



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Concentração de antocianinas do bagaço do mirtilo por osmose direta

Autor: Natiéli Souza de Vargas

Orientadores: Isabel Cristina Tessaro

Alan Ambrosi

Porto Alegre, julho de 17

AGRADECIMENTOS

Os mais sinceros agradecimentos aos meus orientadores, Isabel Cristina Tessaro e Alan Ambrosi, pela imensa paciência ao longo deste processo, disponibilidade, irrepreensível profissionalismo e dedicação e principalmente por todo conhecimento transmitido.

Agradeço as engenheiras químicas Julia Frick, pelos conhecimentos compartilhados e disponibilidade irrestrita, e Cláudia Luchese, por ceder a matéria-prima objeto deste trabalho.

Agradeço ao engenheiro químico Eduardo Birnfeld, da Central Analítica do Departamento de Engenharia Química, o treinamento e o auxílio na realização das análises cromatográficas e de espectroscopia.

Agradeço também aos amigos Pedro Holderbaum e Iago Assis pelo suporte técnico, logístico e psicológico prestado ao longo do curso de graduação.

Finalmente, um agradecimento especial a minha Avó Terezinha Vargas por estar todos esses anos ao meu lado.

ABSTRACT

The remarkable waste of nutrients discarded as residues in the food industry translates the need of new technologies capable of transforming these by-products into nutritive food and functional products. The extraction of these compounds and the purification by using membrane separation processes has gained attraction lately, and the Forward Osmosis (FO) represents an interesting alternative for this goal. With mild operating conditions, FO has as driving force the osmotic pressure difference between solutions of distinct concentrations. The FO generates low energy expenditure, besides maintaining the nutritional characteristics of the product by not working at high temperatures. Therefore, this work investigates the concentration and the ethanol removal from dilute aqueous solutions of anthocyanins and phenolic compounds extracted from blueberry bagasse by forward osmosis using aqueous solution of sodium chloride. The low concentration factors used (1.2 to 1.8) and the stability of the permeate flow during the experiments showed that higher concentration values of anthocyanins could have been achieved. However, the observed high flux of solute, $20 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ in the experiment that reached the highest concentration factor (1.8), shows the need to test other solutes as an osmotic agent.

Key words: Forward Osmosis, Anthocyanins, Ethanol Removal

RESUMO

O significativo desperdício de nutrientes descartados como resíduos vegetais na indústria de alimentos traduz a pungente necessidade de desenvolver tecnologias capazes de transformar esses subprodutos em alimentos e produtos funcionais. A extração desses compostos e a purificação utilizando membranas tem obtido destaque nos últimos anos, sendo que a osmose direta (OD) representa uma opção interessante para este fim. Com condições de operação brandas, a OD tem como única força motriz a diferença de pressão osmótica entre soluções de diferentes concentrações. A OD tem baixo gasto energético, além de manter as características nutricionais do produto por não trabalhar com temperaturas elevadas. À luz dessas perspectivas, neste trabalho foi investigada a concentração e remoção de etanol de solução aquosa diluída de antocianinas e compostos fenólicos, extraídos do bagaço de mirtilo com 50 % m/m de etanol, por osmose direta, usando solução aquosa de cloreto de sódio. Os baixos fatores de concentração utilizados (1,2 a 1,8) e a estabilidade do fluxo de permeado, até o fim dos experimentos, mostraram que valores maiores de concentração de antocianinas poderiam ter sido alcançados. Contudo o alto fluxo inverso de soluto observado, $20 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ no experimento que atingiu o maior fator de concentração (1,8) percebe-se a necessidade de testar outros solutos como agente osmótico.

Palavras-chave: Osmose Direta, Antocianinas, Remoção de Etanol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cátion flavílico. R1 e R2 = -H, -OH ou -CH ₃ , R3 = açúcares, R4 = -H ou açúcares.....	13
Figura 2 - Estrutura das principais antocianidinas.....	13
Figura 3 – Fluxograma do procedimento experimental.	19
Figura 4 - Representação esquemática do sistema de osmose direta.....	20
Figura 5 - Curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio para os testes de caracterização.	25
Figura 6 - Curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio para os testes de concentração de antocianinas.	26
Figura 7 - Variação do fluxo de água (◇) e fluxo inverso de soluto (o) da etapa de caracterização da membrana.	29
Figura 8 - Fluxo de permeado (a) e inverso de soluto (b).	31
Figura 9 - Gráfico comparativo do fluxo de permeado entre as etapas 1 (Δ) e 2 (□) do teste principal.	33
Figura 10 - Gráfico comparativo do fluxo de NaCl entre as etapas 1 (Δ) e 2 (□) do teste principal.	34
Figura 11 - Variação da concentração das antocianinas (□) e polifenóis (■) com o fator de concentração.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da solução de alimentação dos testes preliminares e do teste principal.	28
Tabela 2 - Teor de antocianinas e polifenóis em mg L ⁻¹ , no início (CiA, CiF) e fim (CfA, CfF) dos testes, respectivamente.....	32

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Absorbância
$A_{510\text{nm}}$	Absorbância no comprimento de onda de 520 nm
$A_{700\text{nm}}$	Absorbância no comprimento de onda de 700 nm
ε	Absortividade molar da cianidina 3-glucosídeo ($26,900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
A_M	Área da membrana
l	Caminho óptico da cubeta (1 cm)
γ_w	Coefficiente de atividade de água
A	Coefficiente de permeabilidade de água ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$)
B	Coefficiente de permeabilidade do soluto ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
AM	Concentração de antocianinas monoméricas (mg L^{-1})
C	Concentração molar do soluto (g L^{-1})
C_{SO}	Concentração de soluto na solução osmótica (g L^{-1})
C_{SA}	Concentração de soluto na solução de alimentação (g L^{-1})
R	Constante universal dos gases ($\text{atm L mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)
Δm	Diferença de massa observada na balança (g)
ΔP	Diferença de pressão aplicada (atm)
$\Delta \pi$	Diferença de pressão osmótica entre as soluções (atm)
i	Fator de Van't Hoff
J_w	Fluxo de água ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
J_e	Fluxo de etanol ($\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
J_s	Fluxo inverso de soluto ($\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
J_p	Fluxo permeado ($\text{kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)
xw	Fração molar de água na solução
xs	Fração molar de soluto na solução
Δm	Ganho mássico de soluto na solução de alimentação (g)
Δm_s	Ganho mássico de soluto na solução de alimentação (g)
m_{ei}	Ganho mássico inicial de etanol na solução de alimentação (g)
PM	Peso molecular da cianidina 3-Glucosídeo (449.2 g mol^{-1})
m_{ef}	Ganho mássico final de etanol na solução de alimentação (g)
T	Temperatura (K)

Δt	Tempo transcorrido (h)
V	Volume molar do solvente da solução ($L \text{ mol}^{-1}$)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 MIRTILO.....	12
2.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS	14
2.2.1 Métodos Tradicionais	15
2.2.2 Processos de separação por membranas	15
2.3 A OSMOSE DIRETA	16
2.3.1 Fundamentos básicos	16
2.3.2 Membranas de osmose direta	18
3 METODOLOGIA	19
3.1 MEMBRANAS E REAGENTES.....	19
3.2 UNIDADE EM ESCALA DE BANCADA PARA OSMOSE DIRETA	20
3.3 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DO BAGAÇO DE MIRTILO.....	21
3.3.1 Preparo da farinha de Mirtilo	21
3.3.2 Preparo do extrato contendo compostos fenólicos	21
3.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	21
3.4.1 Caracterização das membranas	22
3.4.2 Testes preliminares de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol	23
3.4.3 Teste principal de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol	23
3.5 MÉTODOS DE ANÁLISE	24
3.5.1 Determinação da concentração de etanol	24
3.5.2 Determinação da concentração de NaCl	25
3.5.3 Determinação da concentração de antocianinas	26
3.5.4 Determinação da concentração de polifenóis totais	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO CONTENDO ETANOL E COMPOSTOS FENÓLICOS DO BAGAÇO DE MIRTILO	28
4.2 TESTES PRELIMINARES DE CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS/REMOÇÃO DE ETANOL.....	29

4.2.1 Caracterização das membranas.....	29
4.2.2 Desempenho da concentração e remoção de etanol de solução aquosa compostos fenólicos	30
4.3 TESTE PRINCIPAL DE CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS / REMOÇÃO DE ETANOL.....	32
4.3.1 Desempenho da concentração e remoção de etanol de solução aquosa compostos fenólicos	33
4.3.2 Concentração dos compostos fenólicos	34
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS....	35
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O processamento da matéria-prima para produção de alimentos gera expressiva quantidade de resíduos sólidos e outros subprodutos. Um estudo publicado pela União Europeia em 2010 revelou que quase 90 milhões de toneladas de alimentos são descartados todos os anos pela indústria alimentícia. Da mesma forma que é necessário otimizar os processos produtivos, visando a não geração de resíduos, também é imprescindível gerenciar o problema de desperdício de nutrientes na cadeia produtiva de alimentos. A recuperação desses subprodutos, utilizando técnicas de extração dos compostos bioativos, representa uma área de pesquisa com grande potencial e oportunidades (Ravindran e Jaiswal, 2016).

O estudo de marketing realizado por Schonfeld & Gibson (2010) apud (Weber e Larsen, 2017), que trata das tendências do mercado de alimentos no contexto internacional e sua manifestação na indústria, mostrou que a qualidade nutricional dos alimentos se tornou um dos principais impulsionadores da escolha de alimentos. O aumento do conhecimento do consumidor, com relação à composição e função dos alimentos, contribuiu para essa tendência alimentar. Neste contexto os resíduos vegetais da indústria de alimentos representam importante fonte de matéria-prima para produção de alimentos funcionais, como fibras dietéticas, compostos antioxidantes, entre outros.

As antocianinas, composto fenólico presente em resíduos provenientes da produção de alimentos como sucos e geleias, é um desses compostos. Para tanto as antocianinas e demais compostos fenólicos precisam ser extraídos do bagaço para subsequente concentração. Como essas moléculas são polares, a extração com solução aquosa de solventes orgânicos é bastante empregada na indústria de alimentos, especialmente soluções de etanol pela baixa toxicidade (Castañeda-Ovando et al., 2009). Na etapa posterior além de concentrar as antocianinas é preciso também remover o etanol utilizado na extração.

Caldos e sucos de frutas são tradicionalmente concentrados por processos térmicos como evaporação a vácuo, o mesmo princípio também é usado para remover etanol de soluções diluídas. Esse tipo de processamento térmico pode resultar em perda de sabor e cor do produto devido à degradação dos compostos termolábeis (Weber e Larsen, 2017). Visto que as antocianinas são compostos sensíveis que podem ser degradados por aquecimento e aumento de pH (Francis e Markakis, 1989;

Castañeda-Ovando et al., 2009; Fennema, 2010), a escolha das tecnologias de processamento e das condições de operação devem ser investigadas de forma a minimizar esses fatores.

Como contraponto aos processos térmicos, os processos de separação por membranas podem ser operados em condições mais brandas de temperatura, proporcionando produtos com melhor qualidade organoléptica e menor gasto energético. Por conseguinte, vêm sendo empregados como substitutos ou auxiliares das técnicas tradicionais, em virtude de seu apelo de forma de produção sustentável e que resulta em produtos com características mais próximas das fontes naturais. Alguns exemplos de técnicas frequentemente utilizadas na indústria e alvo de diversos estudos científicos são destilação osmótica (Dincer, Tontul e Topuz, 2016), nanofiltração (Arend et al., 2017), pervaporação, ultrafiltração e osmose direta (Ambrosi et al., 2017).

Dentre as novas tecnologias a osmose direta (OD) vem se mostrando bastante promissora como substituta de diversos processos de concentração de caldos na indústria de alimentos devido a sua baixa tendência ao *fouling* (Lee et al., 2010), baixa pressão hidráulica, possibilidade de trabalhar em temperatura ambiente e capacidade de processamento de soluções com alto teor de sólidos.

O objetivo específico deste trabalho é investigar o uso da osmose direta para concentração e remoção de etanol de solução aquosa diluída de antocianinas e compostos fenólicos, extraídos do bagaço de mirtilo com 50 % m/m de etanol, usando solução aquosa de cloreto de sódio como agente osmótico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MIRTILO

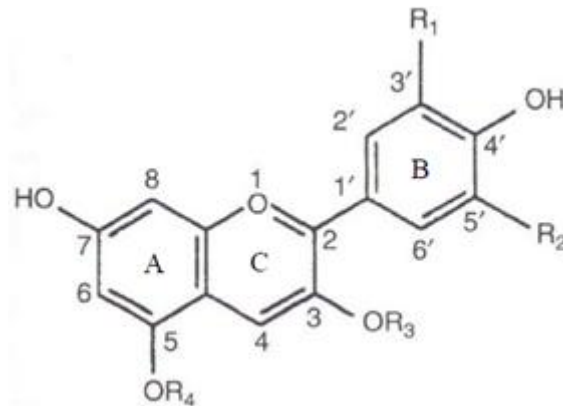
O mirtilo (*Vaccinium* spp) é uma espécie frutífera da família Ericaceae, subfamília Vaccinoideae e gênero Vaccinoideae, autóctone da Europa e América do Norte. Seu cultivo no Brasil pode ser considerado recente, tendo sido introduzido pela Embrapa Clima Temperado em 1993. O fruto, de sabor agridoce e coloração azul púrpura (Raseira, 2004; Fachinello, 2008), apresenta diversas sementes em seu interior, tendo a baga formato achatado com 10 a 30 mm de diâmetro e massa entre 1,5 a 4,0 g (Sarkis, 2011).

Este fruto tem grande notoriedade no mercado internacional, principalmente no mercado norte americano, devido a suas propriedades nutraceuticas. O efeito antioxidante do mirtilo pode contribuir em diversos aspectos da saúde humana. Destacam-se seu uso no tratamento e prevenção de câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas (Bravo, 1998; Konczak e Zhang, 2004), além da potencial ação antienvhecimento (Shulkitt-Hale et al., 2007).

O mirtilo é constituído majoritariamente por carboidratos e água, 82 % (Sousa, 2007), sua ação antioxidante se deve à alta concentração de antocianinas, principal composto fenólico do mirtilo (Castañeda-Ovando et al., 2009). As antocianinas, pigmentos encontrados principalmente na casca do fruto, apresentam potencial antioxidante ainda maior que a vitamina C e o betacaroteno (Kowalczyk et al., 2003), compostos bioativos também presentes no mirtilo. Dessa forma, esses compostos têm sido utilizados como aditivo na indústria de cosmético, alimentos e ainda como pigmento natural. A semente deste fruto também possui componentes bioativos, com teor considerável de catequinas, taninos e ácido gálico.

As antocianinas são substâncias orgânicas do grupo dos compostos fenólicos, compreendidas no subgrupo dos flavonoides. O 2-fenilbenzopirílio do sal flavílico, mostrado na Figura 1, representa a estrutura básica das antocianinas, quando a molécula não apresenta substituição nos radicais 3 e 4, recebe o nome de antocianidina, precursoras das antocianinas (Castañeda-Ovando et al., 2009).

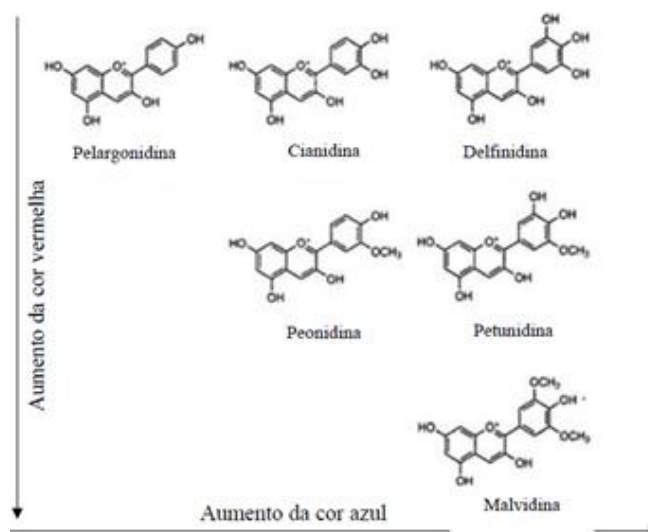
Figura 1 - Cátion flavílico. R1 e R2 = -H, -OH ou -CH3, R3 = açúcares, R4 = -H ou açúcares.



Fonte: Fennema (2010).

As antocianinas são derivadas das reações mono e diglicosídicas das antocianidinas e são responsáveis por cores nas frutas como azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja. A diferença entre estes compostos está no número de hidroxilas e metoxilas, no tipo, número e local onde os açúcares estão ligados (Kowalczyk et al., 2003; Fennema, 2010). Sendo assim, os frutos com tons mais escuros são os que apresentam moléculas com radicais metoxila e mais substituições nos radicais 1 e 2. A delphinidina-3-o-glucosídeo, uma das seis antocianinas mais encontradas em alimentos, representadas na Figura 2, é a que ocorre em maior quantidade no mirtilo.

Figura 2 - Estrutura das principais antocianidinas.



Fonte: Shahidi e Naczk (2004).

Entretanto, as mesmas propriedades antioxidantes das antocianinas são responsáveis por torná-las substâncias facilmente degradáveis. As operações unitárias, responsáveis pelo processo de industrialização deste tipo de matéria-prima, podem provocar a oxidação dessas substâncias, diminuindo o poder de pigmentação e os benefícios nutricionais do produto (Weber e Larsen, 2017). Os principais fatores externos de degradação no processamento destes frutos são temperatura, pH, luz e presença de oxigênio (Sarkis et al., 2013).

No que tange à temperatura, acredita-se que em virtude do aquecimento as antocianinas se decompõem por dois possíveis caminhos, formando chalconas e glicosídeos de ácido cumárico ou derivados de aldeído e ácido benzoico, resultando em um decréscimo das formas coloridas (Patras et al., 2010). Sugere-se também que a reação apresenta cinética de primeira ordem com relação à temperatura e que a variação dos parâmetros cinéticos obedeça à relação de Arrhenius (Martynenko e Chen, 2016). Todavia ainda é pouco esclarecedor o conhecimento sobre estes mecanismos. É possível, contudo, afirmar que a degradação das antocianinas é mais rápida com o aumento da temperatura (Kechinski, 2011).

2.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

No processo de industrialização de antocianinas, a escolha de um método de extração com bom rendimento e que não interfira na sua estabilidade, tanto para polpa quanto para o bagaço, é vital (Weber e Larsen, 2017). A centrifugação, prensagem, extração por arraste a vapor e extração enzimática são técnicas bastante aplicadas no processamento da polpa do mirtilo (Kechinski, 2011). Quando a matéria-prima são pigmentos contidos em resíduos de frutas, a técnica que tem sido mais aplicada é a extração com solventes orgânicos (Kechinski, 2011).

Devido à presença dos grupos substituintes hidroxilas, carboxilas e metoxilas, e a glicosilas residuais ligadas aos seus anéis aromáticos, as moléculas das antocianinas são polares, dessa forma, os solventes mais empregados são misturas aquosas de metanol, etanol e acetona (Castañeda-Ovando et al., 2009). Estudos com bagaço de uva demonstraram que o metanol pode ser mais eficiente para esse tipo de extração (Metivier et al., 1980; Kammerer et al., 2004; Cataneo, 2008; Rockenbach et al., 2008) apud (Sarkis, 2011). Contudo metanol tem sido substituído pelo etanol na indústria de alimentos (Castañeda-Ovando et al., 2009), devido a sua

elevada toxicidade e a necessidade de implementar práticas de produção mais seguras e sustentáveis. O etanol, que tem origem em fonte renovável, baixa toxicidade, relativo baixo custo e oferta abundante no mercado.

Existe ainda a possibilidade de adicionar ácido em baixas concentrações (inferiores a 1 %) como acidulantes em solventes orgânicos para aumentar a extração das antocianinas, uma vez que o meio ácido favorece a formação do íon flavílio estável (Sarkis, 2011) Estudos realizados por Kechinski (2011) mostraram que a melhor condição para extração das antocianinas monoméricas do bagaço do mirtilo foi com pH entre 2,0 e 3,3 e de 50 a 70 % de etanol.

A partir do momento em que as antocianinas foram extraídas do bagaço utilizando algum solvente orgânico, este deve ser removido e, conseqüentemente, as antocianinas concentradas. As principais técnicas utilizadas atualmente são abordadas na sequência.

2.2.1 Métodos Tradicionais

As formas mais tradicionais e usuais, principalmente na indústria de alimentos, tanto de remoção de etanol quanto de concentração de caldos e sucos são a evaporação e uma variante desta técnica, a evaporação a vácuo (Dincer, Tontul e Topuz, 2016). Dentre elas, a evaporação pode ser considerada a mais simples, realizada à pressão ambiente, na qual o caldo do bagaço de fruta/solvente é mantido em temperatura pouco acima da temperatura de ebulição do etanol para promover a sua evaporação. Na modalidade a vácuo, este é utilizado para reduzir a temperatura de evaporação, submetendo a mistura a condições mais brandas de aquecimento. Porém ambas possuem o ônus de utilizar temperaturas relativamente elevadas, condição que provoca a degradação das antocianinas.

2.2.2 Processos de separação por membranas

As tecnologias de separação por membranas, área que vivenciou, nas últimas décadas, avanços relacionados ao desenvolvimento de novas membranas, vem se mostrando uma alternativa na indústria de alimentos para superar limitações de processos que necessitam ser operados em condições mais brandas (Sant'Anna, Marczak e Tessaro, 2012). Novos processos com membranas como nanofiltração,

utilizada por Arend et al. (2017) para concentrar antocianinas do suco de morango, e ultrafiltração, pesquisado por Kechinski, (2011) para concentrar suco da polpa do mirtilo, representam essa tendência. A utilização da osmose inversa como técnica de concentração para remover a água de sumos de frutas também é alvo de interesse da indústria de suco de frutas (Lee et al., 2010).

A principal limitação destas técnicas tem sido a redução do desempenho das membranas ao longo do período de utilização, causada principalmente pelo fenômeno de incrustação (*fouling*) que ocorre quando há deposição de partículas, coloides, emulsões, suspensões, macromoléculas e sais presentes na superfície da membrana (Mulder, 1996). Devido à variedade de tecnologias de membranas bem como a forma como podem ser empregadas, cada situação tem particularidades inerentes ao processo. Uma vez que ocorre a redução no fluxo de permeado através da membrana, quanto maior a ocorrência do *fouling* maior a necessidade de limpeza da membrana, situação que aumenta o número de paradas do processo e diminui a vida útil da membrana (Mulder, 1996).

O *fouling* é mais acentuado nas técnicas que utilizam como força motriz a diferença de pressão hidráulica como a osmose inversa (Lee et al., 2010). Por não necessitar da aplicação de pressão hidráulica elevada e utilizar escoamento tangencial a membrana, a osmose direta é uma técnica que tem se destacado nos últimos anos para a recuperação de água de fontes com qualidade extremamente baixa (Cath, Childress e Elimelech, 2006), aplicação que outras técnicas com membranas não possuem bom desempenho. Dessa forma, a osmose direta tem sido estudada em várias outras aplicações, como a concentração de sucos (Sant'Anna, Marczak e Tessaro, 2012) e remoção de etanol de soluções aquosas (Ambrosi et al., 2017).

2.3 A OSMOSE DIRETA

2.3.1 Fundamentos básicos

O estudo do processo de osmose direta (OD) começa pelo entendimento de que a tecnologia foi desenvolvida com base em uma membrana semipermeável que permite a passagem do solvente e limita a passagem de soluto, devido à diferença de pressão osmótica entre soluções em contato com lados opostos desta membrana

(Cath, Childress e Elimelech, 2006). O soluto é capaz de gerar a diferença de pressão osmótica necessária para que o fenômeno de osmose ocorra, funcionando como agente osmótico.

A escolha do agente osmótico para cada processo está diretamente relacionada com a concentração e natureza da solução de alimentação, uma vez que o transporte ocorre devido essencialmente ao gradiente de pressão gerada pela diferença de concentração entre as soluções (Ambrosi et al., 2017). Dessa forma diferentes compostos orgânicos e inorgânicos podem ser utilizados como agentes osmóticos (Ge et al., 2013). Os critérios para a seleção do soluto são: capacidade de gerar a pressão osmótica desejada; baixo custo; facilidade de recuperação; baixa difusão através da membrana; baixa viscosidade e baixa toxicidade (Ge et al., 2013). Soluções aquosas de cloreto de sódio representam uma boa alternativa por preencher os requisitos supracitados. A pressão osmótica de uma solução aquosa com um determinado soluto pode ser descrita pela equação:

$$\pi = \frac{-RT}{V} \ln(\gamma_w x_w) \quad (1)$$

onde π representa a pressão osmótica, T a temperatura em escala absoluta, R a constante universal dos gases, V o volume molar, γ_w o coeficiente de atividade e x_w a fração molar de água. Considerando solução diluída e volume molar constante é possível deduzir pela equação de Van't Hoff a pressão osmótica desta solução, conhecida como equação de Morse:

$$\pi = iCRT \quad (2)$$

onde i é o fator de Van't Hoff e C a concentração molar do soluto (Ge et al., 2013).

Os sais inorgânicos são muito aplicados como agente osmótico em virtude da facilidade de reuso da solução osmótica, podendo sua reconcentração ser feita por osmose inversa. O cloreto de sódio é bastante utilizado, uma vez que apresenta baixo custo, alta solubilidade em água e possui baixo risco de precipitar na superfície da membrana. É importante observar que para solutos inorgânicos quanto maior a concentração do soluto maior é a pressão osmótica gerada, mas também maior será o fluxo inverso de soluto.

O transporte através da membrana pode ser explicado pelo modelo sorção-difusão (Cath, Childress e Elimelech, 2006). Primeiramente acontece a sorção das

moléculas de solvente através da superfície da camada seletiva, seguida da difusão através da membrana e, finalmente, a dessorção das moléculas na camada suporte, lado oposto da membrana (Mulder, 1996). O fluxo de solvente (J_w) pode ser descrito pela seguinte equação geral:

$$J_w = A (\Delta\pi - \Delta P) \quad (3)$$

sendo $\Delta\pi$ a diferença de pressão osmótica entre os lados da membrana, ΔP a diferença de pressão hidráulica e A a permeabilidade hidráulica, característica específica de cada membrana. Na OD, as pressões hidráulicas em ambos os lados da membrana são mantidas iguais, levando a aproximação $\Delta P = 0$.

O fluxo de soluto no sentido inverso, ou seja, transporte difusivo de soluto da solução osmótica para a solução de alimentação é igualmente estabelecido pelo gradiente de concentração entre as soluções. Dessa forma o fluxo inverso de soluto (J_s) pode ser descrito por:

$$J_s = B (C_{SO} - C_{SA}) \quad (4)$$

sendo C_{SO} a concentração de soluto na solução osmótica, C_{SA} a concentração de soluto na solução de alimentação e B o coeficiente de permeabilidade do soluto, valor característico de cada membrana e soluto.

2.3.2 Membranas de osmose direta

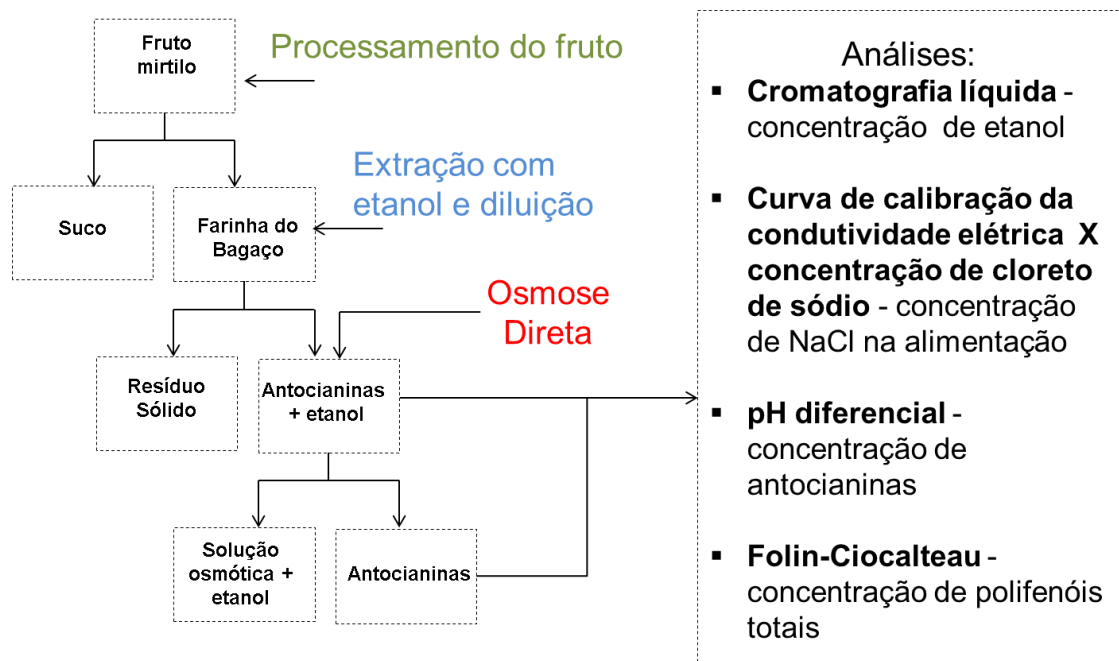
As membranas utilizadas no processo de osmose direta devem atender aos seguintes requisitos: gerar altos fluxos de água, rejeitar o soluto da solução osmótica, ser compatível com a solução osmótica empregada e resistir às condições operacionais (Tiraferri et al., 2011; Chung et al., 2012). As membranas de OD existentes foram desenvolvidas especificamente para recuperação de água, as membranas triacetato de celulose (do inglês, cellulose triacetate, CTA) têm sido as mais utilizadas pelos pesquisadores. As membranas são compostas por um suporte não-tecido de poliéster onde é depositada a camada seletiva de triacetato de celulose (Cath et al., 2013). Além da CTA, membranas do tipo TFC (*thin film composite*) foram desenvolvidas com o mesmo princípio das membranas de osmose inversa, tendo como camada seletiva da poliamida aromática (Cath et al., 2013).

Outros materiais têm sido estudados como membrana de poliéter-sulfona (PES). A membrana PES consiste em uma camada seletiva formada sobre uma camada suporte revestida com polímero. O desempenho da membrana PES foi comparado com o da membrana de comercial de CTA da HIT, apresentando fluxo de água mais elevado e fluxo inverso de soluto mais baixo (Yu et al., 2011).

3 METODOLOGIA

Nesta seção está descrita em detalhes a metodologia utilizada em todas as etapas do procedimento experimental. A Figura 3 representa um resumo sistemático das operações e análises realizadas.

Figura 3 – Fluxograma do procedimento experimental.



3.1 MEMBRANAS E REAGENTES

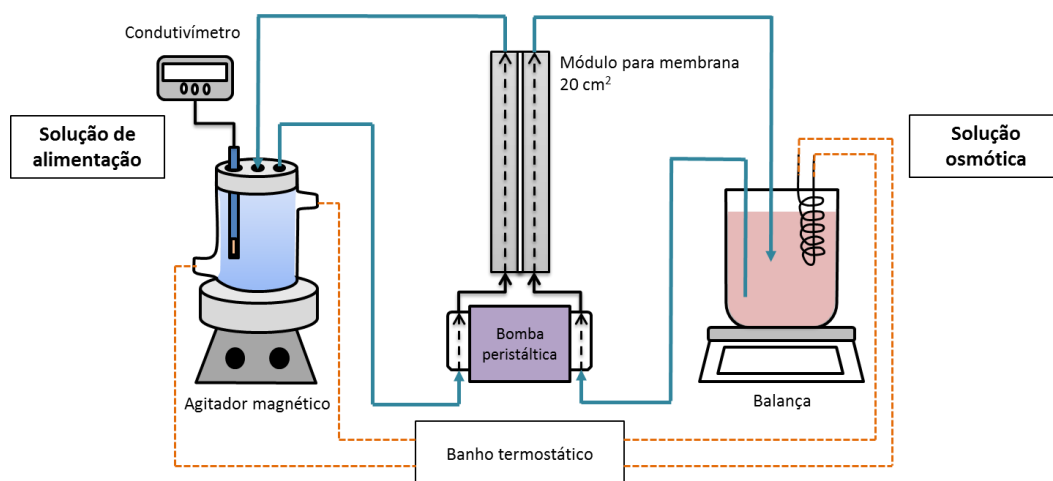
Em todos os experimentos de Osiose Direta foi utilizada uma membrana de CTA, obtida da *Hydration Technologies Innovations* (HTI, EUA), a qual foi desenvolvida para recuperação de água. Maiores informações a respeito da membrana podem ser obtidas na literatura (Cath et al., 2013). Para cada teste foi utilizado uma amostra nova de membrana.

No preparo das soluções foi usada água destilada/deionizada a 20 °C e todos os reagentes empregados são de grau analítico com pureza mínima de 99 %.

3.2 UNIDADE EM ESCALA DE BANCADA PARA OSMOSE DIRETA

Todos os testes de caracterização da membrana e de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol foram realizados em unidade de bancada conforme a ilustrada na Figura 4.

Figura 4 - Representação esquemática do sistema de osmose direta.



Fonte: Adaptado de Ambrosi et al.(2017)

O equipamento consiste em um módulo de acrílico para membranas com área de 20 cm², bomba peristáltica (Masterflex L/S 77200-60, Cole-Parmer, EUA) com dois cabeçotes independentes e vasos termicamente isolados para a solução osmótica (SO) e a solução de alimentação (SA). Foram também utilizados: banho termostático, para manter as soluções a 20 °C; agitador magnético, para garantir a homogeneidade da SA; condutivímetro (Digimed DM2), para estimar a passagem de sal para SA; e balança semianalítica (Shimadzu BL3200H, JP) com precisão de 0,01 g, para mensurar o fluxo de permeado pelo ganho de massa da SO.

3.3 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DO BAGAÇO DE MIRTILO

3.3.1 Preparo da farinha de Mirtilo

Farinha de bagaço de mirtilo foi utilizada para a extração dos compostos fenólicos. A farinha havia sido previamente preparada de acordo com o seguinte procedimento (Luchese et al., 2017): (i) frutos do mirtilo congelados foram adquiridos de uma empresa da região Sul; (ii) para o preparo da farinha, os frutos foram descongelados a 25 °C por 15 h e então branqueados a 100 °C por 3 min.; (iii) procedeu-se a extração de suco de mirtilo em uma centrífuga de alimentos (Juicer Phillips Walita, BR); (iv) o bagaço que restou deste processamento foi liofilizado, moído em liquidificador e peneirado. O material que ficou retido em peneira de 100 mesh deu origem à farinha grossa utilizada neste trabalho.

3.3.2 Preparo do extrato contendo compostos fenólicos

O extrato contendo os compostos fenólicos do bagaço de mirtilo foi preparado a partir da extração com uma solução aquosa de etanol 50 % em massa, sob agitação por 10 min. Todas as soluções de mirtilo foram filtradas após a extração, porém a solução do teste principal foi filtrada a vácuo para otimizar o processo e por se tratar de um volume maior de solução. O papel filtro utilizado possui poros de 14 µm. Ao fim do processo a solução foi diluída de forma a apresentar concentração de aproximadamente 10 % v/v de etanol.

3.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Amostras da membrana de CTA foram previamente condicionadas em água deionizada para remover o metabissulfito usado como conservante. Foram realizados dois testes preliminares de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol com duração de 90 min e um teste principal dividido em duas etapas, retirando em cada uma 100 mL de solvente água/etanol da alimentação. Todos os experimentos foram realizados com amostras novas de

membrana, gerando a necessidade de teste de caracterização do desempenho hidráulico de cada amostra antes e depois da etapa de remoção de etanol.

Soluções aquosas de cloreto de sódio foram utilizadas como solução osmótica, uma vez que este reagente é de fácil acesso e preenche os requisitos supracitados como importantes para um bom agente osmótico.

Tanto as etapas de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol quanto às de caracterização da membrana foram realizadas em modo de escoamento tangencial com velocidade de 25 cm s^{-1} a temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ e solução de alimentação em contato com a camada seletiva da membrana.

Alíquotas de 50 mL do início e do fim de todos os experimentos de remoção de etanol foram coletadas. Durante o teste principal, quando os volumes de permeado transferido para SO atingiram os valores de 50, 100 e 150 mL, pequenas alíquotas de 1 mL foram retiradas da alimentação para acompanhar o andamento do processo com relação à concentração de antocianinas sem inferir na concentração da solução. Todas as amostras foram mantidas refrigeradas até o momento de realização das análises.

3.4.1 Caracterização das membranas

O desempenho das membranas foi caracterizado com relação ao fluxo de água pura e ao fluxo inverso de sal antes e depois da etapa de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol. Como solução osmótica foi usado 2 L de solução de cloreto de sódio 1 M e 250 mL água deionizada como alimentação. Os dados de condutividade elétrica na SA e ganho de massa da SO foram registrados a cada 5 minutos ao longo de 45 minutos.

O fluxo permeado foi calculado a partir da equação:

$$J_p = \frac{\Delta m}{\Delta t A_m} \quad (5)$$

onde Δm representa o ganho de massa da solução osmótica ao longo do tempo Δt em função da área A_m da membrana.

O fluxo inverso de sal foi calculado por:

$$J_s = \frac{\Delta m_s}{\Delta t A_m} \quad (6)$$

onde Δm_s corresponde o ganho mássico de soluto na solução de alimentação ao longo do tempo Δt em função da área A_m da membrana.

A tubulação e as amostras de membranas foram lavadas com recirculação de água destilada durante 15 minutos, trocando a água a cada 5 minutos, antes e após cada etapa para remover solutos residuais.

3.4.2 Testes preliminares de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol

Os testes preliminares de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol foram realizados com o intuito de verificar em pouco tempo de experimento o comportamento das variáveis de processo, como fluxo permeado total, fluxo de etanol, fluxo inverso de soluto e concentração dos compostos fenólicos. Essa etapa foi conduzida usando como solução de alimentação 200 mL da solução mirtilo/solvente que foi diluída com água para chegar em concentração próxima a 10 % (v/v). Como solução osmótica, foi utilizado 2 L de solução aquosa contendo NaCl 2 M. Foram coletados dados de condutividade elétrica na SA e ganho de massa da SO a cada 5 minutos ao longo de 90 minutos.

3.4.3 Teste principal de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol

Uma vez que além de remover etanol da solução de alimentação, também se deseja concentrar os compostos fenólicos, o objetivo do teste principal foi obter um fator de concentração volumétrico (*FCV*) maior que o obtido nos testes preliminares para avaliar a influência do processo de concentração sobre o desempenho do processo. O *FCV* corresponde à razão entre o volume inicial de alimentação (V_0) o volume final (V), sendo um importante parâmetro de análise dos processos de concentração usando membranas (Cath, Childress e Elimelech, 2006).

Para aumentar o fator de concentração, a duração da etapa de concentração levaria mais de 12 horas, e, por isso, houve a necessidade de dividi-lo em duas fases. Ambas partiram de 2 L de solução aquosa de NaCl 2 M “nova” como SO, para excluir a influência da diluição da solução osmótica na etapa seguinte. Para a alimentação, a solução mirtilo/solvente contendo 50 % m//m de etanol foi diluída com

água para atingir cerca de 10 % v/v. A primeira fase iniciou com 450 mL. Foram coletados os dados de condutividade elétrica na SA e ganho de massa da SO a cada 5 minutos ao longo de 90 min, para realizar uma comparação com os testes preliminares. Os pontos seguintes foram registrados a cada 30 min até ser retirado da SA um volume de 100 mL de permeado, contendo essencialmente água e etanol. Na etapa seguinte a mesma solução de alimentação da etapa anterior, agora com 350 mL de volume inicial, foi processada novamente com a mesma metodologia da etapa anterior para remover mais 100 mL de permeado. Dessa forma, no fim deste experimento da mesma solução de alimentação foram removidos por osmose direta 200 mL, obtendo um fator de concentração igual a 1,8.

3.5 MÉTODOS DE ANÁLISE

3.5.1 Determinação da concentração de etanol

A concentração de etanol da solução de alimentação nas condições inicial e final de cada teste foi determinada a partir de análise de cromatografia líquida de alto desempenho com detector de índice de refração (HPLC-RI) em equipamento PerkinElmer Series 200 (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, EUA). Foi utilizada uma coluna cromatográfica Rezex RHM H+ para monossacarídeos (Phenomenex Inc., EUA) de dimensões 300 x 7,8 mm, água Milli-Q a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹ como fase móvel, e temperatura do forno de 80 °C.

Para manter a concentração de etanol das amostras dentro da faixa de detecção do instrumento, todas as amostras foram diluídas quarenta vezes em balões volumétricos antes da análise. As amostras diluídas foram filtradas com membranas com tamanho nominal de poro de 0,2 µm. Para garantir eluição completa do etanol, as injeções foram realizadas em duplicata e a corrida cromatográfica foi fixada em 30 min.

Finalmente para determinar a concentração das soluções de alimentação, as áreas dos picos correspondentes ao etanol foram relacionadas com os dados de uma curva de calibração previamente construída. O fluxo de etanol foi calculado a partir de:

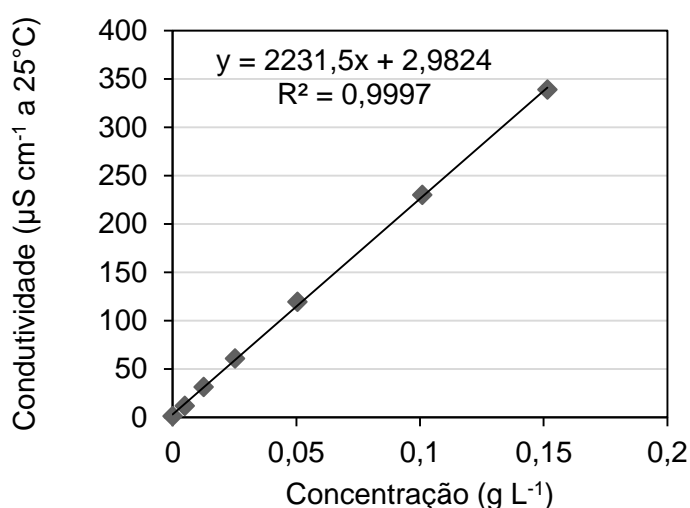
$$J_e = \frac{m_{ei} - m_{ef}}{\Delta t A m} \quad (7)$$

onde m_{ei} representa a massa inicial de etanol na solução de alimentação e m_{ef} representa a massa final na variação de tempo Δt por área A_m de membrana.

3.5.2 Determinação da concentração de NaCl

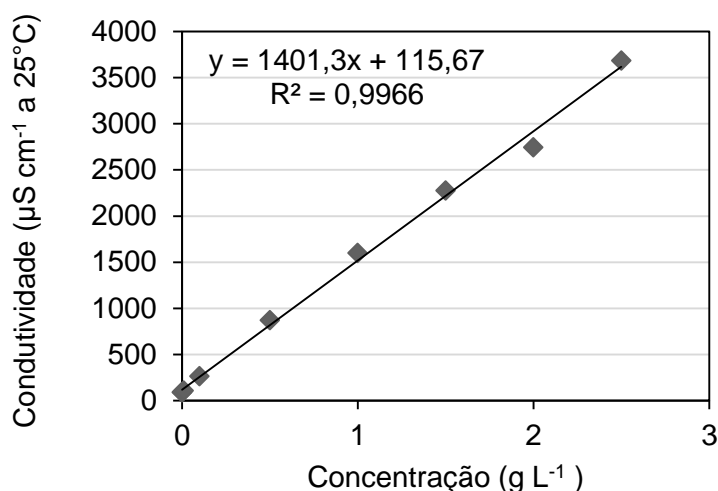
Para a os testes de caracterização hidráulica foi construída uma curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio, Figura 5, em solução aquosa destilada/deionizada, como R^2 de 0,9997 e a faixa de concentração de NaCl de 0 até 0,15 g L⁻¹.

Figura 5 - Curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio para os testes de caracterização.



Para os testes de concentração e remoção de etanol a solução mirtilo/solvente, contendo 50 % m/m de etanol, diluída com água para atingir cerca de 10 % v/v, foi utilizada para construir a curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio, Figura 6, com R^2 de 0,9966 e faixa de concentração válida entre 0 até 2,5 g L⁻¹.

Figura 6 - Curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração de cloreto de sódio para os testes de concentração de antocianinas.



3.5.3 Determinação da concentração de antocianinas

A concentração de antocianinas presente na solução de alimentação antes e após o teste de concentração foi determinada pela metodologia do pH diferencial, que se caracteriza por ser uma forma relativamente simples de quantificar o teor total de antocianinas monoméricas (Giusti e Wrolstad, 2001). O método é baseado nas mudanças estruturais que estes compostos sofrem na faixa de pH de 1 a 4,5, na qual as antocianinas se apresentam em sua forma colorida em pH 1 e sem coloração em pH 4,5. Dessa forma a diferença entre as absorvâncias (medidas no comprimento de onda de máxima absorvância) em ambos pHs, é proporcional à concentração de antocianinas.

Foram então elaboradas duas soluções tampão, uma de cloreto de potássio/ácido clorídrico de pH 1 (0,025 M) e outra de acetato de sódio/ácido clorídrico de pH 4,5 (0,4 M). Para que as amostras ficassem dentro do limite de detecção do método (absorvância inferior a um) foram realizados testes de diluição das amostras finais, pois são as que possuem maior concentração de antocianinas, em pH 1 e comprimento de 520 nm que é o valor de máxima absorvância.

As amostras foram então diluídas nas soluções tampão diretamente nas cubetas utilizando pipeta volumétrica, e estabilizadas por 10 minutos. As leituras de

absorbância forma feitas em espectrofotômetro UV/VIS (PG Instruments Ltd T80) nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm, nas duas soluções tampão. A leitura a 700 nm é realizada apenas para descontar a turbidez da amostra. A absorbância final é calculada por:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5} \quad (8)$$

A concentração total das antocianinas monoméricas foi expressa em mg de cianidina-3-glucosídeo por L de extrato.

$$AM = \frac{A.PM.FD.100}{\epsilon.l} \quad (9)$$

onde A é a absorbância calculada, AM a concentração de antocianinas monoméricas em mg L^{-1} , PM o peso molecular da cianidina 3-Glucosídeo ($449,2 \text{ g mol}^{-1}$), ϵ a absorvidade molar da cianidina 3-glucosídeo ($26,900 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e l o caminho óptico da cubeta (1 cm). A cianidina 3-glucosídeo é utilizada como base padrão para este método, dessa forma os resultados podem ser usados para fins de comparação com a literatura.

3.5.4 Determinação da concentração de polifenóis totais

A concentração de polifenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965) apud (Peschel *et al.*, 2006). Em meio alcalino, os compostos fenólicos presentes na amostra reduzem a mistura, dos ácidos fosfotungstícos e fosfomolibdicos do reagente de Folin, em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul, tornando possível realizar leituras de absorbância na faixa visível do espectro em 765 nm.

Em virtude dos mesmos motivos do teste de pH diferencial, neste método também foram realizados testes de diluição das amostras finais, pois são as que possuem maior concentração de polifenóis, Depois de determinar um fator de diluição igual a 40, foram pipetados 250 μL de cada uma das amostras para balão volumétrico de 10 mL onde foram adicionados 2 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Entre 30 segundos e antes de 8 minutos após a adição do reagente foram pipetados 1,5 mL de solução de carbonato sódio a 20 %. A

mistura foi então agitada e o volume de 10 mL completado com água destilada. A reação ocorreu à temperatura ambiente em local protegido de luz por 2 h, quando foi feita a leitura de absorvância a 765 nm em espectrofotômetro UV/VIS (PG Instruments Ltd T80). Para quantificação foi empregada uma curva padrão com solução de ácido gálico nas seguintes concentrações: 10, 30, 70, e 90 mg L⁻¹. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg de Ácido Gálico Equivalente (EAG) po litro de solução.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO CONTENDO ETANOL E COMPOSTOS FENÓLICOS DO BAGAÇO DE MIRTILO

A solução contendo compostos fenólicos extraídos a partir de bagaço de mirtilo, usando extrato aquoso contendo 50 % m/m de etanol, foi diluída com água para obter concentração de etanol próxima a 10 % v/v antes da realização dos experimentos. As principais características físico-químicas da solução podem ser verificadas na Tabela1.

Tabela 1 - Características da solução de alimentação dos testes preliminares e do teste principal.

Parâmetro	Testes preliminares	Teste principal
Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	70,32	87,67
Concentração de etanol (g L ⁻¹)	70	112
pH	3,76	3,67

O pH médio das amostras é de 3,7, valor dentro do intervalo de pH 4,0, considerado o valor máximo apropriado para extração das antocianinas do mirtilo (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Verifica-se uma concentração de etanol mais baixa na solução de alimentação do teste preliminar se comparada ao teste principal. Esta discrepância deve-se, possivelmente, a diferenças na etapa de filtração após a extração. Nos testes preliminares a filtração não foi realizada a vácuo, tornando a operação consideravelmente mais lenta e favorecendo a evaporação do etanol. Entretanto,

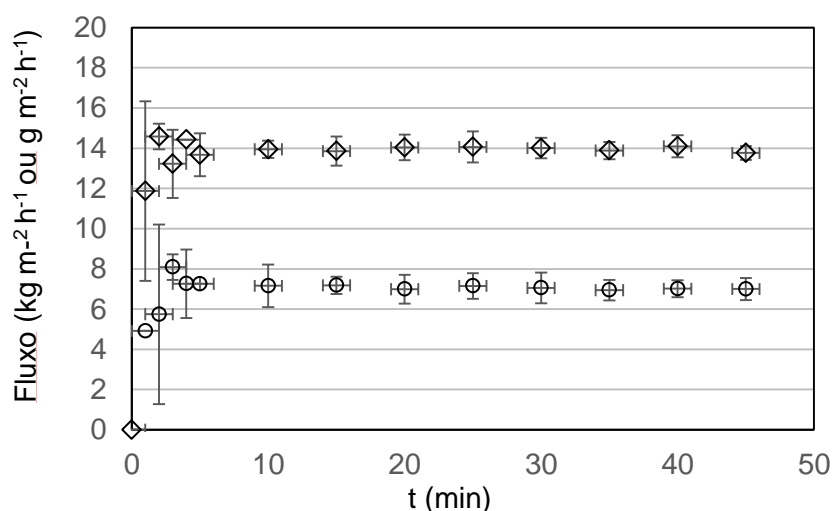
como os testes preliminares representam uma investigação inicial e a concentração foi obtida por análise quantitativa tanto antes quanto após os testes, não gerando impacto negativo na análise dos resultados.

4.2 TESTES PRELIMINARES DE CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS/REMOÇÃO DE ETANOL

4.2.1 Caracterização das membranas

O procedimento de caracterização das membranas com relação ao desempenho hidráulico (fluxo permeado de água e inverso de sal) foi realizado conforme descrito nos materiais e métodos. A Figura 7 mostra o comportamento das duas variáveis com o tempo para as caracterizações iniciais dos testes 1 e 2.

Figura 7 - Variação do fluxo de água (\diamond) e fluxo inverso de soluto (o) da etapa de caracterização da membrana.



Condições de operação: modo OD, 20 °C, 25 cm s⁻¹, água destilada/deionizada como SA e solução de NaCl 1M como SO.

O fluxo de água mostrou-se praticamente constante, passados os minutos iniciais do processo, sugerindo que este atinge um estado pseudo-estacionário, uma vez que a dinâmica do processo de diluição da SO é muito lenta para ser observada no intervalo de tempo do teste.

O fluxo inverso de soluto foi determinado a partir da variação de condutividade elétrica da solução de alimentação, causada pelo aumento da concentração dos íons de cloreto de sódio provenientes da solução osmótica. É importante ressaltar que a redução de volume da alimentação ao longo do processo foi considerada no cálculo. O comportamento dinâmico foi semelhante à do fluxo de água.

Os valores obtidos para concentração de NaCl ao longo do teste e a relativa estabilidade do fluxo de água durante o tempo de medição indicam que não houve aumento ou redução significativa na pressão osmótica da solução de alimentação e osmótica, respectivamente. Os fluxos médios de água e NaCl obtidos antes da etapa de concentração de compostos fenólicos/remoção de etanol foram: $14 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e $7,1 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

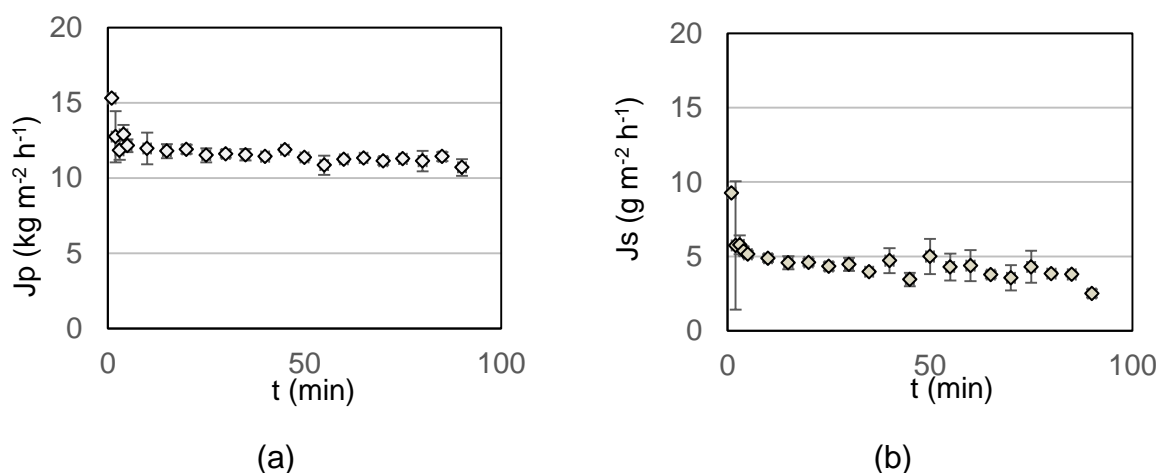
O fluxo médio de água obtido para as amostras foi consideravelmente próximo ao encontrado por Cath et al.(2013) em estudo com membranas de triacetato de celulose, realizado com parâmetros semelhantes, enquanto o valor médio obtido para o fluxo inverso de soluto foi bastante inferior ao obtido no mesmo estudo, de aproximadamente $11 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Essa diferença de desempenho hidráulico entre as membranas deve-se possivelmente às variações existentes entre as bateladas de produção das membranas, principalmente considerando que o tamanho de amostra estudada é relativamente pequeno (20 cm^2).

Os valores de fluxo de água e inverso de soluto após a etapa de remoção de etanol foram iguais a $11,5 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e $4,2 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Esses valores são diferentes dos obtidos na caracterização antes da concentração de antocianinas, indicando que pode ter ocorrido alteração significativa nas características da membrana utilizada, principalmente devido ao contato da membrana com o etanol. Esse efeito foi observado por Cath et al., (2013).

4.2.2 Desempenho da concentração e remoção de etanol de solução aquosa compostos fenólicos

O processo de concentração e remoção do solvente da solução de mirtilo foi realizado conforme explicitado no capítulo 3. A Figura 8 mostra o comportamento do fluxo permeado (água/etanol) e do fluxo inverso de soluto com o tempo.

Figura 8 - Fluxo de permeado (a) e inverso de soluto (b).



Condições de operação: modo OD, 20 °C, 25 cm s⁻¹, solução de mirtilo como SA e solução de NaCl 2M como SO.

O fluxo médio de permeado entre os dois testes foi de 11,4 kg m⁻²h⁻¹ enquanto o fluxo de etanol, obtido a partir da variação da concentração de etanol da solução de alimentação, foi igual a 0,85 ± 0,09 kg m⁻² h⁻¹. Houve uma diminuição da concentração média de etanol de 72,85 g L⁻¹ para 60,3 g L⁻¹. Para fins de comparação entre o início e o fim do processo, foi considerada a reconstituição da SA ao seu volume inicial (200 ml).

Para determinar o fluxo inverso de NaCl os valores de condutividade coletados ao longo do teste foram relacionados com uma curva de calibração conforme descrito na seção 3.5.2. Na Figura 8 (b) é possível observar que a reprodutibilidade da medição da passagem de soluto para SA possui limitações inerentes à técnica, uma vez que mesmo com o uso de agitação magnética para manter a solução homogeneizada, o líquido pode permanecer estagnado por vários minutos dentro da célula eletrolítica, gerando erros de medição da condutividade elétrica. Além disso, a alta concentração de compostos presentes na solução também pode interferir na leitura.

Apesar de ocorrer em magnitude muito inferior, na ordem de 1000 vezes menor, se comparado na mesma unidade do fluxo permeado, o fluxo inverso de NaCl representa uma limitação para utilização da OD, pois diminui a pressão osmótica entre as soluções e representa um componente indesejado no produto

final. O maior fluxo pontual obtido nos dois testes foi de aproximadamente $10,8 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

Quanto à concentração dos componentes bioativos do mirtilo, foi possível verificar que tanto as antocianinas como os compostos fenólicos totais foram concentrados em 13,4 % e 23,3 %, respectivamente, como é possível verificar na Tabela 2.

Tabela 2 - Teor de antocianinas e polifenóis em mg L^{-1} , no início (CiA, CiF) e fim (CfA, CfF) dos testes, respectivamente.

	CiA	CfA	CiF	CfF
Média	51,7	59,7	24,5	31,9

4.3 TESTE PRINCIPAL DE CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS / REMOÇÃO DE ETANOL

A necessidade de um experimento com maior fator de concentração surgiu devido aos questionamentos levantados quanto ao verdadeiro desempenho obtido nos testes preliminares, uma vez que o fator de concentração alcançado foi de apenas 1,2.

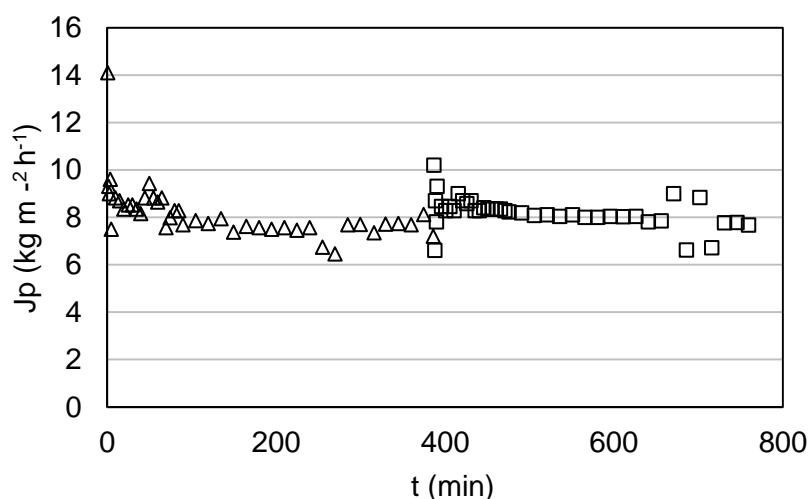
Esse teste foi realizado em duas etapas iguais em virtude de seu longo tempo de duração, aproximadamente 14 horas, e principalmente para comparar o comportamento do fluxo de etanol nas duas etapas, visto que entre elas houve reposição de agente osmótico a fim de eliminar a influência do decréscimo no fluxo de etanol.

A membrana de triacetato de celulose usada nesta etapa também foi caracterizada quanto ao desempenho hidráulico, apresentando valores iguais a $13,9 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e $17,5 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para o fluxo de água e para o fluxo de soluto, respectivamente. Após a etapa de concentração de fenólicos, os valores obtidos foram iguais a $10,8 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e $26,2 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

4.3.1 Desempenho da concentração e remoção de etanol de solução aquosa compostos fenólicos

A Figura 9 mostra o comportamento do fluxo de permeado ao longo do tempo para as duas etapas do teste principal, o de fator de concentração obtido ao final primeira etapa foi de 1,3 e de 1,8 ao final da segunda.

Figura 9 - Gráfico comparativo do fluxo de permeado entre as etapas 1 (Δ) e 2 (\square) do teste principal.

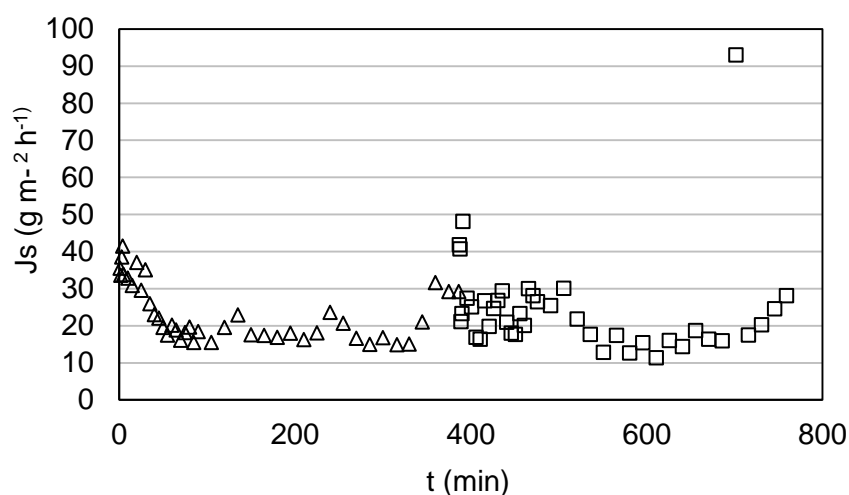


Condições de operação: modo OD, 20 °C, 25 cm s⁻¹, solução de mirtilo como SA e solução de NaCl 2M como SO.

É possível observar que o desempenho do fluxo de permeado apresentou comportamento e valores de fluxo médio praticamente igual nas duas etapas. No entanto o fluxo médio de permeado, 8 kg m⁻² h⁻¹, foi ligeiramente menor que o obtido nos testes anteriores. Isso pode estar relacionada tanto ao maior efeito de diluição da SO ao longo do teste mais longo quanto à maior concentração inicial de etanol da solução de alimentação (cerca de 38 % maior que dos testes preliminares). As duas características fazem com que a diferença de pressão osmótica, força motriz do processo, seja menor que nos testes preliminares. O efeito de diluição também é observado pela redução, de aproximadamente 10 % entre as duas etapas, do fluxo de permeado ao longo do tempo. Uma particularidade deste experimento foram os altos fluxos NaCl, a média nas duas etapas foi de 20 g m⁻² h⁻¹, valor bastante elevado se comparado a média dos testes preliminares que foi de 4 g m⁻² h⁻¹. Esse

valor mais elevado está associado ao desempenho da amostra, uma vez que na etapa de caracterização o fluxo inverso de soluto também foi elevado se comparado com aqueles observados nos testes preliminares. A variação do fluxo inverso de soluto com o tempo é apresentada na Figura 10.

Figura 10 - Gráfico comparativo do fluxo de NaCl entre as etapas 1 (Δ) e 2 (\square) do teste principal.



Condições de operação: modo OD, 20 °C, 25 cm s⁻¹, solução de mirtilo como SA e solução de NaCl 2M como SO.

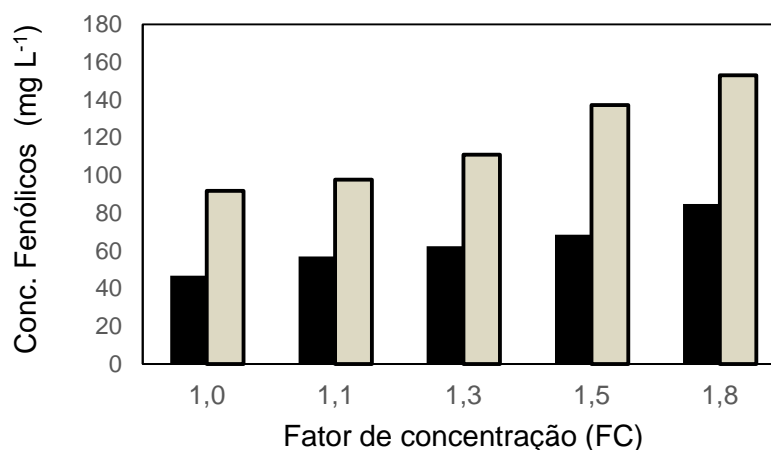
Com relação ao fluxo de etanol médio, foi obtido valor igual a 1,0 kg m⁻² h⁻¹, cerca de 20 % maior que o obtido nos testes preliminares. Isso pode estar relacionado à maior concentração de etanol na alimentação no início do teste, uma vez que o gradiente de concentração de etanol é o principal responsável pelo seu transporte através da membrana (Ambrosi et al., 2017).

4.3.2 Concentração dos compostos fenólicos

As análises de teor de antocianinas e polifenóis foram feitas segundo o método de pH diferencial e Folin-Ciocalteu, respectivamente. Conforme é possível verificar na Figura 11 a concentração de antocianinas e fenóis totais aumenta com o fator de concentração volumétrico, resultado esperado considerando a alta rejeição da membrana para estes compostos de alta massa molar. O resultado foi um aumento da concentração de 40 % das antocianinas e 45 % dos polifenóis. Tal

comportamento confirma os resultados obtidos nos testes preliminares, comprovando a boa aplicabilidade da membrana de CTA em processos de concentração por OD de compostos bioativos termolábeis.

Figura 11 - Variação da concentração das antocianinas (□) e polifenóis (■) com o fator de concentração.



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Foi investigada a concentração e remoção de etanol de solução aquosa diluída de antocianinas e compostos fenólicos, extraídos do bagaço de mirtilo com 50 % m/m de etanol, por Osmose Direta.

Considerando os resultados obtidos nos testes preliminares e no teste principal, é possível verificar que a osmose direta representa um processo interessante a ser estudado com mais detalhe para a concentração de compostos antioxidantes ao mesmo tempo em que reduz a concentração dos compostos orgânicos utilizados na sua extração, como o etanol. Entretanto, deve-se considerar que o fluxo inverso de soluto é um fator limitante do processo, uma vez que não é de interesse aumentar a concentração dele na alimentação. Nesse caso, a realização do processo com membranas mais seletivas ao soluto e mais estáveis com relação à presença do etanol pode ser de interesse.

O alto fluxo inverso de soluto observado, $20 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, no experimento que atingiu o maior fator de concentração (1,8), mostra a necessidade de realizar testes com outros tipos de soluto como agente osmótico. Como exemplo, pode-se citar o

trabalho de Ambrosi et al., 2017, que utilizaram a glicose, um soluto orgânico, e verificaram que não houve aumento de fluxo inverso conforme foi elevada sua concentração na solução osmótica em estudo.

Os baixos fatores de concentração utilizados (1,2 a 1,8) e a estabilidade do fluxo de permeado, até o fim dos experimentos, mostraram que valores maiores de concentração de antocianinas poderiam ter sido alcançados. Dessa forma um novo teste poderia ser realizado visando concentrar a solução de antocianinas até se observar diminuição considerável no fluxo de permeado, determinando assim o máximo fator de concentração nessas condições de operação.

Ainda outro ponto que poderia ser testado é a acidificação da solução de extração das antocianinas e seu impacto nos diferentes tipos de membrana de osmose direta. A média de pH das amostras de solução de alimentação foi 3,7, porém o ponto ótimo de extração destes compostos é de 2 a 3,3 (Kechinski, 2011). A osmose direta se destaca ainda devido a facilidade com que pode ser modulada e empregada junto a outras técnicas de concentração. Entretanto esta é uma tecnologia que, apesar de já ter aplicabilidade consolidada, esta em desenvolvimento. Dessa forma configura um vasto campo de pesquisa para otimizar a aplicação de técnicas de separação membranas, como por exemplo, o desenvolvimento de membranas com melhor desempenho de fluxo de permeado e menor fluxo inverso de soluto. Outro ponto importante de estudos é natureza da solução osmótica, explorando diferentes reagentes com potencial para ser aplicado como agente osmótico, visando até mesmo à utilização de outros subprodutos da indústria para esse papel.

REFERÊNCIAS

AMBROSI, A. *et al.* Impact of Osmotic Agent on the Transport of Components Using Forward Osmosis to Separate Ethanol from Aqueous Solutions. **AIChE Journal**, p. 1–9, 2017.

AREND, G. D. *et al.* Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. **Journal of Food Engineering**, v. 201, p. 36–41, 2017.

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

CASTAÑEDA-OVANDO, A. *et al.* Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CATH, T. Y. *et al.* Standard Methodology for Evaluating Membrane Performance in Osmotically Driven Membrane Processes. **Desalination**, v. 312, p. 31–38, 2013.

CATH, T. Y.; CHILDRESS, A. E.; ELIMELECH, M. Forward osmosis: Principles, applications, and recent developments. **Journal of Membrane Science**, v. 281, n. 1–2, p. 70–87, 2006.

CHUNG, T.-S. *et al.* Forward osmosis processes: Yesterday, today and tomorrow. **Desalination**, v. 287, n. 0, p. 78-81, 2012.

DINCER, C.; TONTUL, I.; TOPUZ, A. A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 57–64, 2016.

European Commission (DG ENV) (2010) Preparatory Study on Food Waste across EU 27, **European Commission**

FENNEMA, O. R. **Food chemistry: CRC Press**. 2010. 1144 p.

FRANCIS, F. J. e MARKAKIS, P. C. Food colorants: Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.28, n.4, p.273 - 314. 1989.

GE, Q.; LING, M.; CHUNG, T.-S. Draw solutions for forward osmosis processes: Developments, challenges, and prospects for the future. **Journal of Membrane Science**, v. 442, n. 0, p. 225-237, 2013.

GIUSTI, M. M. e WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of

anthocyanins by uv-visible spectroscopy. In: (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry: John Wiley & Sons, Inc, 2001**. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy

KECHINSKI, C. P. Study of different forms of processing blueberry for the preservation of anthocyanic compounds. **Lume UFRGS**, 2011.

KONCZAK, I. e ZHANG, W. Anthocyanins - more than nature's colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2004, n.5, p.239-240. 2004.

KOWALCZYK, E., KRZESINSKI, P., KURA, M., SZMIGIEL, B. e BLASZCZYK, J. Anthocyanins in medicine. **Polish Journal of Pharmacology**, v.55, p.699-702. 2003.

LEE, S. *et al.* Comparison of fouling behavior in forward osmosis (FO) and reverse osmosis (RO). **Journal of Membrane Science**, v. 365, n. 1–2, p. 34–39, 2010.

LUCHESE, C. L. *et al.* Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, Part, p. 11–18, nov. 2017.

MARTYNENKO, A.; CHEN, Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. **Journal of Food Engineering**, v. 171, p. 44–51, 2016.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology Second Edition**. Kluwer, 1996.

NORRISH, R. S. An equation for the activity coefficients and equilibrium relative humidities of water in confectionery syrups. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 1, n. 1, p. 25-39, 1966.

PATRAS, A. *et al.* Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 3–11, 2010.

PESCHEL, W. *et al.* An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 137–150, 2006.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. Exploitation of Food Industry Waste for High-Value Products. **Trends in Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 58–69, 2016.

SANT'ANNA, V.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Membrane concentration of liquid foods by forward osmosis: Process and quality view. **Journal**

of Food Engineering, v. 111, n. 3, p. 483–489, 2012.

SARKIS, J. R. Construction of an ohmic heating system and its application in the heat treatment of blueberry pulp. **Lume UFRGS**, 2011.

SARKIS, J. R. *et al.* Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 79–85, 2013.

SOUSA, M. B. Blueberry: **Post-harvest quality**. Portugal. 2007

SHUKITT-HALE, B., CAREY, A. N., JENKINS, D., RABIN, B. M. e JOSEPH, J. A. Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging. **Neurobiology of Aging**, v.28, p.1187-1194. 2007.

TIRAFERRI, A. *et al.* Relating performance of thin-film composite forward osmosis membranes to support layer formation and structure. **Journal of Membrane Science**, v. 367, n. 1–2, p. 340-352, 2011.

WEBER, F.; LARSEN, L. R. Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. **Food Research International**, n. March, p. 0–1, 2017.

YU, Y. *et al.* Nanoporous polyethersulfone (PES) membrane with enhanced flux applied in forward osmosis process. **Journal of Membrane Science**, v. 375, n. 1–2, p. 63–68, 2011.