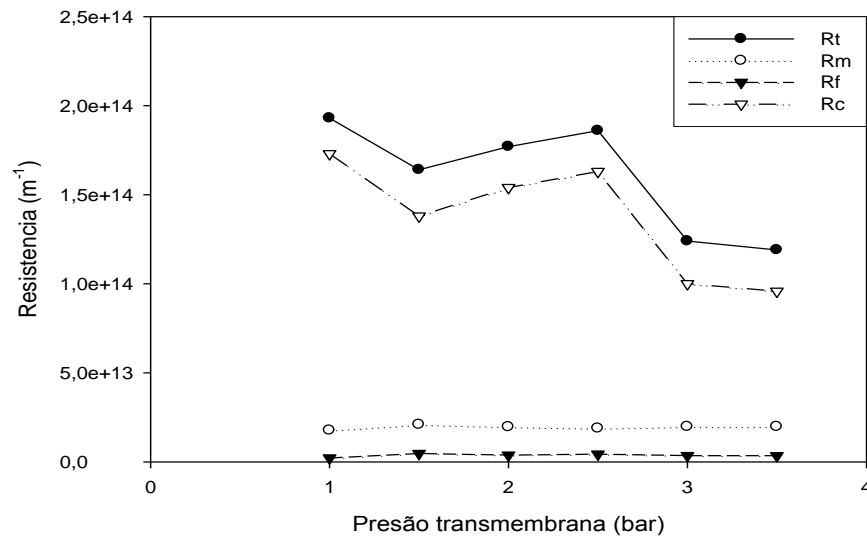


Figura 20. Influência da pressão transmembrana sobre as resistências total (R_t), membrana (R_m), fouling (R_f), e polarização por concentração (R_c) na membrana de 30 kDa a 25°C.

A Tabela 2 mostra a contribuição de cada uma das resistências no total, considerando o modelo de resistências em série. Nela se observa que a maior contribuição foi dada pela resistência à polarização por concentração (de 60 a 90%), enquanto que a resistência ao *fouling* foi a menor (de entre 1 a 16%).

Tabela 2. Contribuição de cada resistência com respeito à resistência total nas membranas de 10 e 30 kDa a 25 °C (velocidade tangencial de 0,54 m.s⁻¹, e vazão de 125 L.h⁻¹)

Pressão (bar)	Membrana 10 kDa			Membrana 30 kDa		
	Rm/Rt (%)	Rf/Rt (%)	Rc/Rt (%)	Rm/Rt (%)	Rf/Rt (%)	Rc/Rt (%)
1,0	9,2	1,1	89,6	37,6	9,7	62,4
1,5	12,7	2,9	84,2	17,2	2,7	82,8
2,0	11,1	2,1	87,0	16,3	7,2	83,9
2,5	10,1	2,4	87,6	15,3	1,6	85,0
3,0	15,9	2,8	80,7	16,7	1,9	83,1
3,5	16,5	2,9	80,5	14,0	15,2	86,0

Rm: Resistencia da membrana nova; Rt: Resistencia total; Rf: Resistencia ao fouling; Rc: Resistencia a polarização por concentração

O predomínio da polarização por concentração é característico em sucos de frutas, que são constituídos principalmente de compostos polissacarídeos da parede celular, tais como lignina, pectina, celulose e hemicelulose (Ryu et al., 1986). A turbidez no extrato de uva ocorre devido à presença de substâncias em suspensão neles contidos, tais como lipídios, amido, celulose, taninos e principalmente pectinas (Campos et al., 2013). Nos experimentos do presente trabalho, foram usados como etapas preliminares à ultrafiltração, pré filtros de 11µm (papel filtro Whatman nº1) e o micro filtro de 5 µm instalado no equipamento) que aproximadamente separa partículas maiores a 500 kD, com o intuito de preservar a eficiência da membrana, minimizando a formação de camada de torta e a polarização por concentração, pelo que, tendo em conta os tamanhos das partículas das substancias contidas no extrato e os tamanhos dos prefiltros é possível separar nos prefiltros amidos e celulose. (Borges, 1998)

Na Ultrafiltração é possível separar macromoléculas presentes, com massas molares maiores do que 10 kDa ou 30 kDa dependendo da membrana usada, sendo que as substâncias pécticas da uva tem massas molares entre 130 a 200 kDa, e as proteínas na uva entre 21 e 23 kDa (Togores, 2011), estas últimas poderiam ser separadas com a membrana de 10kDa, mas não com a membrana de 30kDa. No entanto, partículas de compostos fenólicos tais como taninos (500-3kDa), Catequinas (0,29 kDa), resveratrol (0,22kDa), ácido gálico (0,30 kDa),

ácido elágico (0,30 kDa) e Quercetina (0,30kDa) (cujos valores de massas molares, em média, foram obtidos de (Pubchem, 2016) todos eles passariam através dos poros das duas membranas.

Dependendo da distribuição do tamanho das partículas do produto a ser ultrafiltrado e dos poros da membrana pode ocorrer um bloqueio completo ou parcial destes, com conseqüente formação de uma camada secundária, que passa, então, a constituir o próprio meio filtrante, limitando assim o passo das partículas de compostos de menor tamanho. Esses mecanismos influem diretamente no fluxo de permeado da membrana. (Campos et al., 2013) No caso do extrato da casca da uva, a presença de pectinas favorecem a formação de camada gel polarizada, pois a pectina possui um grande potencial de formação de géis (De Barros, 2013), e a pHs menores do que 3,5 a tendência a formar géis é maior. Nos nossos experimentos, o extrato apresentou valores de pH menores do que 2,84, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. pH de amostras de extrato de casca de uva Bordô em cada etapa da ultrafiltração com diferentes membranas.

AMOSTRA	MEDIA +DESVIO
EXTRATO	
RETIDO	2,767 ± 0,005
PERMEADO	2,837 ± 0,005

O *fouling* reversível, se caracteriza pela recuperação do fluxo permeado da membrana após operação de limpeza química da mesma, enquanto que o irreversível se apresenta de forma permanente pois causa mudanças na estrutura da membrana e não permite a recuperação de fluxo de água (Maartens et al., 2002). Assim, o *fouling* de 1-16%, pode corresponder somente à componente do *fouling* irreversível, que não foi possível recuperar com a limpeza química da membrana. Na ultrafiltração de suco de kiwi hidrolisado enzimaticamente, (Cassano et al., 2003) encontrou que a fração reversível da resistência pelo *fouling* foi 29,4% da resistência total, enquanto que a fração irreversível do *fouling* foi 2,75%.

(Habert et al., 2006), menciona que a polarização por concentração é um fenômeno reversível e que ocorre nos primeiros minutos de filtração, onde irá acontecer a formação de um perfil de concentração perpendicular à superfície da membrana, resultando no aumento da concentração das espécies retidas próximos à superfície da membrana. O estabelecimento de um gradiente de concentração provoca uma resistência adicional à transferência de massa, levando à diminuição do fluxo permeado.

As Figuras 21 e 22 mostram a influência da temperatura sobre todas as resistências. Observa-se em ambas membranas que a resistência à polarização por concentração também predomina sobre as outras resistências, sendo esta a causa principal do declínio no fluxo de permeado. Em ambas membranas, em geral, as resistências diminuem com o aumento da 25 para 35 °C, devido a que com o aumento da temperatura diminui a viscosidade da solução aumentando o fluxo de permeado. Porém na membrana de 30 kDa, o aumento da temperatura de 35 para 45 °C, provocou o aumento das resistências. Nesse caso, o efeito da temperatura pode ter ocasionado a desnaturação e/ou precipitação de moléculas como das proteínas bloqueando completa ou parcialmente e a consequente formação de uma camada secundária, que passa a constituir como um outro meio filtrante agindo em série. Esses mecanismos influem diretamente no fluxo de permeado da membrana e dessa forma é gerada uma resistência (Barros et al., 2002)

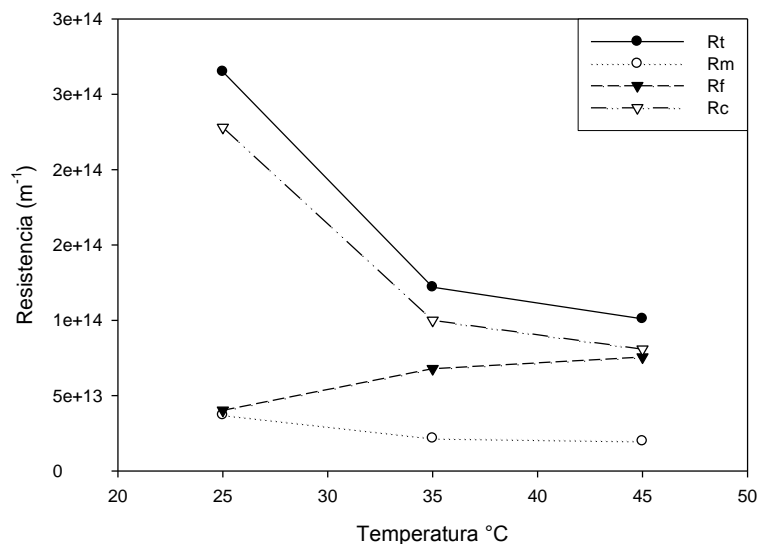


Figura 21. Efeito da Temperatura sobre as resistências as resistências total (R_t), membrana (R_m), fouling (R_f), e polarização por concentração (R_c) na Membrana de 10 kDa a 3,5 bar.

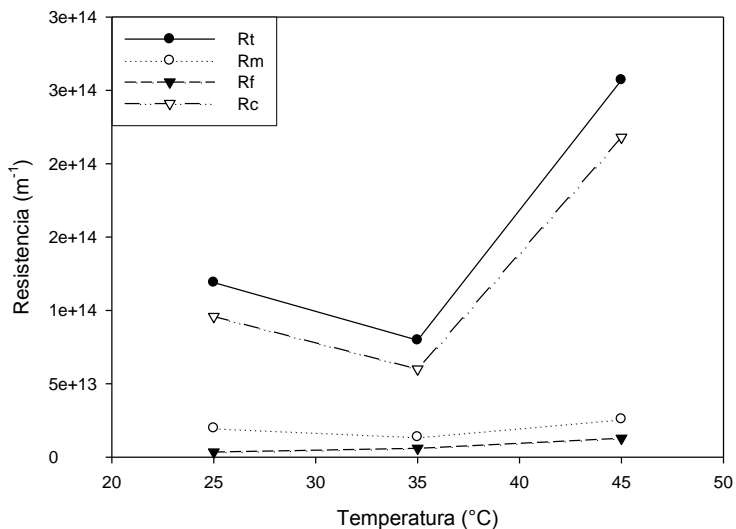


Figura 22. Efeito da Temperatura sobre as resistências as resistências total (R_t), membrana (R_m), fouling (R_f), e polarização por concentração (R_c) na Membrana de 30 kDa a 3,5 bar.

4.1.7. Análises físico-químicos dos extratos, retidos e permeados dos processos de UF

4.1.7.1. Viscosidade

As Figuras 23 e 24 mostram os valores de viscosidade nas diversas condições de separação. Na membrana de 10 KDa as maiores viscosidades corresponderam ao extrato a 25°C e 35°C de 1,42 e 1,41 mPa.s respectivamente, enquanto que para a membrana de 30 kDa, correspondeu ao extrato e ao retido a 25°C, de 1,36 mPa.s e 1.37 mPa.s. Brunetti (2008) menciona que a viscosidade dinâmica é diretamente proporcional à força de atração entre as moléculas. Com o aumento da temperatura, a força de atração diminui, diminuindo também a viscosidade dinâmica, e essa redução é atribuída ao aumento das distâncias intermoleculares provocadas durante o aquecimento. Cassano et al (2007) no estudo da ultra filtração de suco de kiwi obteve valores de viscosidade 1,455 (extrato), 1,451 (retido) e 1,427 mPa.s (permeado), apresentando um comportamento similar aos nossos resultados.

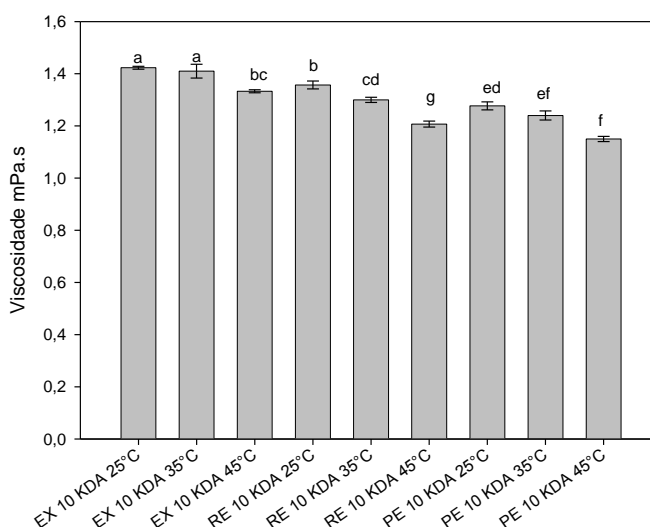


Figura 23. Viscosidades (mPa.s) no extrato, retido e permeado na separação por UF na membrana de 10 kDa a 25, 35 e 45°C. EX: Extrato, RE: Retido, PE: Permeado

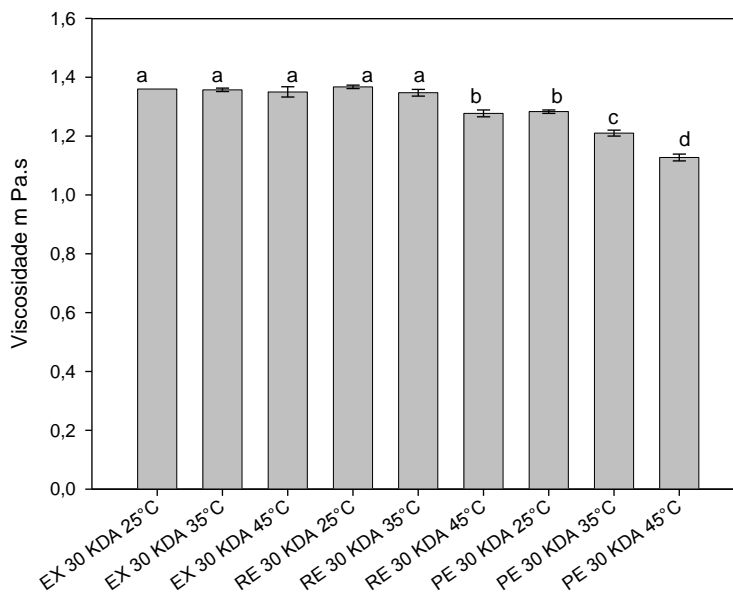


Figura 24. Viscosidade (mPa.s) no extrato, retido e permeado na separação por UF na membrana de 30 kDa a 25, 35 e 45°C. EX: Extrato, RE: Retido, PE: Permeado

4.1.7.2. Conteúdo de polifenóis totais

A Figura 25 apresenta a concentração de polifenóis totais (mg Ácido gálico (GA)/g amostra seca) obtidas no extrato, retido e permeado usando a membrana de 10 kDa. Os maiores teores de polifenóis foram obtidos a 25 °C no extrato e no retido, com valores de 10,89 e 7,84 mgGA/g amostra seca, valores menores ao encontrado para o extrato de casca de uva bordô por (Kuck et al., 2016) que foi de 26,26 mgGA/g amostra seca sendo que eles usaram diluição da casca em proporção (m/v) 1:3 e nosso estudo foi de 1:4. No entanto, (Pereira et al., 2011) reportou teores de polifenóis em cascas de uva nas variedades Isabel (2,46 mgGA/g amostra seca), Niagara (2,22 mgGA/g amostra seca), Benitaka (1,43 mgGA/g amostra seca) e Brasil (1,59 mgGA/g amostra seca). (Soares et al., 2008) reportou valores próximos de 1,93 mgGA/g amostra seca utilizando acetona como solvente em diferentes concentrações de extratos de casca de uvas Isabel e Niagara. (Souza et al., 2014) estudando o bagaço da uva seco por pulverização encontraram valores para compostos fenólicos entre 16,7 a 52 mgGA/g amostra seca.

Na figura 25 também se observa que as concentrações de polifenóis totais no extrato foram maiores do que no retido e do que no permeado. No retido, o aumento da temperatura de 25 a 35°C diminuiu significativamente a concentração de polifenóis, e no permeado as concentrações foram significativamente menores que no retido.

Na Figura 26 também é mostrada a concentração dos polifenóis totais nos experimentos realizados na membrana de 30 kDa, onde assim como na membrana de 10 kDa, verifica-se que as concentrações no extrato foram maiores do que no retido e do que no permeado. No retido se observa que com o aumento da temperatura de 25 para 35 °C aumentou a concentração de polifenóis, e no permeado a temperatura não teve influência na concentração dos polifenóis totais.

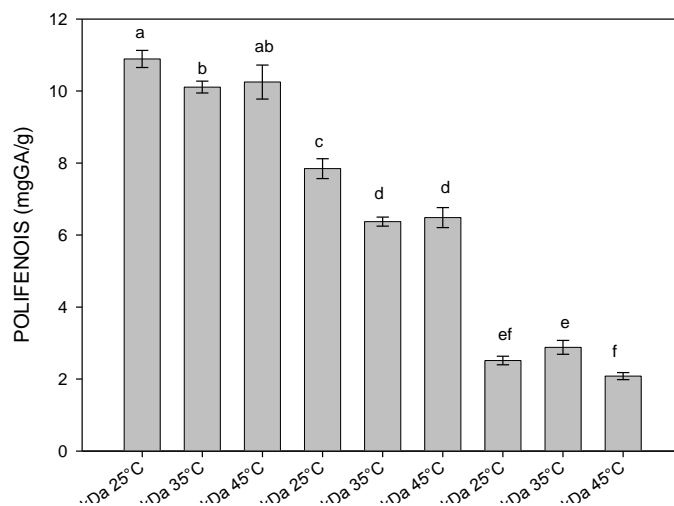


Figura 25. Resultados concentração de polifenóis (mg GA/g de amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 10 kDa.

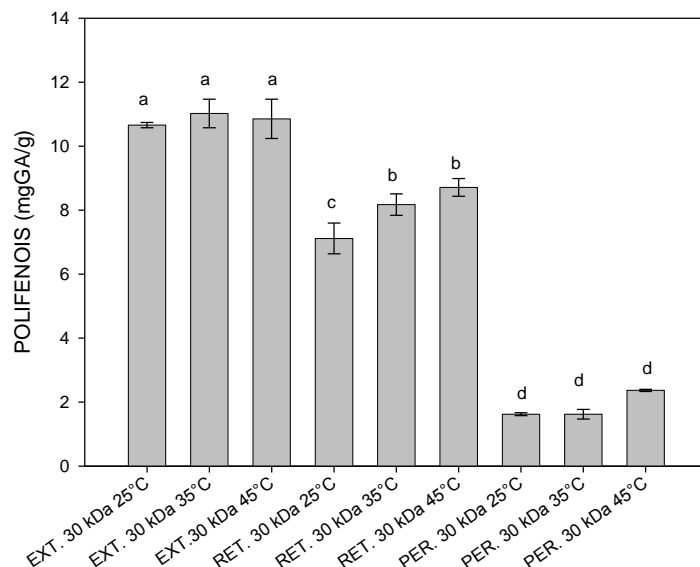


Figura 26. Resultados concentração de polifenóis (mg GA/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 30 kDa.

O aumento da temperatura de 25 a 35°C na membrana de 30 kDa influenciou significativamente no aumento da concentração de polifenóis no retido. Já no extrato e permeado não houve mudanças significativas na concentração de polifenóis influenciado pelo aumento da temperatura. Foi observado que durante o processo de ultrafiltração a concentração de polifenóis foi maior do que no permeado, também evidenciado na R_{obs} (%) de polifenóis totais e R_{obs} (%) de flavonoides com valores maiores do que 79%. A concentração no permeado foi muito baixa com respeito ao retido e o extrato.

Leidens et al. (2011) estudaram a separação de antocianinas do bagaço de uva mediante ultrafiltração com membranas PES de 10, 30 e 50 kDa, sendo que as membranas de 10 e de 30 kDa não foram adequadas para o fracionamento das antocianinas, já que as concentrações obtidas no permeado foram muito baixas. Zagklis et al. (2015) purificaram compostos fenólicos de uvas *marc merlot*, obtidas mediante extração com solventes, usando ultrafiltração a 1,0 bar e nanofiltração a 10 bar, obtendo uma redução da concentração de 35% e 95% nos compostos

fenólicos, em relação entre o permeado e extrato inicial, durante o processo na UF e na NF, respectivamente.

4.1.7.3. Flavonoides

As concentrações de flavonoides dos extratos na membrana de 10 kDa foram de 2,51, 2,30 e 2,45 mg de catequinas/g de amostra seca a 25, 35 e 45 °C, respectivamente. Katalinic´ et al. (2010) estudaram a composição fenólica, propriedade antioxidante e atividade antimicrobiana usando extração convencional etanol/água, a 60 °C por 60 minutos de casca de uva branca e vermelha de 14 espécies de variedades de *vitis vinifera* na Croacia, obtendo resultados de polifenóis de 0,875 mgGA/g para uva branca e 1,85 mgGA/g para uva vermelha e conteúdo de flavonoides de 0,47 mg equivalentes catequinas (CE)/g para uva branca e 0,77 mg equivalentes catequinas (CE)/g para uva vermelha. Valores superiores (0,98 a 3,02 mg catequina/g) foram encontrados por Liu et al. (2009) estudando 14 variedades de uvas cultivadas em Nova York (*Vitis vinifera*). Casagrande (2014) reportou para o extrato do bagaço de uva bordô teores de flavonoides de 2,40 mg quercitina/g, para o bagaço do suco, e de 1,40 mg quercitina/g para o bagaço do vinho. Essas diferenças encontradas em relação a outros estudos podem ser devido ao método de extração utilizado, as variedades, assim como ao método de cultivo.

Nas Figuras 27 e 28 se apresentam os teores de flavonoides na UF para as duas membranas. Os teores foram significativamente maiores no retido do que no permeado em todos os casos. Também verifica-se que a temperatura não influenciou significativamente na separação no extrato e no permeado.

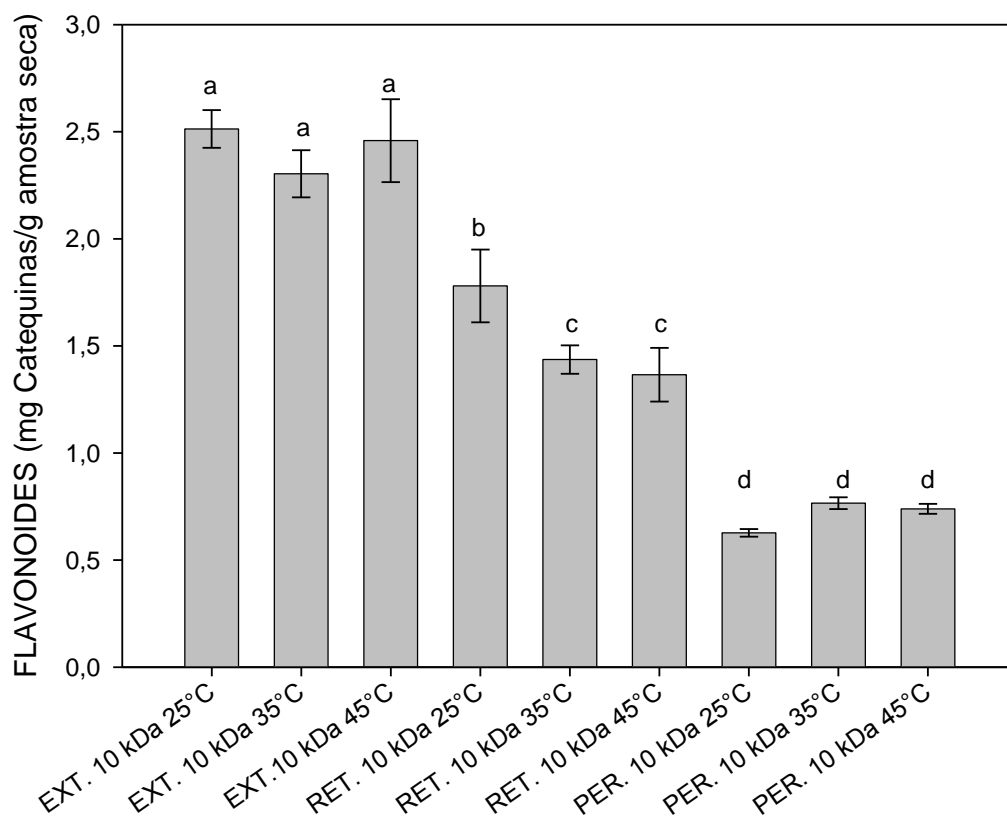


Figura 27. Concentração de flavonoides (mg CAT/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 10 kDa. EXT: Extrato, RET: Retido, PER: Permeado.

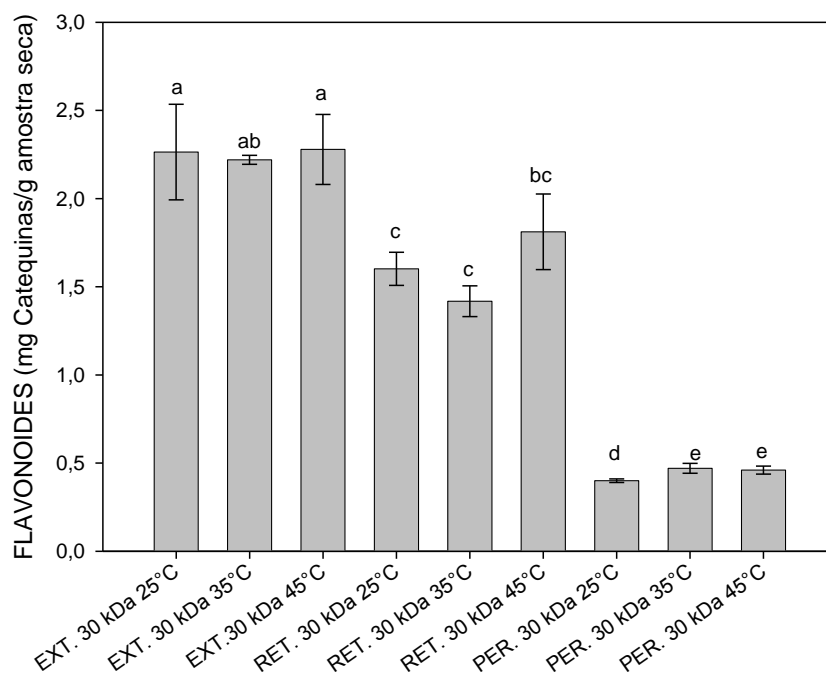


Figura 28. Concentração de flavonoides (mg CAT/g amostra seca) no extrato, retido e permeado na UF a 25, 35 e 45°C na membrana de 30 kDa. EXT: Extrato, RET: Retido, PER: Permeado.

Os resultados de retenção observada de flavonoides na membrana de 10 kDa foram de 75,30, 66,96 e 70,20 % a 25, 35 e 45 °C, respectivamente. Na membrana de 30 kDa as retenções foram de 79,20, 78,73 e de 79,74 %, a 25, 35 e 45 °C, respectivamente, mostrando assim a seletividade da membrana para esses compostos.

É importante indicar que durante o processo de separação por UF, deve ter havido perdas devido à exposição ao oxigênio que causam degradação dos polifenóis e flavonoides.

4.1.7.4. Fator de concentração volumétrico e Retenção observada

Os resultados obtidos do fator de concentração volumétrico (FCV) foram de 1,5 e 1,18 para as membranas de 10 e 30 kDa, tendo um percentual de redução de volume em um 13% para a membrana de 10 kDa e de 15% para a membrana de 30 kDa.

O FCV é um parâmetro importante de análise de dados, pois está diretamente associado ao fluxo de permeado, isto é, a medida que a solução é concentrada o fluxo de permeado diminui. No processo de concentração de um componente através da membrana, a concentração de um soluto varia em função da redução de volume e da retenção observada do soluto pela membrana (R_{obs}) (Tabela 4), que para este trabalho foi calculada com as concentrações de polifenóis totais e flavonoides.

Tabela 4. Retenção observada de flavonoides e polifenóis totais expressos em percentagem (%)

Temperatura °C	% R_{obs} Flavonoides		% R_{obs} Polifenóis	
	10 kDa	30 kDa	10 kDa	30 kDa
25	75,30	79,20	76,95	84,79
35	66,96	78,73	79,69	85,30
45	70,20	79,74	71,49	78,25

Nela se verifica uma alta retenção da membrana frente aos polifenóis no extrato. A R_{obs} é a capacidade seletiva da membrana em relação a uma dada espécie, no caso do extrato de casca de uva bordo foi analisado com respeito a polifenóis totais e flavonoides. A capacidade seletiva de membranas porosas é dependente da relação entre o tamanho das espécies presentes na solução de alimentação e o tamanho dos poros da membrana, da afinidade dessas espécies com o material da membrana e a difusão das mesmas através da membrana (Carvalho et al., 2014).

Analisando os resultados das variáveis estudadas para os processos das duas membranas de 10 e 30 kDa tais como fluxo de permeado, resistências, *fouling*, retenção de compostos fenólicos no retido, concentração de polifenóis nos permeados, recuperação da membrana, foi possível determinar que a membrana que apresenta melhores condições para a ultrafiltração de casca de uva bordô é a membrana de 10 kDa; tendo em conta que podem se fazer adequações ao processo para melhorar os resultados.

4.1.7.5. Capacidade Antioxidante ABTS^{•+}

Os resultados obtidos na determinação da capacidade antioxidante pelo método ABTS expressos em μmol Trolox equivalente/g amostra seca, para as amostras de extrato e permeados recolhidos da ultrafiltração, podem ser observados na Figura 29.

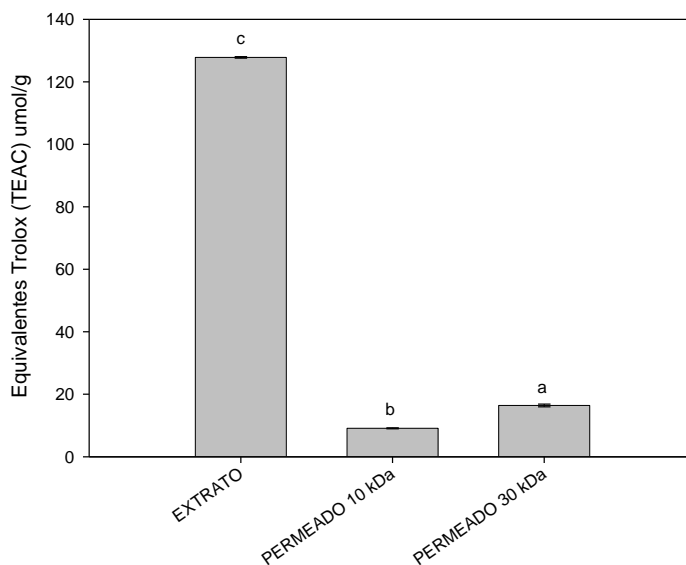


Figura 29. Capacidade antioxidante pelo método ABTS para o extrato e permeados das membranas de 10 e 30 kD. Temperatura: 25°C (μmol de Trolox equivalente/g de amostra seca).

No extrato, o valor de capacidade antioxidante foi de 127,80 $\mu\text{mol/g}$ amostra seca. (Kuck et al., 2016) determinou a capacidade antioxidante de extrato aquoso acidificado de casca de uva Bordô preparado em relação massa/volume 1:3 e obteve um valor similar de 128,12 $\mu\text{mol/g}$ amostra seca. No entanto, a atividade antioxidante no permeado foi baixa comparada com a do extrato, com valores de 9,10 e 16,41 $\mu\text{mol/g}$ amostra seca para as membranas de 10 e 30 kDa, respectivamente. Esses valores indicam que no permeado não se obteve uma boa separação e purificação dos compostos fenólicos, devido a diversos fatores tais como baixas pressões transmembrana, seletividade da membrana, baixo fluxo de permeado, *fouling*, polarização por concentração, entretanto de todos eles os três primeiros foram bastantes críticos no processo de separação. A correlação entre os teores dos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante em equivalentes de Trolox foi de 0,99 e de Flavonoides e capacidade antioxidante foi de 0,98. Muitos trabalhos relacionam a capacidade antioxidante com o conteúdo de polifenóis totais e as antocianinas (Frankel et al., 1995; Imeh et al., 2002; Pinelo et al., 2004; Roberts et al., 2003; Sun et al., 2002; Ursini et al., 1996), e cada componente fenólico pode contribuir de forma e proporção diferente, sendo que as amostras ricas em antocianinas apresentam maior capacidade antioxidante. (Lucile et al., 2007) É importante considerar que a correlação não depende só da concentração e a qualidade antioxidante, também da sua interação com outros componentes e a metodologia aplicada para análise. (Jara-Palacios et al., 2014) apresentaram valores de ABTS em variedades de cascas de uvas brancas da Espanha na faixa de 225 a 594,2 $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$; (Cataneo et al., 2008) estudaram extratos de bagaço de uva Bordô Courderc em acetona obtendo valores de 42,69 a 98,92 $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$. (Cataneo et al., 2008) reportaram valores entre 347,88 a 463,46 $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$ em bagaço de uva escura da variedade Pinot Gris.

4.2. Microencapsulação do permeado do processo de UF

4.2.1. Análises Físicas

Foi realizada secagem por atomização do permeado obtido nos experimentos de UF de extrato de uva Bordô com as membranas de 10 e 30 kDa a 25 °C. Os experimentos foram conduzidos a 140°C e os materiais de parede empregados foram goma Arábica 15% e polidextrose 15%.

As amostras em pó resultantes apresentaram a forma de pó fino e solto, com cor de rosa claro.

A Tabela 5 apresenta os resultados das análises físicas realizadas a microcápsulas. Para os teores de umidade, observa-se que houve diferença significativa na umidade ao mudar o material de parede na atomização. Os teores de umidade obtidos variaram de 3,29 e 3,90%. Resultados similares foram encontrados por Moreira et al. (2007) para extratos de bagaço de acerola, secos em spray dryer com diferentes porcentagens de encapsulante, com umidade variando de 3,09 a 5,43%. Silva et al. (2013) em pó de extrato de jaboticaba obtiveram umidades de 2,11 a 5,31%. Kuck e Noreña (2016) realizaram a microencapsulação do extrato de casca de uva Bordô usando goma arábica, polidextrose e goma guar parcialmente hidrolisada, reportando valores para umidade entre 2,41 e 2,47%. Valores similares foram encontrados por Valduga et al. (2008) ao secar extrato de bagaço de uva Isabel em spray dryer com maltodextrina e goma arábica com valores de umidade menores que 5% e atividade de água de 0,266.

Os valores de atividade de água (a_w) das amostras variaram de 0,13 a 0,18, estando abaixo do valor de 0,3 que garante o não crescimento de microorganismos e retardo no escurecimento não enzimático (Fennema, 1993). Kuck et al (2016) analisaram atividade de água em pós de extrato de casca de uva bordô encontrando valores de atividade de água entre 0,16 e 0,36.

A utilização de temperaturas altas resulta em um maior gradiente de temperaturas entre o produto e o ar de secagem, acarretando em uma maior

transferência de calor, e conseqüentemente, uma maior evaporação de água do produto, ocasionando umidades mais baixas (Rattes e Oliveira, 2007).

Tabela 5. Análises das microcápsulas obtidas do processo de secagem por atomização.

AMOSTRA	UMIDADE %MS	SOLUBILIDADE %	ATIVIDADE AGUA	HIGROSCOPICIDADE
PERMEADO 10 KDA				
Goma Arábica (15%)	3,79 ± 0,47 ^a	97,86 ± 2,72 ^a	0,15 ± 0,00 ^a	15,50 ± 0,05 ^b
Polidextrose (15%)	3,29 ± 0,17 ^b	96,80 ± 3,17 ^a	0,13 ± 0,00 ^b	17,27 ± 0,16 ^a
PERMEADO 30 KDA				
Goma Arábica (15%)	3,90 ± 0,64 ^a	99,20 ± 0,11 ^a	0,155 ± 0,00 ^a	15,07 ± 0,38 ^b
Polidextrose (15%)	3,61 ± 0,19 ^b	99,60 ± 0,56 ^a	0,182 ± 0,00 ^c	16,78 ± 0,16 ^a

Média ± Desvio Padrão. MS: matéria seca. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Ao analisar a solubilidade dos pós pode ser observado que não houve diferença significativa entre as mudanças de material de parede ou de membranas sendo que os valores de solubilidade ficaram na faixa de 96,8 a 99,6%. Kuck et al (2016) obtiveram valores similares na encapsulação com polidextrose, goma arábica ou goma guar parcialmente hidrolisada de extrato de casca de uva bordo com solubilidade entre 94,30 e 97,99%. Bernstein e Noreña (2015), na atomização do extrato de repolho roxo usando temperaturas de 140 e 160°C, goma arábica e polidextrose como material de parede, nas concentrações de 10 e 15%, produziram pós com alta solubilidade em água, maiores que 98,85%, sendo a goma arábica ligeiramente mais solúvel que a polidextrose. Cano-Chauca et al. (2005) na atomização de suco de manga, também obtiveram valores de solubilidade acima de 90% para os pós produzidos com maltodextrina e goma arábica.

Quanto à higroscopicidade, os pós com polidextrose foram significativamente mais higroscópicos que os de Goma arábica. Rigon e Noreña (2015) na secagem de extrato de amora preta por atomização, nas temperaturas de 140 e 160°C, usando goma Arábica e polidextrose em concentrações de 10 e

15%, obtiveram valores de higroscopicidade próximos de 15%. Kuck et al (2016) encontraram valores de higroscopicidade entre 11,67 e 16,61% atomizando extrato de casca de uva bordô, usando como materiais de parede povidexrose, goma arábica e goma guar parcialmente hidrolisada.

4.2.2. Colorimetria

Os resultados das análises de cor dos pós microencapsulados é mostrada na Tabela 6. O parâmetro L^* , que mede luminosidade de 0 (preto absoluto) a 100 (branco total), mostrou que o menor valor de L^* significativo correspondeu ao tratamento das amostras atomizadas com povidexrose, obtidas dos permeados da membrana de 30 kDa, enquanto que os pós obtidos com goma arábica e permeados da membrana de 10 kDa apresentou o maior valor de L^* . Também é de indicar que a presença do agente encapsulante resulta num aumento do parâmetro L^* , uma vez que ambos os materiais de parede apresentam cor branca (92,46 e 93,69, para a goma Arábica e povidexrose, respectivamente) e, dessa forma, diluem a coloração roxa característica da uva (Quek et al., 2007; Caliskan e Dirim, 2013). Um comportamento similar observou Bernstein et al (2015) ao avaliar o parâmetro L^* em pós de extratos de antocianinas de repolho roxo, onde os valores de L^* foram de 75,79 com 15% de goma arábica e de 73,32 com 15% de povidexrose atomizados a 140°C.

Tabela 6. Parâmetros de cor CIELab, nas amostras encapsuladas do permeado do extrato de uva obtido das membranas de 10 e 30 kDa.

Tratamento	L^*	a^*	b^*	Chroma	Hue (°)
Pó GA 10 kDa	86,02 ± 0,18 ^a	11,98 ± 0,16 ^d	-1,22 ± 0,02 ^b	12,04 ± 0,16 ^c	350,24 ± 0,10 ^a
Pó GA 30 kDa	81,75 ± 0,04 ^b	15,29 ± 0,19 ^c	-3,12 ± 0,05 ^d	15,61 ± 0,19 ^b	355,16 ± 0,04 ^a
Pó PD 10 kDa	82,00 ± 0,26 ^b	17,52 ± 0,07 ^b	-0,67 ± 0,03 ^a	17,53 ± 0,07 ^b	333,83 ± 1,07 ^b
Pó PD 30 kDa	80,41 ± 0,40 ^c	21,19 ± 0,18 ^a	-2,23 ± 0,05 ^c	21,31 ± 0,18 ^a	350,51 ± 0,14 ^a

Média ± Desvio Padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Tukey

Os parâmetros a^* e b^* apresentam diferenças significativas entre todos os tratamentos. Eles indicam que as amostras possuem cores entre vermelho e o azul. Quanto ao parâmetro de tonalidade *Hue*, os resultados também indicam que as amostras se encontram no quarto quadrante do círculo cromático de cores (entre vermelho e o azul). Para o *Chroma* os pós obtidos com povidexose foram mais saturados.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir:

1. Os perfis de fluxo de permeado observado para todos os ensaios de Ultrafiltração consistiram de dois períodos, um de decaimento do fluxo, nos instantes iniciais de separação, e um segundo de fluxo de permeado em estado estacionário;
2. A melhor condição de separação foi de 3,5 bar de pressão transmembrana e temperatura de 25°C. Nessas condições, a membrana de 30 kDa apresentou maior fluxo de permeado comparado com a membrana de 10 kDa;
3. As permeabilidades hidráulicas para as membranas novas de 10 e 30 kDa foram 10,96 e 20,52 L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹, respectivamente;
4. As porcentagens de *fouling* foram de 85,9 e 89,6% para as membranas de 10 e de 30 kDa, respectivamente, e após limpeza química das membranas resultaram em uma recuperação de fluxo de 63,2 e 80,9%;
5. Da análise das resistências ao fluxo, comprovou-se que a maior contribuição de resistência foi dada pela resistência à polarização por concentração (de 60 a 90% da resistência total), em quanto que a resistência causada pelo *fouling* foi a menor (de 1 a 16% da resistência total);
6. Os maiores valores de concentração de polifenóis a 25 °C no extrato e no retido, na membrana de 10 kDa foram 10,89 e 7,84 (mg GA/g amostra seca) respectivamente, já na membrana de 30 kDa a 25°C os valores foram 10,66 e 7,12 (mg GA/g amostra seca) para o extrato e o retido, apresentando valores menores de concentração de polifenóis no retido a 25 °C do que nas temperaturas de 35 e 45°C;
7. Quanto aos flavonoides, os teores obtidos no retido, permeado e extrato na membrana de 10 kDa foram de 1,78, 0,63 e 2,51, enquanto que na membrana de 30 kDa foram de 1,60, 0,40 e 2,26 mg Catequinas/g amostra seca, respectivamente;
8. O valores de retenção observada a 25°C para os polifenóis totais foram de 76,95 e 84,79%, e para os flavonoides de 75,30 e 79,20% para as membranas de 10 e 30 kDa, respectivamente;

9. As capacidades antioxidantes no permeado foram de 9,10 e 16,41 μmol de Trolox equivalente/g amostra seca para as membranas de 10 e 30 kDa, respectivamente, e para o extrato foi de 127,80 $\mu\text{mol/g}$ amostra seca;
10. A membrana que apresenta melhores condições para a ultrafiltração de casca de uva bordô é a membrana de 10 kDa;
11. As micropartículas provenientes da secagem por atomização a 140°C do permeado das membranas de 10 e 30 kDa, utilizando como agentes encapsulantes goma arábica e polidextrose 15%, resultaram em teores de umidade na faixa de 3,29 e 3,90%, e atividades de água de 0,129 a 0,182, respectivamente;
12. As solubilidades das micropartículas obtidas, não apresentaram diferenças significativas com a mudança de agente encapsulante e do permeado, com valores na faixa de 96,8 a 99,6%;
13. Os pós encapsulados com polidextrose foram significativamente mais higroscópicos que os de Goma arábica;
14. Os parâmetros de cor a^* e b^* indicam que as amostras possuem cores entre vermelho e o azul, e de acordo com o *Chroma* os pós obtidos com polidextrose foram mais saturados do que os pós encapsulados com goma Arábica. Quanto ao parâmetro de tonalidade *Hue*, os resultados também indicam que as amostras se encontram no quarto quadrante do círculo cromático de cores (entre vermelho e o azul).

PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar ao extrato pré-tratamentos como:

- Reações químicas e enzimáticas
- Centrifugação
- Pré-filtração

Outros métodos que podem ser usados para o melhor desempenho do processo podem ser:

- Diafiltração
- Microfiltração prévio ao processo de Ultrafiltração
- Módulos adicionais para aumentar área da membrana e volume de permeado
- Adaptações técnicas no equipamento para conseguir atingir uma pressão maior e aumento da velocidade tangencial

Realizar análises fenólicos nos pós e pesquisa mediante métodos cromatográficos para conhecer os compostos fenólicos existentes no permeado ou pó.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilo-Aguayo, I., SolivA-Fortuny, R. and Martin-Belloso, O. (2010). Optimizing critical high-intensity pulsed electric fields treatments for reducing pectolytic activity and viscosity changes in watermelon juice. *Eur. Food Res. Technol.* 231, 509–517.
- Agüero, M.R., Ansorena, S.I., Roura, C.E.V. (2008). Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash. *Food Science and Technology*, 41, 401– 407.
- Almond, B.A., Hadba, A.R., Freeman, S.T., Cuevas, B.J., York, A.M., Detrisac, C.J., Goldberg, E.P. (2003). Efficacy of mitoxantrone-loaded albumin microspheres for intratumoral chemotherapy of breast cancer. *Journal of Controlled Release*, 91(1), 147-155.
- Anderson, D.M.W., Howlett, J.F., Mcnab, C.G.A. (1985). The amino acid composition of the proteinaceous component of gum arabic (*Acacia senegal* (L.) Willd.). *Food Addiction Contamination*, 2(3), 159-164.
- Anjo, D. F. C. (2004). Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. *Jornal Vascular Brasileiro*, 3(2), 145-154.
- AOAC (Association Official Agriculture Chemistry). (1995). Official methods of analysis of AOAC international. T.R.Mulvaney, Arlington, VA, 2(16), 1141p.
- Arts, I.C., Van de Putte B., Hollman, P.C. (2000). Catechin contentes of foods commonly consumed in The Netherlands. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1746-1751.
- Arts, I.C., Hollman, P.C., Feskens, E.J., De Mesquita, H.B.B., Kromhout, D. (2001). Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(2), 227-232.
- Aydiner, C. (2010). A novel approach based on distinction of actual and preudo resistances in membrane fouling: “Pseudo resistance” concept and it’s implementation in nanofiltration of single solutions. *Journal of Membrane Science*, 361, 96-112.
- Azeredo, H.M.C. (2005). Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição*, 16(1), 89-97.

- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Baliga, M.S., Meleth, S., Katiyar, S.K. (2005). Growth inhibitory and antimetastatic effect of green tea polyphenols on metastasis-specific mouse mammary carcinoma 4T1 cells in vitro and in vivo systems. *Clinical Cancer Research*, 11, 1918–1927.
- Barreiros, A.L.B.S., David, J.M., David, J.P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29(1), 113-123.
- Barros, S.T.D. (2002). Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: Modelagem e Simulação do Fluxo de Permeado e Determinação dos Mecanismos de Fouling. Tese (Doutorado), DTP/Unicamp, Campinas, 258p.
- Bartosz, G. (1997). Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19(1), 47–64.
- Bavaresco, L. (2003). Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 29(5-6), 181-187.
- Bernstein, A., Noreña, C.P.Z. (2015). Thermodynamic sorption of red cabbage extract (*Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. rubra) encapsulated by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8180-8187.
- Bernstein, A., Noreña, C.P.Z. (2015). Encapsulation of Red Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. rubra) Anthocyanins by Spray Drying using Different Encapsulating Agents. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(6), 944-952.
- Bertelli, A., Bertelli A.A, Gozzini, A., Giovannini, L. (1998). Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, 24,133-138.
- Bhat, K.P., Pezzuto, J.M. (2002). Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 210-229.
- Blackwell, W. (2014). Nano and microencapsulation for foods. Edited by Hae-Soo Kwak. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1, 641p.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18(1), 1-29.

- Borsi, I.; Caretti, C.; Fasano, A.; Heijnen, M.; Lubello, C. (2012). Optimization of hollow fibers membrane wastewater treatment: An experimental study. *Deslination*, 302, 80-86
- Boyer, J., Liu, R. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Journal of Nutrition*, 3(5), 1-15.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317- 333.
- Brazel, C.S. (1999). Microencapsulation: Offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World*, 44(6), 388-393.
- Brites, M.L. (2013). Separação de frutooligossacarídeos a partir do yacon (*Smallanthus sonchifolius*) por ultrafiltração e encapsulamento por atomização. Dissertação (Mestrado PPGCTA), UFRGS: Porto Alegre. 147p.
- Brunetti, F. (2008). *Mecânica dos Fluidos*. Pearson Prentice Hall: São Paulo, 431p.
- Bruno, G., Sparapano, L. (2007). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4), 210-229.
- Cabrita, M.J., Ricardo-da-Silva, J., Laureano, O. (2003). Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. I Seminário Internacional de Vitivinicultura. Anais, Ensenada, México, 42p.
- Caliskan, G., & Dirim, S. N. (2013). The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 539-548.
- Camargo, U.A. Suco de uva: matéria-prima para produtos de qualidade e competitividade. (1994). In: Congresso Latino-americano de viticultura e enologia, Anais, Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 10, 195-199.
- Camargo, U.A., Nachtigal, J.C., Schneider, E.P. (2007). Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <http://hortibrasil.com.br/jnw/images/stories/Uva/u.187.pdf>>. Acesso em: 2 Jun 2014.
- Camargo, U. A., Dias, M. F. (1986). Identificação ampelografica de videiras americanas e hibridas cultivadas na MRH 311. Circular Técnica-Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho (Brazil), Circular técnica 12, 40.

- Campos, P., de Toledo, U. C., Módenes, A. N., de Toledo, U. C., Trigueros, D. E. G., de Toledo, U. C., ... & de Barros, S. T. D. (2013). Análise do fouling na ultrafiltração do suco de uva. *Revista Varia Scientia Agrárias* 03(2), 67-80
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.
- Carneiro, L., Sá, I.S., Gomes, F.S., Matta, V.M., Cabral, L.M.C. (2002). Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration. *Desalination*, 148, 93-98.
- Carvalho, A.A.B. (2014). Recuperação e purificação de biomassa das microalgas de *Chlorella* sp. e *Dunaliella tertiolecta* utilizando microfiltração tangencial. Dissertação (Mestrado PPGDEQ), UFRGS: Porto Alegre. 119p.
- Carvalho, V. (1972). Algumas Características de Uvas Cultivadas no Município de Caldas – MG, com Vista ao Aproveitamento Industrial do Produto. São Paulo: Universidade de São Paulo, 65p.
- Casagrande, M. (2014). Avaliação do potencial antioxidante de coprodutos de indústrias de suco de uva e de vinho visando sua aplicação em linguiça de frango.
- Cassano, A., Conidi, C., Drioli, E. (2010). Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) using membrane processes. *Journal of Food Engineering*, 107, 366–373.
- Cassano, A., Conidi, C., Timpone, R., D'avella, M., Drioli, E. (2007). A membrane-based process for the clarification and the concentration of the cactus pear juice. *Journal of Food Engineering*, 80, 914-921.
- Cassano, A., Donato, L., Drioli, E. (2007). Ultrafiltration of kiwifruit juice: Operating parameters, juice quality and membrane fouling. *Journal of Food Engineering*, 79, 613–621.
- Cassano, A., Mecchia, A., Drioli, E. (2008). Analyses of hydrodynamic resistances and operating parameters in the ultrafiltration of grape must. *Journal of Food Engineering*, 89(2), 171-177.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, L., Páez-Hernández, M.M.E., Rodríguez, J.A., Galán-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871.

- Cataneo, C.B., Caliarì, V., Gonzaga, L.V., Kuskoski, E.M., Fett, R. (2008). Atividade antioxidante e conteúdo fenólico de resíduo agroindustrial da produção de vinho. *Semina: Ciências Agrárias*, 29, 93-120.
- Chakrabarty, B., Ghoshland A.K., Purkait, M.K. (2008). Ultrafiltration of stable oil-in-water emulsion by polysulfone membrane. *Journal of Membrane Science*, 325(1), 427-437.
- Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Boca Ratón, FL: CRC Press, (2), 529p.
- Cheryan, M. (1986). *Ultrafiltration Handbook*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, 375p.
- Cheryan, M., Alvarez, J.R. (1995). Food and beverage industry applications. In: *Membrane Separations Technology. Principles and Applications*. Edited by R.D. Noble, S.A., Elsevier Science B.V. 717p.
- Constant, P.B., Stringheta, P.C. (2002). Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 36(1), 12-18.
- Cortell, J.M., Kennedy, J.A. (2006). Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot Noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8510-8520.
- Czekaj, P., López, F., Güell, C. (2001). Membrane fouling by turbidity constituents of beer and wine: characterization and prevention by means of infrasonic pulsing. *Journal of Food Engineering*, 49, 26–36.
- Dani, C., Oliboni, L.S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., Henriques, J.A.P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2574–2580.
- D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali Del Istituto Superiore di Sanità*, 43(4), 348–361.
- DBD Filtros. Processo Tangencial. Disponível em: <www.dbdfiltros.com.br/imagens/filtracaoTangencial.jpg>. Acesso em: Julho 2013
- De Barros, S.T.D., Campos, P.A., Nivaldo, M.D., Trigueros, E.G., Espinoza, F.R., Quinones, N., Curvelo, P.S. (2013). Análise do fouling na ultrafiltração do suco de uva. *Revista Varia Scientia Agrárias*, 3(2), 67-80.

- De Barros, S.T.D., Andrade, C.M.G., Mendes, E.S., Peres, L. (2003). Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*, 1(2), 213-224.
- De Bruijn, J., Venegas, A., Borquez, R. (2002). Influence of crossflow ultrafiltration on membrane fouling and Apple juice quality. *Desalination*, 148(1-3), 131-136.
- Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B., Latruffe, N. (2006). Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer. *Current Drug Targets*, 7(4), 423-442.
- Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A. (2000). Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews*, 13(1), 79-106.
- Dziezak, J.D. (1988). Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*, 42(4), 136-151.
- Dziezak, J.D. (1990). Membrane separation technology offers processors unlimited potential. *Food Technology*, 44(9), 108-113.
- Eisen, B., Ungar, Y., Shimoni, E. (2003). Stability of isoflavones in soy milk stored at elevated and ambient temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2212-2215.
- Euromonitor: Health and wellness in Brazil. Report. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/health-and-wellness-in-brazil/report>>. Acesso em: Set. 2015
- Euromonitor: Top five functional trends for 2013. Emerging vs developed markets. Disponível em: <<http://blog.euromonitor.com/2013/01/top-five-functional-trends-for-2013-emerging-vs-developed-markets.html>>. Acesso em: Set. 2015
- Eurotherm: Processo de secagem por atomização. Disponível em: <http://www.eurothermltda.com.br/lifesciences/aplicacoes_secspra.htm>. Acesso em: Maio 2015.
- Fakhouri, F. M.(2005). Aceitação e intenção de compra de massas alimentícias frescas enriquecidas com extratos vegetais In: *Anais do Simpósio Latino-Americano De Ciência De Alimentos*, Slaca, 6°, Campinas.
- FAO. Faostat agriculture data – crops and crops processed – grape an wine. Disponível em: <http://apps.fao.org>. Acesso em: set. 2015.

- Favaro-Trindade, C.S., Pinho, S.C., Rocha, G.A. (2008). Review: microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2), 103-112.
- Fenemma, O.R. (1993). *Química de Alimentos*, Madison: Acribia Editorial, S.A, (2), 1258p.
- Francis, F.J. (2000). Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, 45, 208-213.
- Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Teissedre, P.L. (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 890-894.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Gibbs, B.S., Kermasha, S., Alli, C.N. Mulligan, B. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), 213-224.
- Giovannini, E. (1999). *Produção de Uva para Vinho, Suco e Mesa*. Porto Alegre: Renascença, 364p.
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14, 217-225.
- Gresele, P., Cerlettib, C., Guglielminia, G., Pignatellia, P., Gaetanob, G., Violic, F. (2011). Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *Journal Nutrition and Biochemistry*, 22, 201-211.
- Goosen, M.F.A., Sablani, S.S., Al-Maskari, S.S., Al-Belushi, R.H., Wilf, M. (2002). Effect of feed temperature on permeate flux and mass transfer coefficient in spiral-wound reverse osmosis systems. *Desalination*, 144, 367-372.
- Grigoletti Jr., A., Sônego, O.R. (1993) Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Bento Gonçalves, EMBRAPA-CNPV, 36p.
- Habert, A.C., Borges, C.P., Nóbrega, R. (2006). *Processos de separação com membranas*. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda, 180p.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford: University Press, 2, 543p.

- Hemingway, R.W. (1981). Bark: its chemistry and prospects for chemical utilization. In: Organic Chemicals from Biomass, Goldstein, IS (ed.), Boca Raton, 190-248p.
- Hoffmann, A., Camargo, U. A., Maia, J. (2005). DG Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do Brasil. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção 9, Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/UvasRusticasParaProcessamento>, Acesso em: 15 jul. 2014.
- Husain, S.R., Cillard, J., Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26(9), 2489-2491.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126, 1821–1835.
- Imeh, U., Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6301- 6306.
- Iversen, C.K. (1999). Black currant nectar: effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *Journal of Food Science*, 64, 37–41.
- Jackson, L.S., Lee, K. (1991). Microencapsulation and the food industry. *LWT – Food Science and Technology*, 24, 289-297.
- James, B.J., Jing, Y., Chen, X.D. (2003). Membrane fouling during filtration of milk – a microstructural study. *Journal of Food Engineering*, 60, 431-437.
- Jara-Palacios, M. J., Gordillo, B., González-Miret, M. L., Hernanz, D., Escudero-Gilete, M. L., & Heredia, F. J. (2014). Comparative study of the enological potential of different winemaking byproducts: implications in the antioxidant activity and color expression of red wine anthocyanins in a model solution. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(29), 6975-6983.
- Jegatheesan, V., Phong, D.D., Shu, L., Aim, R.B. (2009). Performance of ceramic micro-and ultrafiltration membranes treating limed and partially clarified sugar cane juice. *Journal of Membrane Science*, 327(1), 69-77.
- Jie, Z. (2000). Studies on the effects on the polidextrose intake on physiologic functions on Chinese people. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(6), 1503-1509.
- Jiratananon, R., Chanachai, A. (1996). A study of fouling in the ultrafiltration of passion fruit juice. *Journal of Membrane Science*, 111, 39-48.

- Jiratananon, R., Uttapap, D., Tangamornsuksun, C. (1997). Self-forming dynamic membrane ultrafiltration of pineapple juice. *Journal of Membrane Science*, 129, 135-143.
- Katalinić, V., Možina, S.S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, 119(2), 715-723.
- Kelly, P.M., Mehra, R., Oldfield, D.J., Raggett, E., O'Kennedy, B.T. (2000). Implementation of integrated processes for pilot scale development of fractionated milk components. *Le Lait*, 80 (1), 139-153
- Kenyon, M.M. (1995). Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: Risch, S.J., Reineccius, G.A. *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington, DC: ACS, (ACS Symposium. Series, 590, 42-50.
- Kuberkar, V., Davis, R.H. (2000). Modeling of fouling reduction by secondary membranes. *Journal of Membrane Science*, 168, 243-258.
- Kuck, L.S., Noreña, C.P.Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca var. Bordo*) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569-576.
- Lee S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K.G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum*) and thyme leaves (*Thymes vulgaris L.*) and their antioxidante properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131-137.
- Leidens, N. (2011). Extração, purificação e fracionamento das antocianinas do bagaço de uva. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Engenharia. Trabalho de conclusão de curso (Curso de graduação DEQUI), 45p.
- Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. (2008). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 28(11), 729-737.
- Leja, M., Mareczek, A., Roz, S. (1996). Quality changes in lettuce heads stored in a controlled atmosphere. II. Phenolic metabolism and ethylene evolution. *Folia Horticulturae*, 8(2), 83-9.
- Li, B.L., Wang, D., Li, B., Bhandari, S., Jun, Y., Lan, X., Chen Z.M. (2009). Fabrication of starchbased microparticles by an emulsification-crosslinking method. *Journal of Food Engineering*, 92(3), 250-254.

- Li Z-y., Yang Y., Ming M., Liu B. (2011). Mitochondrial ROS generation for regulation of autophagic pathways in cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 414: 5–8.
- Liikanen, R., Yli-Kuivila, J., Laukkanen, R. (2002). Efficiency of various chemical cleanings for nanofiltration membrane fouled by conventionally-treated surface water. *Journal of Membrane Science*, 195, 265–276.
- Lucile Tiemi, A. B. E., da Mota, R. V., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2007). Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciênc. tecnol. aliment*, 27(2), 394-400.
- Maartens, A., Jacobs, E.P., Swart, P. (2002). UF of pulp and paper effluent: membrane fouling-prevention and cleaning. *Journal of Membrane Science*, 209, 81-92.
- Madene, A. (2006). Flavor encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1-21.
- Makris, D.P., Boskou, G., Andrikopoulos, N.K., Kefalas, P. (2008). Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in grape (*Vitis vinifera* cv. Roditis) stems by liquid chromatography-mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1075-1079.
- Mansur, M. M. (2010). Antioxidant Properties of no-Alcoholic Red Grape Products: Red Grape Juices and Vinegars. *Journal of Medicinal Food*.
- Marshall, A.D., Daufin, G. (1995). Physical-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. In: *Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes*. Brussels: International Dairy Federation, 95(4), 8-35.
- Maubois J.L. (1980). Ultrafiltration of whey. *Journal of the Society of Dairy Technology* 35, 55-58
- Mello, B.C., Barros, P.S, Cunha, J.C, Hubinger, M.D. (2015). Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30(1), 166-172.
- Mello, L.M.R. (2012). Atuação do Brasil no mercado vitivinícola mundial: panorama 2011. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Comunicado Técnico, 116p.
- Mello, L.M.R. (2013). Vitivinicultura brasileira: panorama 2011. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Comunicado Técnico 115, 1-4.
- Mello, L.M.R, Almeida, G.D.S. (2014). Disponibilidade e Características de Resíduos Provenientes da Agroindústria de Processamento de Uva do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, RS, Comunicado técnico 155, 1-6.

- Mello, L.M. (2014). Panorama da Vitivinicultura brasileira. Hortifruti. Bento Gonçalves, RS, 1-4.
- Ministerio da agricultura, pecuaria e abastecimento MAPA (2015). Confederação da agricultura e pecuaria do Brasil. Balanço 2014-Perspectivas 2015. Disponível em: http://canaldoprodutor.com.br/files/Documento_Completo_balanco2014_perspectiva2015_web.pdf>. Acesso: Setembro 2015.
- Moreira, G. E. G. (2007). Obtenção e caracterização de extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola.
- Motlagh, S., Ravines, P., Karamallah, K. A., & Ma, Q. (2006). The analysis of Acacia gums using electrophoresis. *Food hydrocolloids*, 20(6), 848-854.
- Mulder, M. (1991). Basic principles of membrane technology, Kluwer Academics Publishers Group, Netherlands, 2, 563p.
- Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4669-4674.
- Nigam, M.O., Bansal, B., Chen, X.D. (2008). Fouling and cleaning of whey protein concentrate fouled ultrafiltration membranes. *Desalination*, 218(1), 313-322.
- Ndiaye, C., Xu, S. Y., & Wang, Z. (2009). Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*, 113(1), 92-95.
- Ostergaard, B. (1989). Applications of Membrane Processing in the Dairy Industry. In: MacCarthy, D. Concentration and Drying of Foods. Oxford: Elsevier Applied Science Publishers, p. 133-145.
- Parra, R.A. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, 63(2), 5669-5684.
- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C.C., Sellappan, S., Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5497-5503.
- Pereira, G. E.; Araújo, A. J. B.; Santos, J.; Vanderlinde, R.; Lima, L. L. A. (2011) Chemical and aromatic characteristics of Brazilian tropical wines. *Acta horticulturae*, 910, 135-140.

- Pfizer. (1978). Inc. Polidextrose food additive petition. New York: Pfizer Inc. FDA petition 9A3441.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Pimentel, C. V. M. B., Francki, V. M., Gollücke, A. P. B. (2005). *Substâncias bioativas em alimentos funcionais*. São Paulo: Varela, 95p.
- Pinelo, M., Monzocco, L., Nuñez, M.J., Nicoli, M.C. (2004). Interaction among phenolics in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1177-1180.
- Porter M. C. (1990). "Handbook of Industrial Membrane Technology", Noyes Publications, Park Ridge, NJ, United States of America, 156-160
- Prozesstechnik. (2013) Separation range of reverse osmosis, nano-, ultra- and microfiltration. Disponível em: <http://www.psprozesstechnik.com/en/membrane-technology.html>>. Acesso em: Julho 2013
- Pubchem. (2016). National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database, Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281855>> Aceso em: Abril 26, 2016
- Rai, P., Majumdar, G.C., Gupta, S.D., De, S. (2007). Effect of various pretreatment methods on permeate flux and quality during ultrafiltration of mosambi juice. *Journal of Food Engineering*, 78(2), 561-568.
- Randall, R.C., Phillips, G.O., Williams, P.A. (1988). The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 2(2), 131-140.
- Rasmussen, S.E., Frederiksen, H., Struntze Krogholm, K., Poulsen, L. (2005). Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(2), 159-174.
- Rattes, A.L.R., Oliveira, W.P. (2007). Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. *Powder Technology*, 171(1), 7-14.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *DryingTechnology*, 16 (6), 1195–1236.

- Rezzadori, K. (2010). Pasteurização térmica e com membranas de caldo de cana adicionado de suco de maracujá. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 161p.
- Rigon, R.T., Noreña, C.P.Z. (2016). Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry (*rubus fruticosus*). *Journal of Food Science and Technology*, 1-10.
- Rizzon, L.A., Miele, A., Meneguzzo, J. (2000). Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 20(1), 115-121.
- Roberts, W.G., Gordon, M.H. (2003). Determination of the antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1486-1493.
- Robbins, R.J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866–2887.
- Rodrigues, S.L.C., Moreira, R.L.S., Cardoso, M.H., Mercon, F. (2003). Avaliação de parâmetros de ultrafiltração de suco de banana. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 23, 98-101.
- Rosenberg, M., Kopelman, I.J., Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38, 1288-1294.
- Ryu DDY, Lee SB, (1986). Enzymic hydrolysis of cellulose: determination of kinetic parameters. *Chemical engineering community* 45(1-6): 119-134.
- Saéñz, C., Tapia, S., Chávez, J., Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616-622.
- Saha, N.K., Balakrishnan, M., Ulbricht, M. (2007). Sugarcane juice ultrafiltration: FTIR and SEM analysis of polysaccharide fouling. *Journal of Membrane Science*, 306, 287-297.
- Shahidi, F., Naczk, M. (1995) *Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications*. Lancaster: Technomic, 331p.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., Liu, X. (2006). Study of microencapsulation of lycopene by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664-69.

- Silva, C. (2003). Administração oral de peptídeos e proteínas: II. aplicação de métodos de microencapsulação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39(1), 1-20.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Soares, M., Welter, L., Kuskoski, E. M., Gonzaga, L., Fett, R. (2008). Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(1), 59-64.
- Souza, J.S.I., Martins, F.P. (2002). *Viticultura brasileira: Principais variedades e suas características*. Piracicaba: FEALQ, 368p.
- Stumm, I., Batles, W. (1997). Analysis of the linkage positions in polydextrose by the reductive cleavage method. *Food Chemistry*, 59(2), 291-297.
- Sun, J., Chu, Y.F., Wu, X., Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7449–7454.
- Teixeira, M. (2001). *Ultrafiltração no tratamento de águas para consumo humano*. Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente. Lisboa, Universidade Nova de Lisboa, 117p.
- Thevenet, F. (1995). Acacia gums: naturaencapsulation agent for food ingredients. In: Risch, S.J., Reineccius, G.A. *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington, DC: ACS.(ACS Symposium Series, 590, 51-90.
- Togores, J. H. (2011). *Tratado de enología I*. Mundi-Prensa Libros.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., Hubinger, M.D. (2009). Physicochemical and morphological characterization of açai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1950–1958.
- Torres, E.R. (2009). *Desenvolvimento de barra de cereais formuladas com ingredientes regionais*. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 78p.
- Trubiano, P.C., Lacourse, N.L. (1988). Emulsion stabilizing starches. In: Risch, S.J., Reineccius, G.A. *Flavor encapsulation*. Washington, DC: ACS. (ACS Symposium Series), 45-54.
- Tsao, R., McCallum, J. (2009) *Chemistry of Flavonoids, in Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability* (eds L. A. de la

- Rosa, E. Alvarez-Parrilla and G. A. González-Aguilar), Wiley-Blackwell, Oxford, UK, (24),131p.
- Tsao, R., Yang, R. (2003). Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a total phenolic indexing using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1018, 29–40.
- Ursini, F., Tubaro, F., Rapuzzi, P., Zamburlini, A., Maiorino, M. (1997). Wine antioxidants: Effects in vitro and in vivo. *Wine and Human Health, Biofactors*, 6(4), 9-11.
- Valduga, E., Lima, L., do Prado, R., Padilha, F. F., & Treichel, H. (2008). Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva isabel (*Vitis labrusca*). *a a*, 1(2), 1.
- Vermerris, W., Nicholson, R. (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science & Business Media, 275p.
- Watkinson, A.P., Wilson, D.I.W., 1997, *Chemical Reaction Fouling: A Review*, *Expt'l Thermal and Fluid Sci.* Vol. 14, pp. 361-374.
- Wiley D, Yee, K, Bao J. (2007). Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. *Journal of Membrane Science* 290; 125-137
- Wilson, N., Shah, N.P. (2002). Microencapsulation of vitamins. *ASEAN Food Journal*, 14, 1-14.
- Xia, E.Q., Deng, G.F., Guo, Y.J., Li, H.B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646.
- Zagklis, D.P., Paraskeva, C.A. (2015). Purification of grape marc phenolic compounds through solvent extraction, membrane filtration and resin adsorption/desorption. *Separation and Purification Technology*, 156, 328-335.
- Zanuz, M.C. (1991) Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 117p.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and the scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

ANEXOS

Anexo A. Protocolo de limpeza química das membranas de ultrafiltração de 10 e 30 kDa (Synder, 2012)

Limpeza Química do sistema e recuperação da membrana

Após cada experimento de ultrafiltração realizou-se a limpeza química seguindo a sequencia:

1. Enxágüe do sistema com água destilada:

Após ultrafiltração do extrato, é removido o retido do sistema; posteriormente lavar com água destilada a 50°C a pressão de 0,5 bar o retido restante no sistema e drenar; lavar adequadamente o sistema no modo de não recirculação para remover qualquer remanescente. Este procedimento se realiza até que a água que esta em recirculação apareça limpa. Ao finalizar é retirada do sistema.

2. Limpeza alcalina:

Adicionar ao tanque de alimentação e fazer circular solução de hidróxido de sódio (NaOH), 0,35 g.L⁻¹ a 50°C mantendo um pH de 10,8-11,0; fazer circular solução a pressão atmosférica durante 30 minutos e retirar do sistema para posterior enxague.

3. Enxágüe com água destilada:

Adicionar água a temperatura de 50°C e recircular no sistema por 20 minutos para remoção da solução alcalina, depois retirar.

4. Limpeza ácida:

Circular durante 30 minutos solução de ácido cítrico na concentração de 5 g.L⁻¹ a 50°C através do sistema a 1 bar, mantendo o pH de 2,0-2,2. Depois retirar a solução ácida do sistema.

5. Enxágue com água destilada:

Adicionar água a temperatura de 50°C e recircular no sistema por 20 minutos para remoção da solução ácida, depois retirar do sistema.

6. Limpeza com hipoclorito de sódio:

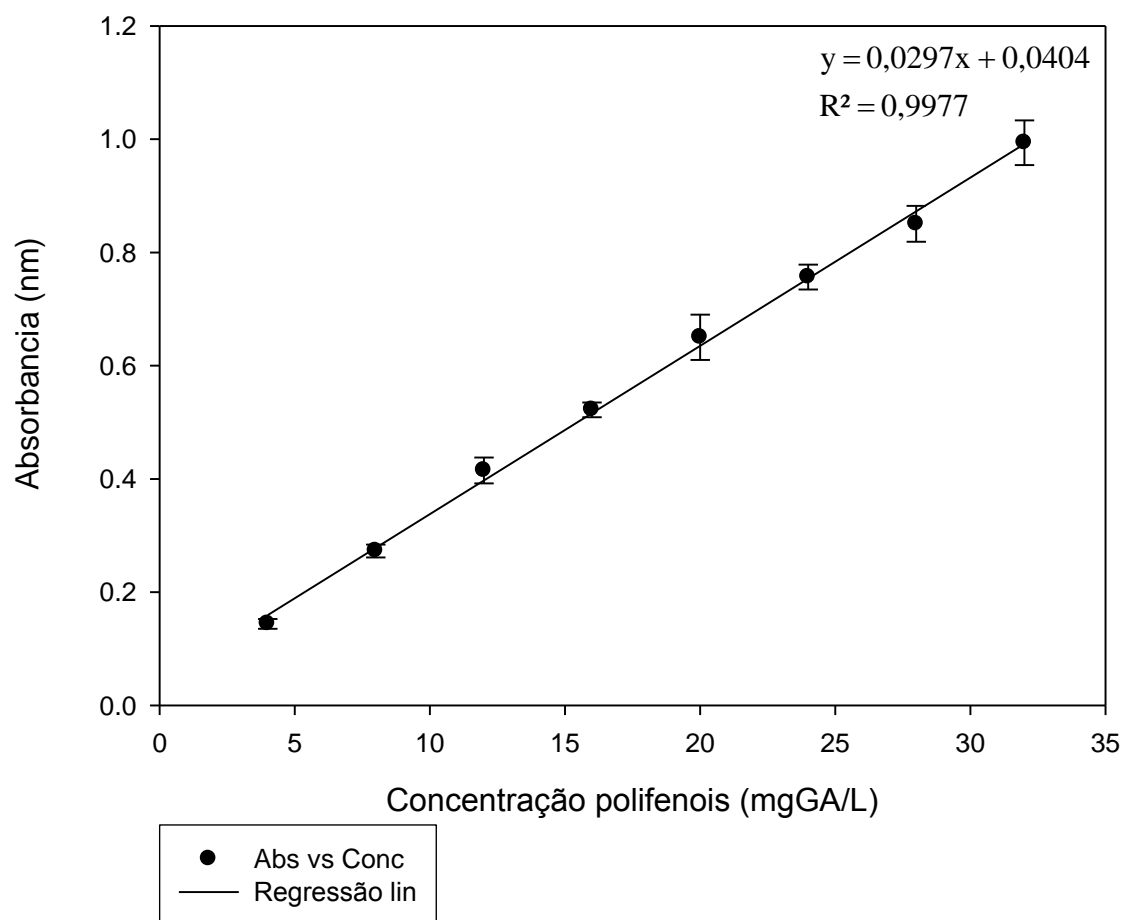
Circular solução de hipoclorito de sódio (1,25 ml.L⁻¹) a 50°C para manter no sistema aproximadamente 150ppm de cloro livre, por um tempo de 20 minutos. Depois, a solução de hipoclorito de sódio é retirada e substituída por água destilada para o enxágue.

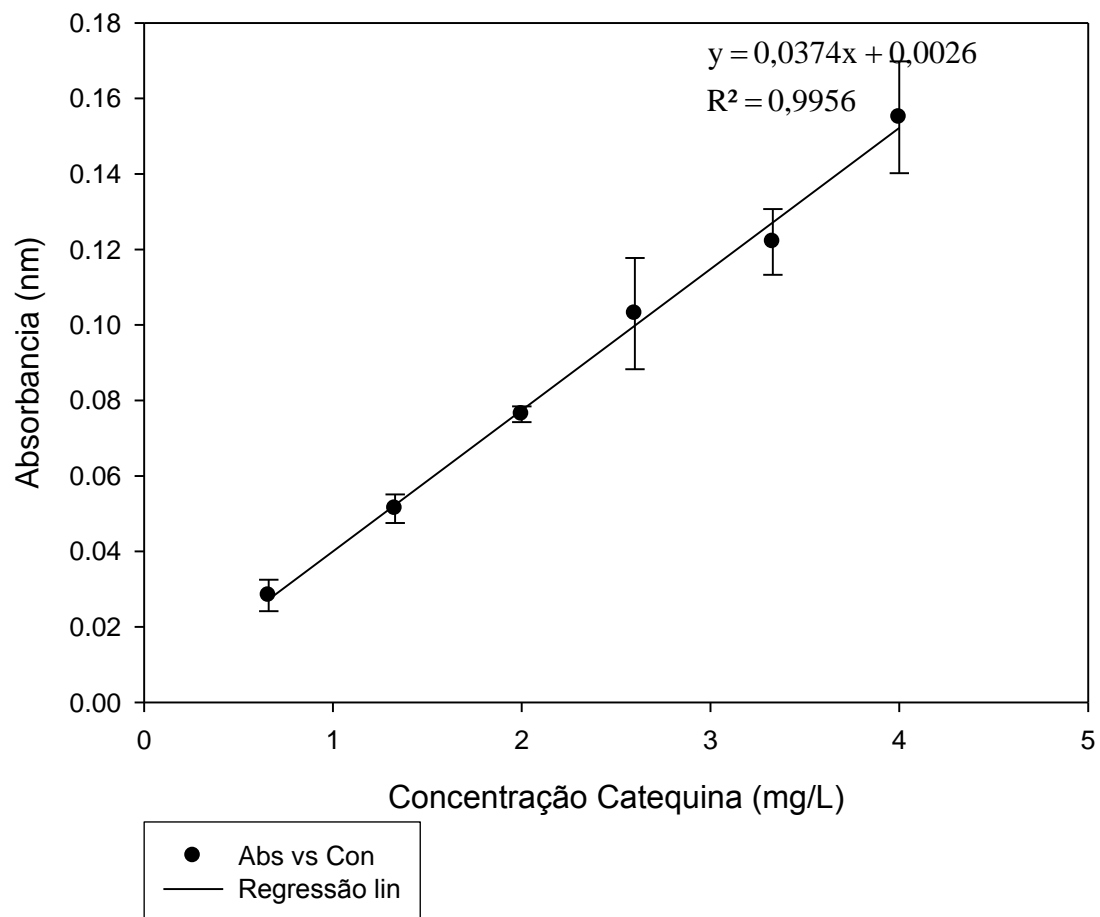
7. Enxágue com água destilada

Adicionar água a temperatura de 50°C e recircular no sistema por 20 minutos para remoção da solução de hipoclorito de sódio, depois retirar.

8. Compactação

A membrana deve ser compactada novamente, pois durante o processo de limpeza ocorre a descompactação pelo relaxamento da estrutura. Por tanto é adicionada água destilada limpa para realização da compactação.

Anexo B. Curva de calibração para Polifenóis Totais

Anexo C. Curva de Calibração para Flavonoides

Anexo D. Curva de calibração de Trolox

