



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM
ENGENHARIA QUÍMICA



**Clarificação do extrato obtido
a partir do resíduo da
fabricação d suco de beterraba
(*Beta Vulgaris L.*) por
microfiltração**

Autor: Filipe Corrêa

Orientadora: Aline Cassini

Coorientadora: Cláudia Destro

Porto Alegre, dezembro de 16

Sumário

Sumário	ii
Agradecimentos	iv
Resumo	vi
Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	viii
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Resíduos	3
2.2 Beterraba	4
2.3 Betalaínas	6
2.4 Processo de separação por membranas	8
2.4.1 Definições básicas	10
2.4.2 Fluxo permeado e fluxo crítico	10
2.4.3 Polarização por concentração	12
2.4.4 Fouling	12
2.5 Microfiltração	14
3 Materiais e Métodos	15
3.1 Matéria prima	15
3.1.1 Tratamento preliminar das beterrabas	15
3.1.2 Preparo da amostra bruta	16
3.2 Extrações	16
3.3 Medidas de concentração de betalaínas	18
3.3.1 Estabilidade das betalaínas	19
3.4 Procedimento de preparo para clarificação do extrato	19
3.4.1 Membranas	19
3.4.2 Sistema de membranas	19
3.4.3 Compactação das membranas	20
3.4.4 Determinação da tendência ao fouling através da permeância hidráulica	20
3.4.5 Limpeza das membranas	21
3.5 Testes preliminares	22
3.5.1 Concentração de betalaínas da alimentação	22
3.5.2 Determinação de pressão de operação	22
3.6 Clarificação do extrato	22
3.6.1 Microfiltração	22
3.6.2 Análises físico-químicas	23
3.6.3 Análise adicional – taxa de degradação das betalaínas	23
4 Resultados	24
4.1 Testes preliminares	24

4.1.1	Extrações exaustivas	24
4.1.2	Determinação da pressão de operação	26
4.2	Clarificação dos extratos	26
4.2.1	Compactação	26
4.2.2	Permeância hidráulica	27
4.2.3	Fluxo permeado	29
4.2.4	Análises de concentração de betalaínas	30
4.2.5	Análises físico-químicas	32
5	Conclusões e Trabalhos Futuros	34
6	Referências	35

Agradecimentos

À minha mãe, Antônia, por ser minha maior incentivadora, melhor amiga e maior exemplo de superação e alegria de viver. Por ter acreditado em mim, por torcer pela minha graduação mais do que eu mesmo. Por ser meu ombro amigo, minha conselheira, minha luz. Um parágrafo não é o suficiente para representar minha gratidão por tê-la como mãe e por tudo que fez por mim. Me entristece o fato de ela já ter partido e não estar comigo para apreciar minha vitória, mas essa conquista é acima de tudo e todos, principalmente por ela. Onde estiver, mãe, sinta-se feliz, seu Leleco conseguiu. Jamais te esquecerei. Te amo.

Ao meu pai, Roque, por ser meu primeiro professor, por nunca me cobrar mais do que meu limite permitia, por nunca me pressionar nem mesmo ao meu limite. Por me deixar voar com minhas asas, sem nunca me cobrar nada. Por aguentar a distância e irritação de um filho sempre ocupado e estressado e por sempre me ajudar no que precisei e ser fonte inesgotável de carinho.

A ambos, por me ensinarem valores importantes como humildade, honestidade e amor ao próximo. Por sacrificarem seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

Ao meu irmão Fabiano, meu maior ídolo. Por dividir todos os fardos. Por se preocupar comigo e me ligar praticamente diariamente, mesmo eu sendo um adulto feito. Por me amar como eu sou, por torcer por mim, por chorar comigo. Por comemorar por cada passo arrastado que dei na faculdade. Por ser exemplo de irmão, marido e pai de família. Tu és meu espelho, meu exemplo de caráter. De mãos dadas ainda iremos muito longe.

À minha cunhada Samantha por me escutar, me aconselhar e me dar dois dos meus maiores amores, minhas sobrinhas e afilhadas Sthefane e Maria Antônia. A essas duas últimas por aguentarem a distância do dindo e por me fazerem rir sempre que me veem.

À minha dinda, Antônia, que se sai muito bem no papel de mãe postiça. Por ser meu abrigo e por se doar para me ver feliz. Ao meu dindo, Alexandre, pois sem ele eu não seria um entusiasta da leitura e provavelmente nunca teria entrado numa Federal. A todos os outros membros da minha família que através de exemplos e contraexemplos, ajudaram a formar meu caráter e discernir o certo do errado no mundo.

Aos meus melhores e fiéis amigos: Ao Bruno, por ser minha voz da razão e por me aguentar há 7 anos como *roomie* e "*brotha from anotha motha*", por ser tão diferente e ao mesmo tempo tão igual a mim, por me compreender e me ajudar a não deixar a peteca cair quando a vida nos deu uma rasteira; Ao Loló, por ser fonte de inspiração e sabedoria, por rir de absolutamente todas minhas piadas e por me apresentar um mundo de serenidade; Ao Corvo por ser um pássaro fofo que me alegra sempre que aparece e por dividir nerdices e *guilty pleasures* além da conta; Ao Leonardo, por me inspirar, me ajudar a me aceitar como sou e me ensinar o *pajubá* e as peripécias de um mundo novo que eu adorei conhecer e do qual não me vejo fora;

À Julia, por encher meu mundo de cores e me ajudar a aguentar o Bruno. À Tia Chica, pela barra que segurou comigo e por me fazer sorrir quando tudo que eu queria era largar tudo e chorar. À Érica, pela compreensão, pelo incentivo, pelo estímulo, por existir na minha vida. À Joana, por dividir comigo meu lado mais puro e inocente, meu lado criança.

A toda a turminha feliz (Cássia, Vicenti, Futu, Luis Felipe, Giane e Luhzinha), que como o próprio nome diz, é fonte de amor e felicidade. Ao Rig, que chegou ontem mas que foi um importante amigo nessa reta final de faculdade e por mesmo sem saber, inspirar meu lado artístico.

Ao Zanatta e à Karina, por serem a melhor parte de uma fase, por serem um oásis no deserto, por trazerem nossa amizade para muito além da ex-firma.

À Professora Michèle Oberson por todo seu apoio e por me fazer ingressar no mundo da pesquisa.

À minha Professora Orientadora Aline Cassini, por entender minhas limitações e por ser mais que uma professora, por ser uma amiga. À Claudia Destro, minha Coorientadora, por seus puxões de orelha e paciência em me auxiliar na pesquisa que culminou nesse trabalho.

Ao Professor Pedro Fernandes, por ser um excelente profissional, que nunca me deu aula, mas que me auxiliou com todas os problemas de estágios e outras burocracias da faculdade enquanto era coordenador da COMGRAD.

A todos os inúmeros amigos que conheci na faculdade. A todos vocês que fizeram minha vida ser um mosaico de vivências e culturas. Por me apresentarem todas as faces de um poliedro. Por me tornarem rico, por dividirem comigo minha vida e por me deixarem entrar na de vocês. A todos aqueles que contribuíram com uma frase, um exemplo, uma risada, um abraço, um olhar, uma história, um amor.

Essa conquista é de todos vocês. Obrigado!

Resumo

Em todo mundo, são desperdiçados diariamente milhões de toneladas de alimentos durante toda a cadeia de produção. A produção de resíduos pela agroindústria é um problema social, ambiental e econômico. Muitos desses resíduos apresentam consideráveis quantidades de compostos de alto valor nutritivo e várias técnicas visam a reutilização desses resíduos para destina-los a fins mais úteis do que a tradicional compostagem. A produção de suco de beterraba, por exemplo, gera grande quantidade de um bagaço rico em pigmentos denominados betalaínas que conferem a esse vegetal a coloração vermelho-violeta. Esses pigmentos podem ser usados nas indústrias farmacêutica, de cosméticos e de alimentos. A obtenção das betalaínas do bagaço é feita via extração com água e o extrato fica sujeito à degradação dos pigmentos devido a ação de enzimas e outras macromoléculas presentes na solução. Ou seja, se torna um desafio a estabilização dos pigmentos desse extrato. Para tal, o estudo aqui descrito tem o intuito de usar o método de clarificação do extrato via microfiltração por membranas para se retirar moléculas que afetem a estabilidade das betalaínas. Foram realizados dois experimentos de clarificação e foram avaliadas características físico-químicas das amostras de extrato como concentração, turbidez, pH e sólidos totais antes e após os processos de microfiltração. Também foram avaliados os parâmetros de operação da planta de membranas e o comportamento do fluxo permeado durante os experimentos de microfiltração. A pressão crítica da membrana com a solução padrão foi de 0,6 bar, levando a uma operação com pressão padrão de 0,5 bar. Não se obteve análise conclusiva quanto a tendência ao *fouling* da membrana estudada (a tendência ao *fouling* para os dois experimentos de microfiltração foram de 64,1 e 38,7%, respectivamente). O fluxo permeado durante os experimentos se estabilizou em 34,9 L m⁻² h⁻¹ e 29,8 L m⁻² h⁻¹, demonstrando certa uniformidade dos dois experimentos. As análises de concentração dos experimentos foram divergentes entre si, porém a análise de estabilidade de concentração demonstrou que o permeado tem boa estabilidade em relação às soluções de alimentação inicial e final, além disso, o processo de microfiltração apresentou apreciável redução de turbidez e sólidos solúveis para o permeado, atestando boa eficácia do procedimento. As perspectivas para o prosseguimento desse trabalho se baseiam na análise de atividade enzimática que não pode ser conduzida nesse estudo.

Lista de Figuras

Figura 2.1: Estrutura química geral da betalaína.....	6
Figura 2.2: Representação simplificada das correntes envolvidas no processo de separação por membranas	10
Figura 2.3: Representação esquemática do processo de polarização por concentração no PSM	12
Figura 2.4: Variação esquemática no fluxo permeado com o tempo de operação.	13
Figura 2.5: Ilustração dos fenômenos associados ao <i>fouling</i>	14
Figura 2.6: Valor bruto de mercado de Microfiltração de 1990 a 2010	15
Figura 3.1: Esquema do tratamento preliminar da amostra e extrações.	17
Figura 3.2: Fotografia do sistema de membrana utilizado na microfiltração: tubulações de alimentação, de concentrado, de permeado e de descarte (1, 2, 3 e 4 respectivamente); manômetros (5 e 6); módulo com a membrana (7); bomba diafragma (8); caixa térmica de ciclopentano (9); banho de resfriamento ultratermostático (10); válvulas agulha (11 e 12).	19
Figura 4.1 Fluxo médio permeado durante o experimento de determinação de pressão de operação	26
Figura 4.2: Comportamento do fluxo permeado em função da pressão antes e após os experimentos de microfiltração.	28
Figura 4.3: Fluxo permeado ao longo do tempo de processo nos experimentos de MF 1 e 2, com pressão de 0,5 bar.....	29
Figura 4.4: Concentração de betalaínas das amostras de alimentação inicial, final e de permeado para o experimento 2 para os dias após à MF 2	31
Figura 4.5: Concentração de betalaínas das amostras de alimentação inicial, final e de permeado para o experimento 2 para os dias após à MF 2	31

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Quantidade de elementos em 100 g da parte comestível da beterraba hortícola	5
Tabela 3.1: Massa inicial de beterraba processada, bagaço e suco obtido	16
Tabela 3.2: Fatores de diluição utilizadas nas três extrações sucessivas para as leituras de concentração	18
Tabela 4.1: Massa de beterraba utilizada, massa de bagaço e volume de suco obtidos no experimento de extração exaustiva	24
Tabela 4.2: Concentrações de betanina das amostras de beterraba usadas nas extrações exaustivas.....	25
Tabela 4.3: Valores de permeância hidráulica antes e depois dos experimentos de microfiltração e seus respectivos R^2	28
Tabela 4.4: Concentrações de alimentação inicial, final e de permeado obtidas para os processos de mirofiltração 1 e 2.....	30
Tabela 4.5: Concentrações de batalaínas nas alimentações iniciais e finais das amostras do experimento de MF 2 e taxa de degradação de concentração de betalaínas.	32
Tabela 4.6: Turbidez, sólidos solúveis e pH das amostras dos experimentos 1 e 2.....	33

1 Introdução

Um dos grandes desafios do ser humano para as próximas gerações é diminuir de maneira eficiente a geração de resíduos durante toda a cadeia de produção tanto de manufaturas como, principalmente, de alimentos.

Na indústria alimentícia, comumente, partes menos importantes dos alimentos são tratadas como resíduos e necessitam de estudos aprofundados para seu reaproveitamento, o que raramente vai além da compostagem ou do uso como biomassa. Porém, muitos desses resíduos ainda apresentam relevante quantidade de elementos que os conferem boas propriedades nutricionais e/ou funcionais. Além disso, esses resíduos contêm inúmeras substâncias que podem ter alto valor quando isoladas e tratadas para uso em outros processos, principalmente na própria indústria alimentícia.

Devido ao vasto território e clima propício, o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de *commodities* agrícolas. Um vegetal comumente cultivado no país é a beterraba, que é utilizada na alimentação humana, na produção de açúcar, bioetanol e biogás. Um uso menos comum da beterraba é a produção de suco, porém a utilização da beterraba para esse fim vem crescendo com o aumento da conscientização de se buscar alternativas de alimentação mais saudável, nutritiva e menos danosas ao meio ambiente.

Nesse contexto, a produção de suco de beterraba gera um bagaço semi-sólido como resíduo. Esse bagaço é rico em pigmentos naturais denominados betalaínas. Esses pigmentos são antioxidantes naturais que apresentam vários benefícios à saúde. Além de substituição aos corantes sintéticos amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos.

Para seu amplo uso, os pigmentos precisam ser extraídos do bagaço da beterraba e o extrato, clarificado, ou seja, é necessário um processamento capaz de remover componentes que degradam os pigmentos, como enzimas, e outras substâncias que não são de interesse no corante, como açúcares. Uma alternativa para a clarificação do extrato é a utilização de processos de microfiltração.

Os processos de separação por membranas são amplamente utilizados na indústria para a separação de misturas, soluções e suspensões que apresentem espécies químicas de tamanho e natureza química diferentes. Esse tipo de processo pode ser empregado quando se deseja a

2 Clarificação do extrato obtido a partir do resíduo da fabricação d suco de beterraba (Beta Vulgaris L.) por microfiltração

obtenção de determinado produto sem que se altere de maneira significativa as propriedades estruturais, organolépticas e nutricionais.

O objetivo do trabalho é avaliar a eficácia do método de microfiltração para clarificação do extrato do bagaço do suco de beterraba, com intuito de se obter um extrato com boa estabilidade dos pigmentos.

Neste estudo, portanto, serão apresentados experimentos e análises que tentam dar suporte para a realização do objetivo proposto. O trabalho está estruturado em uma revisão da literatura sobre os processos de separação por membranas e os pigmentos presentes na beterraba vermelha, bem como no desenvolvimento de uma metodologia adequada para a realização dos testes. Por fim, estão apresentados os resultados com uma análise crítica e considerações sobre a viabilidade da continuação do estudo no futuro.

2 Revisão Bibliográfica

A seguir serão abordados os aspectos teóricos e informações presentes na literatura consultada que visam permitir a melhor compreensão do assunto abordado neste trabalho. Os pontos apresentados nesta seção contemplam um estudo sobre resíduos da indústria alimentícia, bem como a apresentação da matéria-prima utilizada e dos pigmentos chamados betalaínas que são o objeto principal do estudo. Além disso, será abordado um breve histórico dos processos de separação por membranas com foco em microfiltração.

2.1 Resíduos

Desperdício de alimentos significa desperdício de recursos naturais como água, área de cultivo e energia. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), anualmente, um terço dos alimentos produzidos para consumo humano é perdido ou desperdiçado (1,3 bilhões de toneladas) em todo mundo (Gustavsson *et al*, 2011). Os resíduos são produzidos por toda cadeia de produção dos alimentos, desde a agricultura e pesca até o consumo doméstico (Kummu *et al* 2012).

Em setembro de 2015, o Conselho de Desenvolvimento Sustentável da ONU concordou em adotar decisões do documento “*Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development*”, que definiu 17 objetivos para o desenvolvimento sustentável (SDG) para proteger o planeta e garantir prosperidade para as próximas gerações. Em particular, o objetivo 12 (SDG 12) sustenta a garantia de padrões de consumo e produção sustentáveis, promovendo eficiência energética e de uso de recursos naturais. Uma substancial redução de desperdício gerado através da prevenção, minimização, reciclo e reuso, noção de uma abordagem sistêmica e cooperação entre os setores que operam a cadeia de abastecimento, do produtor ao consumidor final são um importante objetivo do SDG 12 (Unga, 2015).

Devido ao seu largo território geográfico, alta incidência solar e clima tropical, países como Brasil, China e Índia são respectivamente, os maiores produtores mundiais de vegetais frescos e processados (Silva *et al* 2014). A geração de resíduos provenientes do processamento de frutas e vegetais é tradicionalmente considerada como um problema ambiental. Porém, estes resíduos vêm sendo crescentemente apontados como fontes de obtenção de produtos de alto valor agregado como aditivos alimentares, conservantes, antioxidantes, flavorizantes, corantes, texturizadores e fibras alimentares com benefícios

econômicos e ambientais dentro do contexto da abordagem do “zero-desperdício” (Ayala-Zavala, 2011).

Com o crescente interesse e conscientização da população na busca de uma alimentação mais saudável e com viés de manufatura sustentável, aumenta, a cada dia, a produção de sucos de diferentes vegetais que não são tradicionalmente utilizados para esse fim. Como exemplo, pode-se citar o suco de beterraba, que mesmo não sendo tão popular como os sucos de outras frutas como tomate, cenoura, maçã ou manga, pode apresentar sabor apreciável em comparação a outros vegetais pelo seu alto nível de açúcar (Wootton & Ryan 2011). A produção do suco de beterraba envolve a geração de resíduos como o talo, cujo processo de clarificação foi estudado por Santos e colaboradores (2016) através dos processos de micro e ultrafiltração, além de gerar significativa quantidade de bagaço (resíduo que necessita de meios de reaproveitamento além da tradicional compostagem).

2.2 Beterraba

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, com diversos biótipos, sendo três deles de significativa importância econômica, que são: beterraba açucareira, forrageira e hortícola. A beterraba hortícola, também conhecida como beterraba vermelha ou beterraba de mesa (Tivelli *et al*, 2011) é o biótipo mais cultivado no Brasil.

A beterraba vermelha (*Beta vulgaris L.*) figura entre os 10 vegetais mais poderosos no que diz respeito a sua capacidade antioxidante correspondendo a um conteúdo de compostos fenólicos de 50–60 $\mu\text{mol/g}$ em peso seco (Kähkönen *et al* 1999). Ela contém significativa quantidade de ácidos fenólicos: ferúlico, protocatecólico, vanílico, p-coumarico, p-hidrobencóico e ácidos siríngicos (Kujala *et al*, 2000). Plantas com compostos fenólicos tem recebido muita atenção devido a sua capacidade enquanto depuradoras de radicais livres no processo de oxidação de moléculas biológicas (Pedreño & Escribano, 2000).

Na Tabela 2.1 estão apresentados alguns dados de composição e valor nutritivo da beterraba hortícola.

Tabela 2.1: Quantidade de elementos em 100_g da parte comestível da beterraba hortícola

Componente	Parte aérea	Bulbo
Água (%)	90,9	87,3
Valor energético (cal)	24	43
Proteínas (g)	2,2	1,6
Lipídios (g)	0,3	0,1
Carboidratos totais (g)	4,6	9,9
Fibras (g)	1,3	0,8
Cinzas (g)	2	1,1
Cálcio	119	16
Fósforo (mg)	40	33
Ferro (mg)	3,3	0,7
Sódio (mg)	130	60
Potássio (mg)	570	335
Vitamina A (U.I.)	6100	20
Tiamina (mg)	0,1	0,03
Riboflavina (mg)	0,22	0,05
Niacina (mg)	0,4	0,4
Ácido ascórbico	30	10

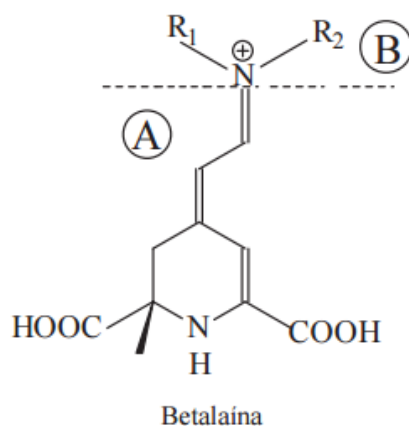
Fonte: Tivelli, 2011

Tem se observado aumento crescente de consumo de beterraba *in natura* e sua utilização na obtenção de corantes naturais para aplicação nas indústrias de conservas, *catchups* e iogurtes (Tivelli *et al*, 2011). A cor da beterraba de mesa é vermelho-arroxeadada devido à presença de betalaínas, produtos naturais provenientes do metabolismo secundário das plantas e pertencente ao grupo dos compostos secundários nitrogenados (Tivelli *et al*, 2011), os quais estão melhor apresentados a seguir.

2.3 Betalaínas

Betalaínas são pigmentos fenólicos nitrogenados e hidrossolúveis, localizados nos vacúolos das plantas (Ravichandran *et al*, 2013). Quimicamente, as betalaínas são definidas por uma estrutura que engloba todos os componentes que apresentam uma fórmula geral como na Figura 2.1.

Figura 2.1: Estrutura química geral da betalaína



Fonte: Adaptado de Schoefs e de Cai *et al*

Na Figura 2.1, (A) é o Ácido betalâmico presente em toda molécula de betalaína. E (B) desta estrutura poderá representar tanto a betacianina quanto a betaxantina, dependendo da identidade dos radicais 1 e 2.

Estes radicais são uma representação geral para os possíveis substituintes desse ponto da estrutura, que podem ser de um simples hidrogênio à um complexo substituinte. A variação desses grupos é em função das diferentes fontes de onde podem ser obtidos esses pigmentos e determinam sua tonalidade e estabilidade. Desta forma, as betalaínas podem

ser divididas em dois grupos estruturais: as betacianinas (vermelho-violeta) e as betaxantinas (amarelo-alaranjado) (Schoefs B, 2004).

São descritos na literatura aproximadamente 50 tipos de betacianinas (pigmentos vermelhos) e 20 tipos de betaxantinas (pigmentos amarelos). As beterrabas contêm ambos os corantes, cerca de 75-95% de betacianina (betanina) e aproximadamente 5% de betaxantina (Cai *et al*, 2005).

Esses pigmentos têm efeitos antivirais e antimicrobianos (Strack, 2003) e podem inibir a proliferação celular de células cancerígenas humanas (Reddy *et al*, 2005). Betalaínas diminuem a deterioração oxidativa de lipídios e promovem o aumento dos níveis de antioxidantes no corpo humano. A atividade antioxidante da betalaína está associada com a prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (Delgado-Vargas, 2000). Além disso, estudos apontam que as betalaínas apresentam efeitos anti-inflamatórios e anti-radicais-livre (Gentile, 2004).

Produtos contendo ingredientes naturais são geralmente apontados pelos consumidores como sendo de melhor qualidade e mais saudáveis do que aqueles produtos que contêm compostos sintéticos (Martins *et al* 2016). Recentes estudos vêm sendo conduzidos demonstrando os efeitos deletérios associados com os corantes artificiais alimentares (Amchova, 2015 e El-Wahab, 2013), o que tem contribuído para a crescente demanda por produtos naturais (Shahid, 2013). No âmbito de corantes naturais, os pigmentos mais usados na indústria, por sua cor e potenciais benefícios a saúde, são as antocianinas, que pertencem ao grupo dos flavonoides e são encontradas em diversas frutas como o morango, a amora e a jabuticaba (Chung, 2016). Analogamente às betalaínas, as antocianinas apresentam efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Chung, 2016). No entanto, betalaínas são uma alternativa interessante em substituição as antocianinas por serem mais hidrofílicas e terem maior potencial corante do que as antocianinas (Stintzing & Carle, 2007).

Condições de processo como temperatura (Cejudo *et al*, 2014), atividade de água (Pitalua *et al*, 2010), luz (Wong, 21015) e pH (Sanchez, 2013) podem impactar negativamente na estabilidade das betalaínas e contribuir para a perda da cor (Woo *et al*, 2011). Porém, as betalaínas não são tão estudadas em comparação com as antocianinas e as informações contemplando os efeitos de condições de processamento e propriedades

físico-químicas ainda são escassas na literatura (Celli & Brooks, 2016). Contudo, devido sua cor e propriedades nutritivas, as betalaínas podem ser usadas como aditivos alimentares tanto para evitar a descoloração ou enriquecer o alimento (Von Elbe *et al*, 1974).

Alguns estudos têm focado sua atenção na produção de pó liofilizado de beterraba e na aceitação do público em seu uso como colorantes de sucos industrializados (Kaimainen *et al*, 2015). Com base na crescente demanda do uso das betalaínas como corantes naturais, e sabendo-se da escassez de pesquisa nessa área, faz-se necessário o estudo mais aprofundado de sua extração da beterraba bem como o tratamento do extrato obtido que viabilize seu uso.

Os processos de separação por membranas vêm se destacando como boa opção para o processamento deste tipo de composto e, portanto, serão apresentados a seguir.

2.4 Processo de separação por membranas

Na indústria química, alguns dos objetivos na manufatura de produtos são a separação, purificação e concentração das espécies químicas. São usados para esse fim, diversos processos como destilação, filtração, troca iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização, entre outros (Habert *et al*, 2006).

Comumente tem-se usado processos que usam barreiras sintéticas seletivas para a separação de substâncias (Habert *et al*, 2006). Apesar de passar a ser aplicado em grande escala a partir da década de 70, os processos de separação por membrana (PSM) tem seus primórdios de estudos em 1748, com os experimentos de um abade francês chamado Nollet, que usou como membrana uma bexiga de origem animal para a transferência de massa de uma solução de água e vinho (Habert *et al*, 2006). Esse experimento evidenciou o princípio científico por trás desse fenômeno que consiste em difusão mássica devido à diferença de potencial químico entre o interior e o exterior da membrana (Habert *et al*, 2006).

A fundamentação teórica para tal fenômeno, porém, surgiu em 1930, quando processos como diálise e microfiltração começaram a ser usados em baixa escala devido aos baixos fluxos permeados associados a grande espessura das membranas. Avanços significativos ocorreram na década de 1950, que usavam membranas para a dessalinização de água (Habert *et al*, 2006).

Os PSM são usados principalmente em quatro áreas: separação de moléculas e misturas particuladas, liberação controlada de agentes ativos, reatores com membranas e órgãos artificiais e sistemas de conversão e estocagem de energia. Nessas aplicações, uma grande variedade de processos, materiais e estruturas das membranas são usadas (Strathmann 2000). Em todos os processos de separação por membranas, uma série de vantagens se apresenta em relação aos processos tradicionais de separação, as quais são apresentadas a seguir.

- Economia de Energia: devido à separação sem mudança de fase, os PSM usam pouca energia para seu funcionamento.

- Seletividade: devido a suas propriedades seletivas, os PSM se apresentam como única alternativa viável para a separação de substâncias ou podem estar associados com outros processos.

- Simplicidade de Operação e Escalonamento: os PSM apresentam a enorme vantagem de apresentarem simplicidade do ponto de vista operacional e do ponto de vista de maximização de escala (*scale up*). Geralmente, os sistemas são constituídos em módulos de escala piloto. Não se pode desprezar, também, que esse processo utiliza pouca mão de obra e é constituído por equipamentos de fácil operação, tornando o processo barato e simples.

As membranas são comumente constituídas de polímeros sólidos porosos, cerâmica ou filmes de metal com estruturas simétricas ou assimétricas (Strathmann 2000). Tais membranas são fabricadas em placas, fibras ocas, capilares ou tubos. Para aplicações práticas, as membranas são instaladas em dispositivos adequados chamados de módulos de membranas. Os módulos mais comuns são os cartuchos plissados, módulos capilares ou tubulares. As propriedades chave para a eficiência da membrana são: elevadas densidade de empacotamento, bom controle de concentração por polarização e *fouling*, baixos custos de operação e manutenção e custos eficientes de produção. Para a eficiência da membrana em uma dada aplicação, a escolha apropriada do módulo da membrana é de grande importância (Strathmann 2000).

O processo de separação por membranas pode ser uma alternativa sustentável para a separação de pigmentos. Processos com membranas cuja força motriz é a diferença de pressão através da membrana, como a osmose inversa, a nanofiltração, a ultrafiltração e a

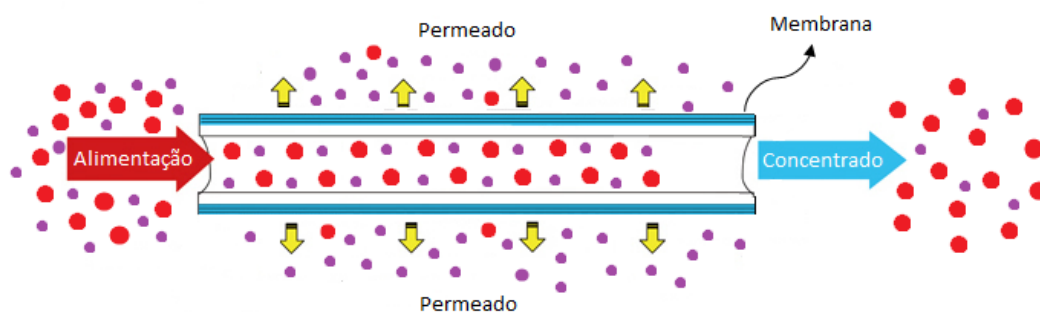
microfiltração_z estão sendo crescentemente usados para esse fim (Al-Bastaki, 2004). Para essas técnicas, membranas de cerâmica são melhores que membranas poliméricas devido a suas excelentes propriedades térmicas, químicas e mecânicas (Jedidi *et al*, 2009).

Para melhor compreensão do funcionamento do processo de separação por membrana é preciso analisar alguns conceitos importantes que estão descritos a seguir.

2.4.1 Definições básicas

Os PSM têm por características gerais de funcionamento uma corrente de alimentação contendo a substância que se quer separar (de tamanho de partícula menor) juntamente com outros particulados maiores. A corrente que penetra e transpassa a membrana é chamada de permeado, enquanto a corrente que passa pela membrana sem transpassa-la é chamada de retido ou concentrado. Esse princípio de funcionamento está ilustrado na Figura 2.2.

Figura 2.2: Representação simplificada das correntes envolvidas no processo de separação por membranas



O processo ocorre devido a uma força motriz que pode ser a diferença de potencial elétrico (no caso da eletrodialise), diferença de concentração (no caso da diálise), ou pela aplicação do gradiente de pressão (caso da microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa).

2.4.2 Fluxo permeado e fluxo crítico

Fluxo é definido como volume que atravessa uma determinada área, por unidade de tempo.

O fluxo permeado é obtido quando aplicado uma força motriz, mais comumente, um gradiente de pressão. Essa grandeza está diretamente associada às características da solução de alimentação, às características físicas da membrana (área de permeação, material) e às condições gerais de processo, como temperatura e gradiente de pressão. De acordo com Rezaeil, o fluxo de permeado J ($L\ m^{-2}\ h^{-1}$), portanto, é o volume que passa pela área ativa da membrana (isto é, aquela em contato com o fluido de alimentação) e pode ser definido pela Equação 2.1 a seguir:

$$J = \frac{1}{A} \frac{dV}{dt}$$

Eq 2.1

Onde A é a área ativa da membrana (m^2), V é o volume de permeado (L), e t é o intervalo de tempo no qual o volume de permeado é obtido.

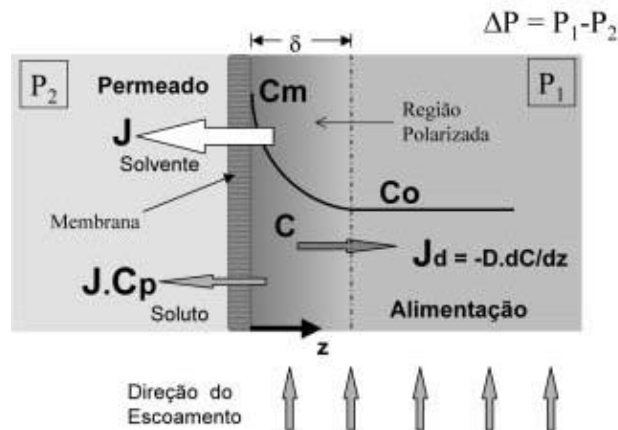
O fluxo limite é conhecido como o máximo fluxo estacionário de permeado obtido com o aumento da pressão transmembrana e está associado com a deposição de partículas na superfície interna da membrana que leva ao fenômeno conhecido como polarização por concentração (Bacchin, 2004).

Enquanto o fluxo limite é observado com a variação da pressão de operação, a hipótese de fluxo crítico é aquela que supõe que existe um fluxo abaixo do qual o decaimento do fluxo não é observado; acima dele, é observado o fenômeno descrito como *fouling* (Field *et al*, 1995). Ou seja, sob pressão constante, o fluxo permeado tende a decair com o tempo até atingir um estado estacionário. Esse decaimento continuado com o tempo se deve a deposição de partículas na superfície da membrana por adsorção, entupimento e outros fatores que incorporam o termo chamado *fouling* (Habert *et al*, 2006), o qual será descrito com mais detalhes a seguir.

2.4.3 Polarização por concentração

Esse fenômeno se refere ao aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana. Como existe maior concentração de soluto próximo à superfície da membrana do que no corpo da solução, existe um movimento difusivo do soluto de retornar à solução (Habert *et al*, 2006). Esse fenômeno pode ser analisado na Figura 2.3, onde C_0 é a concentração na solução que alimenta a membrana, C_m é o perfil de concentração na região polarizada, J é o fluxo de solvente, $J.C_p$ é o fluxo de soluto e J_d é o fluxo de soluto que deixa a região polarizada e volta para a solução de alimentação.

Figura 2.3: Representação esquemática do processo de polarização por concentração no PSM



Fonte: Habert *et al*, 2006

Quando o sistema é operado com escoamento tangencial, em um determinado momento, ocorre um equilíbrio entre a quantidade de soluto que é transportado em direção a membrana e a quantidade de soluto que se difunde da parede da membrana de volta ao seio da solução. Isso promove um perfil de concentração de soluto próximo a membrana possibilitando troca de massa estacionária, o que resulta em um fluxo constante de permeado (Habert *et al*, 2006). É importante se ressaltar que o processo de polarização por concentração se estabiliza nos instantes iniciais de operação e cessa ao fim do processo, diferente do *fouling* que será descrito a seguir.

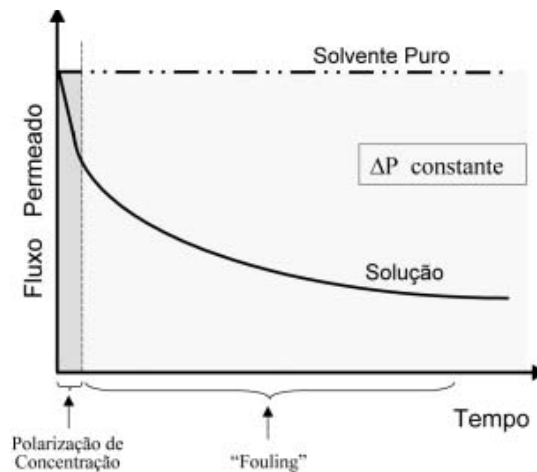
2.4.4 Fouling

Nos processos de separação por membranas em geral, mas mais especificamente naqueles que utilizam membranas porosas, é comum observar uma queda do fluxo permeado com o tempo. Isso acontece, pois, além do fenômeno de polarização por

concentração, outro fenômeno é presente no processo, chamado de *fouling* (Habert *et al*, 2006).

É importante ressaltar que, ao passo que a polarização por concentração é um processo considerado reversível (depois do fim da operação, é recuperado o fluxo permeado na membrana), o *fouling* pode ser considerado total ou parcialmente irreversível. Entretanto, uma limpeza eficiente da membrana por vezes consegue recuperar o fluxo em sua totalidade. Na Figura 2.4, pode-se observar a queda do fluxo permeado com o tempo, em função dos fenômenos de polarização por concentração e *fouling*.

Figura 2.4: Variação esquemática no fluxo permeado com o tempo de operação.



Fonte: Habert *et al*, 2006

Alguns fenômenos são sugeridos para explicar o *fouling* e os mesmos são apresentados a seguir.

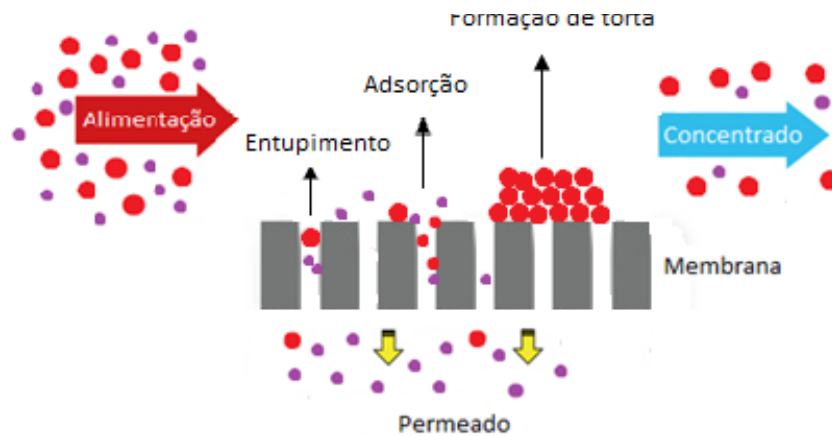
- Adsorção das moléculas de soluto na superfície da membrana e/ou no interior dos seus poros devido às interações físico-químicas com o material da membrana.

- Entupimento dos poros por moléculas ou partículas em suspensão.

- Deposição de partículas em suspensão sobre a superfície da membrana com a formação de torta de filtração.

Os três fenômenos descritos que estão associados ao *fouling* são representados na Figura 2.5, a seguir.

Figura 2.5: Ilustração dos fenômenos associados ao *fouling*

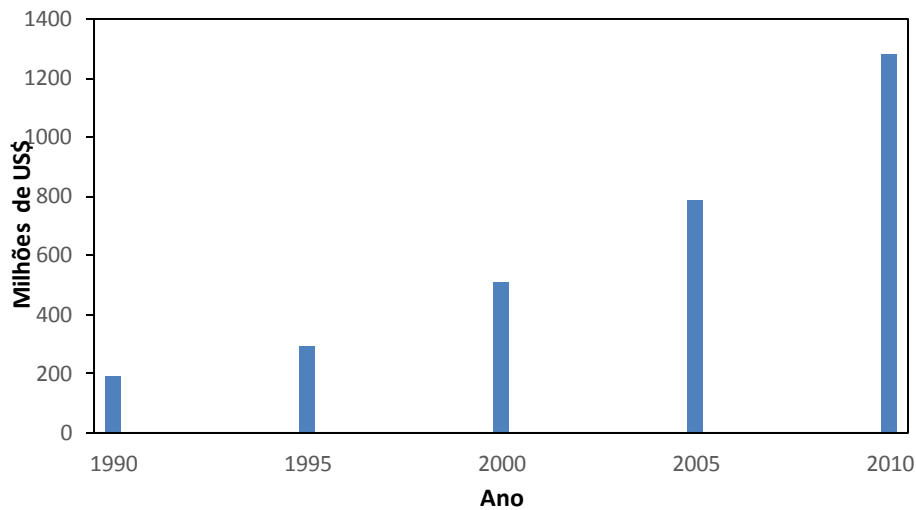


2.5 Microfiltração

O processo de Microfiltração (MF) é amplamente utilizado em vários campos como na purificação da água e tratamento de efluentes (Kong *et al*, 2010), na indústria alimentícia (Echavarria *et al*, 2011 e Samuelsson *et al* 2014), e na indústria farmacêutica (Yang *et al*, 2014).

A MF é o processo de separação com membranas que mais se aproxima da filtração clássica. Seu uso consiste na utilização de membranas porosas com poros geralmente entre 0,1 e 10 μm (100 e 10.000 nm), sendo, portanto, indicado para a retenção de materiais em suspensão e emulsão (Habert *et al*, 2006). A força motriz usada nesse processo é o gradiente de pressão. Por ter os poros relativamente abertos, as pressões de operação não costumam ser elevadas, raramente ultrapassando 3 bar. Até 2010, o mercado de MF estava avaliado em mais de 1 bilhão de dólares (como é possível constatar na Figura 2.6). No âmbito de tecnologias envolvendo processo por separação com membranas, a MF perde em valor de mercado apenas para a hemodiálise (rins artificiais) (Habert *et al*, 2006).

Figura 2.6: Valor bruto de mercado de Microfiltração de 1990 a 2010



Fonte: BBC Research, 2013

3 Materiais e Métodos

Nesta seção estão descritos os métodos e equipamentos utilizados no desenvolvimento do trabalho juntamente com a explicação da origem e tratamento da matéria prima utilizada. Todos os experimentos descritos foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) e no Laboratório de Separação por Membranas (LASEM), ambos localizados no Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.1 Matéria prima

As beterrabas (*Beta vulgaris L.*) utilizadas nos experimentos foram adquiridas na Central de Abastecimento do Rio Grande do Sul (CEASA) em Porto Alegre.

3.1.1 Tratamento preliminar das beterrabas

Foram adquiridos aproximadamente 16 kg de beterraba que foram utilizadas nos experimentos desse trabalho. Toda a massa de beterraba foi higienizada e suas partes como folhas, talo e bulbo foram separadas. As folhas foram descartadas, enquanto os talos foram usados para o desenvolvimento de um projeto de doutorado. Os bulbos são a matéria-prima principal e passaram por um processo adicional de retirada de brotos.

3.1.2 Preparo da amostra bruta

Depois de higienizados e devidamente separados das outras partes da beterraba, toda a massa de bulbos foi processada em um *Juicer* da marca Philips, modelo HR1867/21 *Viva Collection*. Depois de processada, a massa de suco obtida foi separada para o desenvolvimento de outro projeto de TCC, enquanto a massa de bagaço foi homogeneizada, separada em porções de aproximadamente 800 g e armazenada em embalagens plásticas seladas que foram congeladas para utilização no decorrer do estudo. As massas de beterraba processada, suco e bagaço obtidos estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Massa inicial de beterraba processada, bagaço e suco obtido

Massa de beterraba (kg)	Massa de bagaço (kg)	Massa suco (kg)	Perda de massa (%)
16,0	10,6	4,8	3,2

Para cada experimento realizado, foram utilizadas uma ou duas embalagens das citadas anteriormente. A massa congelada de bagaço foi descongelada e a amostra bruta foi mais uma vez processada para a obtenção do extrato que foi usado para definir as condições de operação, bem como no processo de microfiltração.

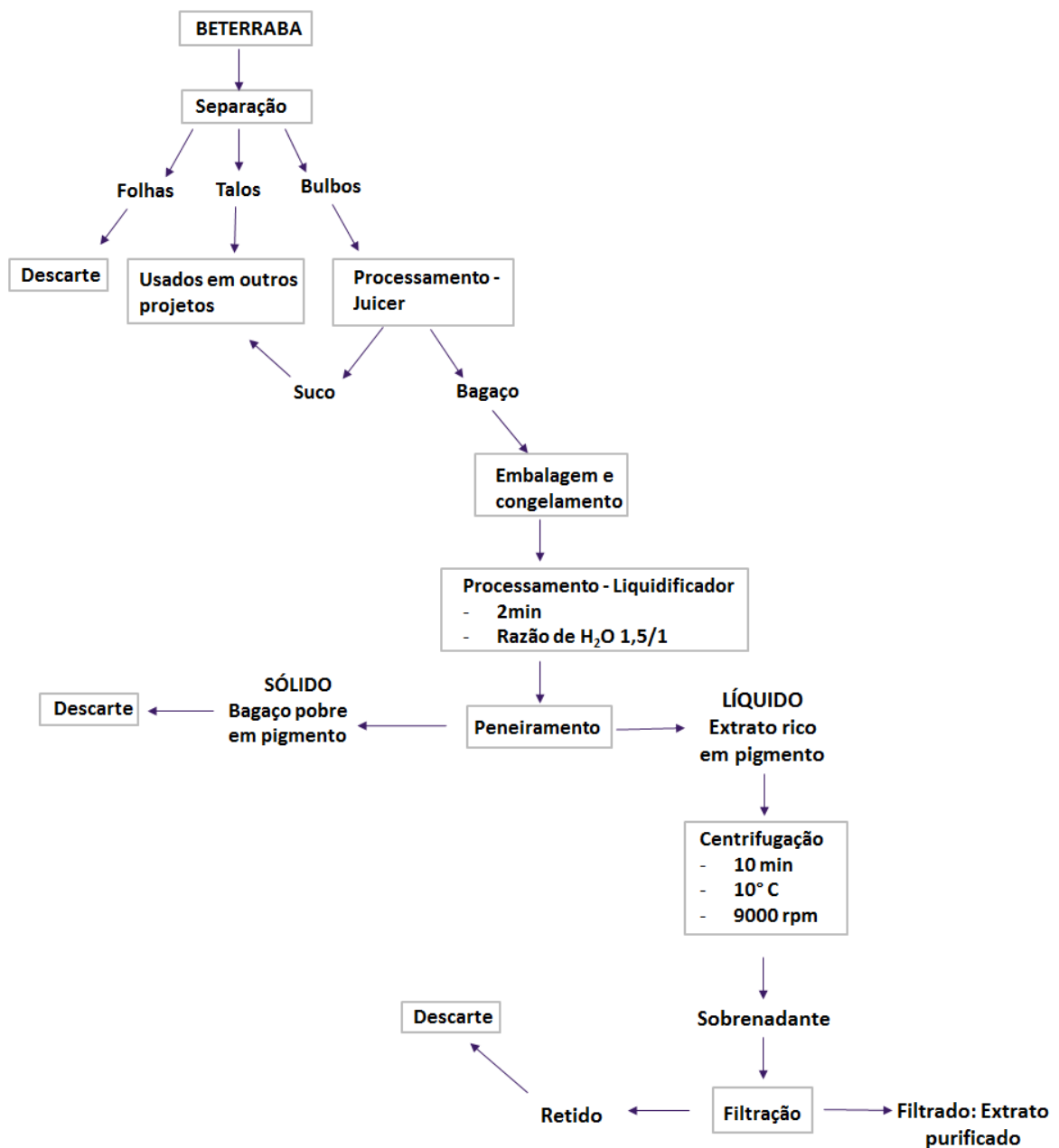
3.2 Extrações

De modo a se obter um extrato líquido rico em betalaínas, antes de cada experimento realizado, foi necessária que se fizessem extrações sucessivas nas porções de bagaço de beterraba. As amostras foram descongeladas e processadas em um liquidificador (modelo Twist, marca Walita) por 2 minutos com uma razão 1,5:1 água/bagaço. O extrato bruto constituído de fase sólida e líquida foi então separado através de peneiramento. A fração líquida foi separada e armazenada, enquanto o bagaço seco e peneirado foi submetido novamente ao processamento no liquidificador. Para as extrações exaustivas foram utilizadas cinco extrações sucessivas. Pelos motivos que serão descritos na seção 3.5.1, para a obtenção de extrato para a operação nas membranas foram feitas apenas três extrações sucessivas.

O bagaço reprocessado foi descartado e a fração líquida foi recolhida em tubos cônicos tipo Falcon, a qual foi submetida à um processo de centrifugação em uma centrífuga da marca Sigma modelo 2-16KL por 10 min a uma temperatura de 10°C, com uma rotação de 9000 rpm. Após centrifugação, os tubos com as amostras centrifugadas passam por uma filtração a vácuo para separar os sólidos ainda presentes no sobrenadante.

O esquema de tratamento preliminar, obtenção da amostra bruta e extrações pode ser analisado na Figura 3.1.

Figura 3.1: Esquema do tratamento preliminar da amostra e extrações.



3.3 Medidas de concentração de betalaínas

Após a amostra ser tratada, centrifugada e filtrada, fez-se necessário a medida da concentração de betalaína presente na solução. Como citado anteriormente, a maior quantidade de betalaínas presentes na beterraba é aquela correspondente as betacianinas (betanina - pigmento vermelho). Para a leitura de concentração de betaninas, se utiliza a técnica de espectrofotometria.

As amostras de cada extração são diluídas em um balão volumétrico de 25 mL com um fator de diluição (DF) que possibilite a leitura no espectrofotômetro. O fator de diluição é definido como sendo a razão entre o volume total do balão (25 mL) e o volume adicionado de extrato. Os DF utilizados para cada uma das três extrações sucessivas usadas no trabalho são apresentados na Tabela 3.2, a seguir.

Tabela 3.2: Fatores de diluição utilizadas nas três extrações sucessivas para as leituras de concentração

	Extrato 1	Extrato 2	Extrato 3
Fator de diluição	62,5	35,7	16,7

Depois de diluídas, as amostras são lidas no espectrofotômetro UV-VIS (PG Instruments T80) nos comprimentos de onda de 536 nm e 600 nm. A concentração em mg/L foi calculada pelo método de Nilsson descrito por Stintzing e Carle (2008), a qual utiliza a Equação 3.1 simplificada a seguir:

$$\text{Teor de betalaína (mg/L)} = A \times DF \times MW \times 1000 / \epsilon \times L$$

Eq. 3.1

Onde A representa a diferença da absorção dos comprimentos de onda de 600 nm e 536 nm, DF é o fator de diluição já mencionado anteriormente, MW representa a massa molar da betanina (g mol^{-1}), ϵ é absortividade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) e L é igual ao comprimento de percurso ótico (cm). Como sugerido por Stintzing e Carle (2008), a concentração é convertida para mg de betanina /100 mL para facilitar a discussão de resultados.

As medidas de concentração foram feitas em todas as etapas de extração e antes e após as microfiltrações.

3.3.1 Estabilidade das betalaínas

Adicionalmente, para o segundo experimento de microfiltração, foram verificadas as concentrações de alimentação inicial, final e permeado também no dia seguinte e três dias após a MF.

3.4 Procedimento de preparo para clarificação do extrato

3.4.1 Membranas

Neste estudo, a membrana utilizada é fabricada em cerâmica à base de zircônio e titânio (ZrO_2/TiO_2), tendo o poro nominal de $0,8 \mu m$. A membrana é tubular e apresenta 250 mm de comprimento, 6 mm de diâmetro interno e 10 mm de diâmetro externo, conferindo à membrana uma área de permeação de $0,0047 m^2$.

A dada membrana foi fornecida pela empresa Andritz Separation, Indústria e Comércio de Equipamentos de Filtração Ltda.

3.4.2 Sistema de membranas

O sistema de membranas utilizado nos experimentos está representado na Figura 3.2 e é adaptado do trabalho realizado por Santos *et al* (2016).

Figura 3.2: Fotografia do sistema de membrana utilizado na microfiltração: tubulações de alimentação, de concentrado, de permeado e de descarte (1, 2, 3 e 4 respectivamente); manômetros (5 e 6); módulo com a membrana (7); bomba diafragma (8); caixa térmica de ciclopentano (9); banho de resfriamento ultratermostático (10); válvulas agulha (11 e 12).



Como apresentado na Figura 3.1, o sistema é constituído pelos acessórios e equipamentos listados a seguir:

- um módulo para membrana tubular de aço inoxidável (Andritz S. I. C. E. F. Ltda);
- uma bomba diafragma (Shurflo, modelo 8030-813-239);
- dois manômetros (Manotec, com escala até 5 bar), dispostos antes e depois do módulo;
- duas válvulas agulha de latão dispostas na saída do concentrado e na linha de alimentação;
- tubulações de silicone atóxico;
- manta com subcobertura de alumínio (espessura de 5 mm) para isolamento térmico e bloqueio de luz;
- banho de resfriamento ultratermostático (Quimis, modelo 0214M2);

Não é possível ver na imagem o interior do banho, mas a disposição geral das tubulações quando o sistema está operando é da seguinte forma: as tubulações 1, 2 e 4 ficam dispostas dentro de um frasco com a solução de alimentação/recirculação enquanto a tubulação 3 abastece um frasco opaco onde é recolhido o permeado.

3.4.3 Compactação das membranas

Antes do uso na microfiltração, a membrana precisa ser submetida a um processo de compactação. Essa atividade foi realizada através da circulação de uma corrente de água destilada na planta com pressão maior que a pressão de operação. Como a pressão de operação utilizada neste trabalho foi de 0,5 bar, o processo de compactação foi realizado na pressão de 1,5 bar. Durante esse procedimento, a medida de fluxo permeado foi realizada a cada 1h, nos instantes iniciais, e a cada 10 min nos instantes finais. Quando a diferença de medidas entre os três últimos pontos foi menor que 1%, considerou-se que a membrana estava compactada.

3.4.4 Determinação da tendência ao fouling através da permeância hidráulica

É possível se analisar a tendência ao *fouling* da membrana utilizada relacionando a permeância hidráulica antes e depois do processo de microfiltração da solução em estudo (extrato), isto é, analisando graficamente o comportamento do fluxo permeado quando a membrana opera com circulação de água destilada em diferentes pressões.

O experimento foi iniciado com a circulação de água destilada por 10 minutos na pressão de 1 bar. Então, o fluxo permeado foi medido e a pressão foi reduzida ao próximo ponto de observação variando-se a pressão no sentido decrescente. Foram utilizadas as pressões de 1,0, 0,75, 0,5 e 0,25 bar e as medidas de fluxo permeado foram feitas em duplicata.

Através da equação 3.2, foi determinada a tendência ao *fouling* da membrana com base na inclinação das retas de permeância hidráulica obtidas antes e após a microfiltração do extrato.

$$Fouling (\%) = \left(1 - \frac{Lp_a}{Lp_b}\right) \times 100$$

Eq. 3.2

Onde Lp_b e Lp_a são, respectivamente, os coeficientes angulares da curva da permeância hidráulica antes e após a microfiltração da solução.

3.4.5 *Limpeza das membranas*

Depois de cada experimento de microfiltração, a membrana passou por um processo de limpeza química cujo procedimento aqui descrito se baseia no trabalho de Cassini (2008).

A limpeza teve duas etapas, uma alcalina e outra ácida. Entre as etapas, foi realizado um enxágue com água destilada. Todo processo foi realizado com uma pressão de 0,3 bar. Inicialmente, o sistema de membranas é circulado com uma corrente de água a temperatura ambiente. A água foi aquecida até 40 ± 2 °C e mantida nessa temperatura por 15 minutos; após essa fase, a solução de alimentação foi trocada por uma solução de hidróxido de sódio (5 g L^{-1}) a 40°C que circulou pelo sistema por 30 min. Após esse tempo, foi feito um enxágue com água destilada a 40°C por aproximadamente 15 minutos e então, o sistema de membrana foi circulado com uma solução de ácido cítrico (5 g L^{-1}) por 30 minutos a 40°C. A limpeza terminou com um enxágue com água destilada a 40°C por 15 minutos .

Depois da limpeza, o módulo da membrana é desmontado e a membrana é armazenada submersa em água destilada sob refrigeração.

3.5 Testes preliminares

A seguir, estão apresentados os testes realizados antes da microfiltração para definir as condições iniciais de processo, como a pressão a ser utilizada durante a MF e a concentração ideal para alimentação do sistema.

3.5.1 Concentração de betalaínas da alimentação

A concentração de betalaínas da alimentação foi padronizada a fim de melhor avaliar o processo de MF. Para determinar uma concentração viável, utilizando melhor os pigmentos presentes no bagaço, foram realizadas extrações exaustivas.

As extrações foram realizadas em triplicata com 3 beterrabas diferentes utilizando o procedimento descrito na sessão 3.2. Foram verificadas as massas iniciais de beterraba, o volume de suco obtido no processamento do *Juicer*, a massa de bagaço gerada, bem como a concentração de cada extrato ao longo cinco extrações sucessivas para cada amostra.

3.5.2 Determinação de pressão de operação

Para se determinar a pressão de operação do sistema de MF, a membrana foi submetida a uma alimentação de extrato com concentração padronizada (15 mg de betanina/100mL de extrato), aumentando-se a pressão e analisando o comportamento do fluxo permeado durante o processo.

O extrato foi microfiltrado com a pressão inicial de 0,4 bar e o fluxo permeado foi medido a cada 5 minutos durante 30 min; então a pressão foi aumentada para 0,5 bar e foram verificados novamente os fluxos permeados. O mesmo foi feito com aumento de pressão de 0,1 bar até a pressão de 0,9 bar.

Pela análise gráfica que está discutida no capítulo 4, foi possível se encontrar uma pressão em que não foi observado redução do fluxo permeado. A maior pressão sem relevante redução no fluxo permeado foi considerada a pressão de operação.

3.6 Clarificação do extrato

3.6.1 Microfiltração

O processo de microfiltração foi realizado em duplicata. Antes de cada experimento foram realizadas novas extrações com as amostras congeladas; adicionalmente, em cada

experimento, foram feitas a compactação da membrana e as medidas de permeância hidráulica antes e após a MF.

Cada experimento de microfiltração teve a duração de 3 horas, utilizando uma pressão de 0,5 bar. O banho de alimentação foi mantido na temperatura aproximada de 10°C. O frasco de alimentação continha 3,5 litros de solução com concentração de 17 mg de betanina/100 mL de extrato. Foi usada uma concentração levemente maior do que a definida (15mg de betanina/ 100mL de extrato) devido a diluição que a amostra pela presença de água no sistema. O fluxo de permeado foi medido a cada 20 min, em duplicata, e o volume final de permeado foi registrado.

Antes e depois da MF foram recolhidas aproximadamente 40 mL de amostra da solução de alimentação. O mesmo volume de permeado foi recolhido e todas as amostras foram destinadas as análises físico-químicas, discutidas a seguir.

3.6.2 *Análises físico-químicas*

Além das análises de concentração de betalaínas, as amostras foram analisadas quanto ao pH, turbidez e sólidos totais. As análises de pH foram realizadas com um pHmetro de bancada (Digimed – CM20); a turbidez foi medida com um turbidímetro (Policont – AP 2000) e os sólidos totais foram medidos com base no índice de refração da luz que transpassa a amostra através de um refratômetro (Babo - ITREF1000).

3.6.3 *Análise adicional – taxa de degradação das betalaínas*

Como análise adicional para o experimento 2 de clarificação, foram medidas as concentrações de alimentação inicial, final e de permeado no dia seguinte ao experimento e três dias após. A taxa de degradação das betalaínas é calculada através da Equação 3.3

$$\text{Taxa de degradação} = \frac{\Delta C}{\Delta t}$$

Eq. 3.3

Onde ΔC é a diferença de concentração entre a última medida e a primeira e Δt é o tempo transcorrido em dias. A taxa é dada em mg de bet./100 mL de ext. dia.

4 Resultados

Nessa seção do trabalho, estão apresentados os resultados dos experimentos descritos até então juntamente com a discussão dos dados obtidos. Os resultados são relativos aos testes preliminares e ao processo de clarificação.

4.1 Testes preliminares

4.1.1 Extrações exaustivas

Como descrito anteriormente, o experimento de extrações exaustivas foi realizado em triplicata com 3 beterrabas diferentes. Cada beterraba foi processada no Juicer e os valores de massa de amostra inicial, massa de bagaço e volume de suco obtido estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Massa de beterraba utilizada, massa de bagaço e volume de suco obtidos no experimento de extração exaustiva

Amostras	1	2	3
Massa- beterraba (g)	227,0	134,4	255,5
Massa bagaço (g)	145,1	97,2	157,1
% de bagaço obtido	63,9	72,3	61,5
Volume de suco (mL)	50	30	64

O bagaço obtido passou por 5 extrações (com adição de água na razão 1,5:1) e foram medidas as concentrações de cada extrato em triplicata. Os valores médios de concentração, com seus respectivos desvios-padrão, obtidos para cada extração estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Concentrações de betanina das amostras de beterraba usadas nas extrações exaustivas

Amostra	Concentração (mg de betanina/ 100 mL de extrato)		
	Beterraba 1	Beterraba 2	Beterraba 3
Suco	95,43 ± 2,7	35,88 ± 14,5	99,42 ± 2,2
Extrato 1	37,27 ± 0,2	15,27 ± 0,5	35,98 ± 0,81
Extrato 2	16,89 ± 0,2	7,31 ± 0,05	14,11 ± 0,2
Extrato 3	9,66 ± 0,3	3,1 ± 0,07	6,16 ± 0,04
Extrato 4	6,04 ± 0,1	1,31 ± 0,1	2,54 ± 0,01
Extrato 5	2,77 ± 0,05	0,59 ± 0,08	1,12 ± 0,01

Pela análise da tabela acima, foi possível perceber que a amostra 1 e 3 tem valores muito semelhantes de concentrações em todos os extratos. Entretanto, a amostra 2 apresentou valores muito divergentes em relação as demais amostras.

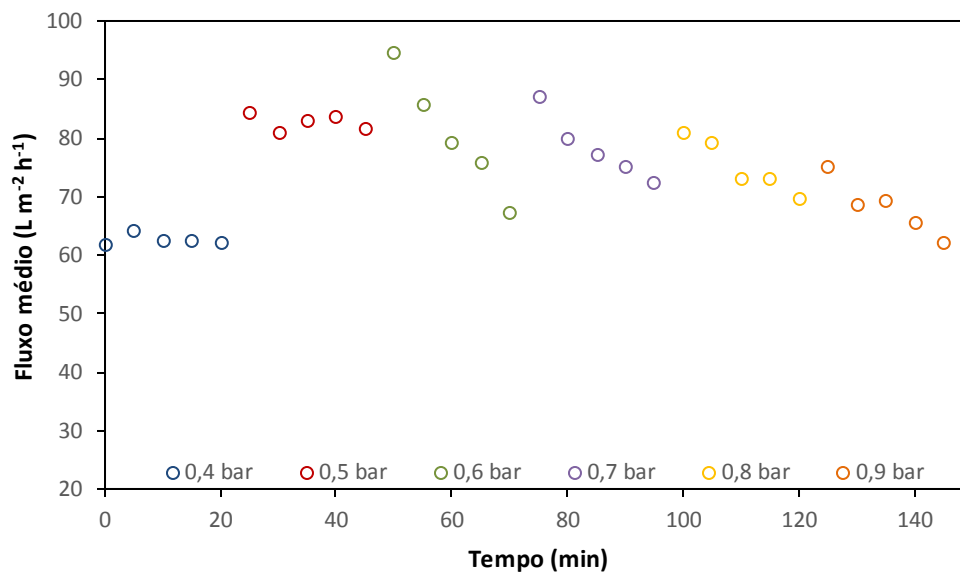
Como cada beterraba é única, e seu teor de betalaínas depende de seu tempo de cultivo e tamanho, entre outros fatores, já era esperado que se fossem obtidos valores divergentes entre si. O tamanho da amostra 2 pode ser uma das explicações para tal divergência, como se pode ver pela quantidade de massa de amostra na tabela 4.1. Além disso, a porcentagem de bagaço obtido para essa amostra foi bem diferente das outras, contribuindo para a variação das amostras.

Observando as variações naturais das amostras e utilizando amplamente o bagaço de beterraba, foi determinado que a concentração de betalaínas da alimentação fosse de 15 mg de betanina/100 mL de extrato. Para isto, portanto, foi considerado que para os experimentos de microfiltração necessárias três extrações sucessivas e que a solução final para a alimentação da MF seria a mistura dos extratos obtidos com volumes proporcionais as suas concentrações de forma a se ter uma 3,5 L de solução com a concentração desejada.

4.1.2 Determinação da pressão de operação

Uma vez definida a quantidade de extrações necessárias e tendo se preparado uma solução com a concentração padrão, foi realizado o experimento de determinação de pressão de operação. Através da utilização do método descrito na seção 3.5.2, os fluxos permeados medidos são apresentados na Figura 4.1.

Figura 4.1 Fluxo médio permeado durante o experimento de determinação de pressão de operação



Analisando a Figura 4.1, foi possível observar queda do fluxo permeado com o aumento de pressão de 0,5 para 0,6 bar. Tem-se que a pressão crítica é a pressão na qual se verifica a queda do fluxo permeado com o tempo. Dessa forma, a pressão crítica é 0,6 bar e a pressão de operação foi determinada em 0,5 bar no processo de microfiltração.

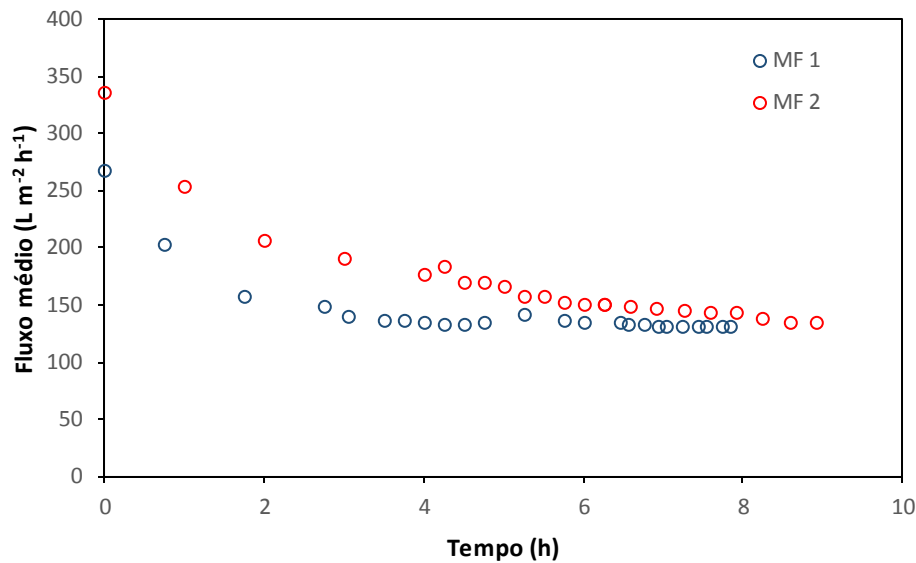
4.2 Clarificação dos extratos

A seguir estão apresentados os resultados obtidos nos dois processos de microfiltração realizados, desde os experimentos de preparo da membrana, como a compactação, até as análises físico-químicas feitas após a MF.

4.2.1 Compactação

Antes dos dois processos de microfiltração da amostra, foi realizada a compactação da membrana. A Figura 4.2 mostra o comportamento do fluxo permeado durante a realização desse experimento.

Figura 4.2: Comportamento do fluxo permeado durante o processo de compactação da membrana



Como é possível observar na Figura 4.2, apesar de um comportamento levemente distinto do fluxo permeado principalmente nos instantes iniciais do processo, o fluxo permeado estabilizou em aproximadamente $130 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Além disto, o tempo de compactação foi semelhante nos dois casos. Na compactação antes da MF 1, a membrana estabilizou seu fluxo em aproximadamente 8 horas, enquanto na compactação antes da MF 2, o tempo de estabilização do fluxo foi de aproximadamente 9 horas.

Foi possível observar uma leve elevação do fluxo em instantes intermediários dos dois testes, contrariando a tendência decrescente do processo. Isso se deve ao fato de a compactação, nos dois casos, ter sido feita em dois dias. Ou seja, em determinado momento o sistema foi desligado e ligado novamente no dia seguinte, quando se continuou o experimento. Apesar disso, devido ao comportamento semelhante do fluxo permeado, principalmente na estabilização final, foi considerado que a membrana estava compactada e que os dois experimentos apresentam boa repetitividade.

4.2.2 Permeância hidráulica

O fluxo permeado obtido no experimento de permeância hidráulica antes e depois da microfiltração 1 e 2 está apresentado na Figura 4.2; os valores de permeância hidráulica obtidos nos experimentos, com seus respectivos valores de R^2 são apresentados na Tabela 4.3.

Figura 4.2: Comportamento do fluxo permeado em função da pressão antes e após os experimentos de microfiltração.

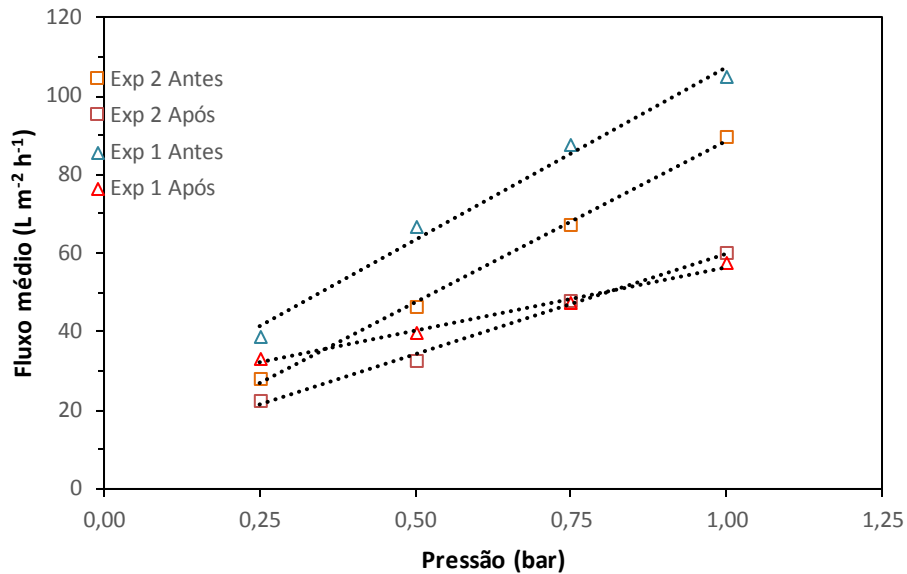


Tabela 4.3: Valores de permeância hidráulica antes e depois dos experimentos de microfiltração e seus respectivos R².

Experimento	Permeância hidráulica antes (L m ⁻² h ⁻¹ bar ⁻¹)	Coefficiente de determinação (R ²)	Permeância hidráulica após (L m ⁻² h ⁻¹ bar ⁻¹)	Coefficiente de determinação (R ²)
1	87,9	0,987	32,2	0,991
2	82,3	0,998	51,2	0,996

Pela análise gráfica da Figura 4.2 e pelos dados da Tabela 4.3, foi possível calcular os valores de tendência ao *fouling* da membrana de MF utilizada através da Eq. 3.2. O valor obtido para o experimento 1 foi de 64,1%, enquanto para o experimento 2, esse valor foi de 37,8%.

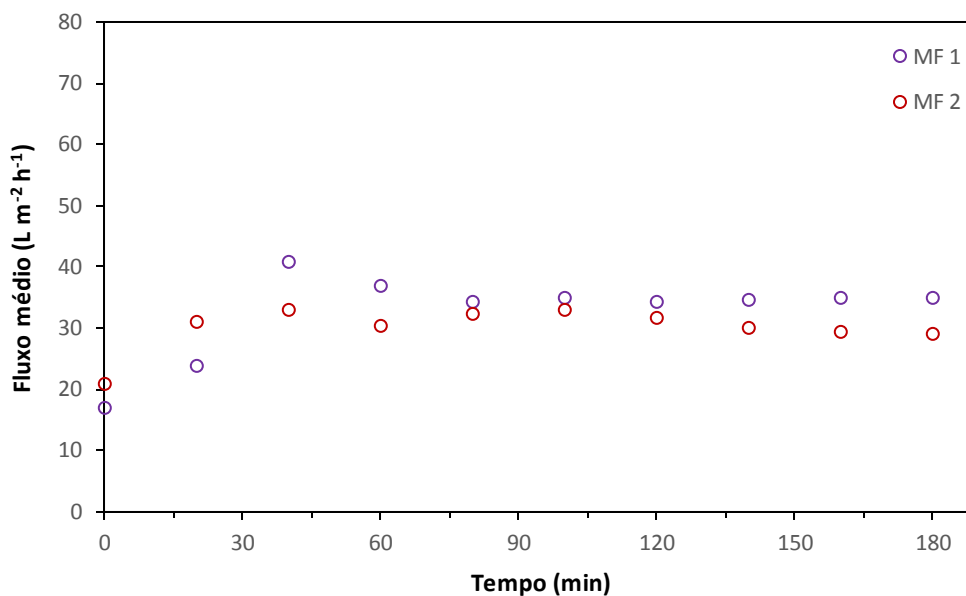
O trabalho de Santos *et al* (2016) usa uma membrana de 0,05µm e apresenta tendência ao *fouling* para microfiltração de 81,6± 1,5%. Comparando os dados destes autores com a

tendência ao *fouling* dos experimentos conduzidos nesse trabalho, pode-se explicar que a menor tendência de *fouling* deste se deve ao fato de os poros serem maiores ($0,8 \mu\text{m}$), o que diminui a probabilidade de obstrução pelo material particulado.

4.2.3 Fluxo permeado

Durante o processo de microfiltração, foi medido o fluxo permeado em função do tempo. O comportamento desse fluxo está apresentado na Figura 4.3.

Figura 4.3: Fluxo permeado ao longo do tempo de processo nos experimentos de MF 1 e 2, com pressão de 0,5 bar.



Apesar de não se obter um percentual de tendência ao *fouling* semelhante nas microfiltrações, foi observado comportamento de fluxo permeado semelhante nos dois experimentos. Em ambas microfiltrações, houve uma leve sobre-elevação de fluxo nos instantes iniciais de processo, e estabilização nos instantes finais.

Para o experimento 1, o fluxo permeado médio final foi de $34,9 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, semelhante ao experimento 2 no qual esse fluxo foi de $29,8 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Os volumes de permeado recolhidos respectivamente foram 457 mL e 415 mL.

No trabalho de Chaparro *et al* (2016), que usou membranas cerâmicas para a purificação do suco de melancia com o objetivo de isolar o licopeno, o fluxo permeado alcançado foi de $110 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Neste trabalho, a pressão usada foi de 2 bar e o diâmetro dos poros da membrana mediam $1,4 \mu\text{m}$.

4.2.4 Análises de concentração de betalainas

O processo de microfiltração ocorreu com uma alimentação inicial de concentração levemente maior àquela definida na seção 4.1.1, prevendo-se que haveria diluição da amostra inicial devido a água presente no sistema. Os valores de concentração de permeado, alimentação inicial, alimentação final são apresentados na Tabela 4.4 a seguir:

Tabela 4.4: Concentrações de alimentação inicial, final e de permeado obtidas para os processos de mirofiltração 1 e 2.

Experimento	Conc. da alimentação inicial (mg de bet./100 mL de ext.)	Conc. da alimentação final (mg de bet./100 mL de ext.)	Concentração do permeado (mg de bet./100 mL de ext.)	Volume permeado (mL)
1	14,6 ± 0,3	14,9 ± 0,5	12,8 ± 0,2	457
2	15,1 ± 0,3	14,3 ± 0,4	12,0 ± 0,2	415

Analisando a Tabela 4.4, pode-se observar a semelhança dos valores em ambos os experimentos, pois, apesar destes se mostrarem diferentes à primeira vista, uma vez que a concentração inicial no experimento 1 ficou menor que a concentração final e, no experimento 2, essa tendência se inverteu, essa diferença desaparece em função do desvio padrão gerado na repetição das análises.

Por outro lado, a concentração de permeado é menor do que as concentrações iniciais e finais de alimentação. Isso era esperado, já que a membrana, ao impedir a passagem de moléculas maiores, tais como açúcares e enzimas, acaba também retendo um pouco do próprio pigmento.

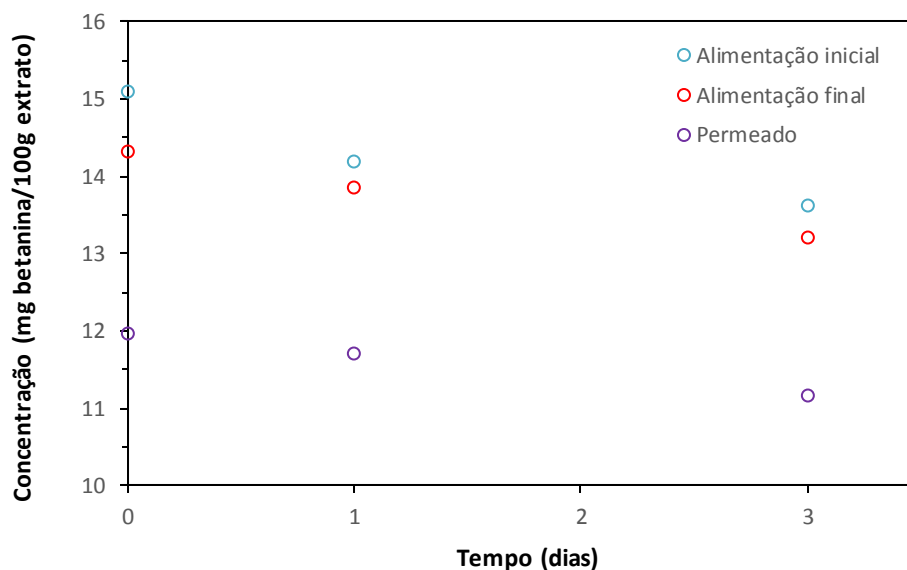
Um comportamento semelhante entre as concentrações de alimentação inicial, final e de permeado aparece no trabalho de Cassano *et al* (2007) que usa ultrafiltração para clarificar o suco de pêra de cacto. Nesse estudo, a alimentação inicial usada foi de 5,7 mg de betanina/100 mL de suco, e a alimentação final e o permeado apresentaram concentração de 6,1 e 5,3 mg de betanina/ 100 mL de suco.

No estudo conduzido por Mereddy *et al* (2017), usou-se membrana com poros menores (1 a 30 kDa) e soluções de alimentação de 40 mg de betalaínas/100 mL de extrato; houve redução de mais de 50% da concentração no permeado.

A fim de verificar a influência da concentração da solução, bem como do processo de clarificação com a membrana de MF, na estabilidade do pigmento, resolveu-se realizar uma análise adicional para o experimento 2, de modo a se ter mais resultados viáveis para análise crítica. Dessa forma, para o experimento 2, procedeu-se às mesmas medidas de concentração nos dias seguintes ao experimento, para se verificar a taxa de degradação das betalaínas.

As concentrações de alimentação inicial, final e de permeado em função do tempo para os dias seguintes à MF 2 podem ser analisados na Figura 4.4.

Figura 4.4: Concentração de betalaínas das amostras de alimentação inicial, final e de permeado para o experimento 2 para os dias após à MF 2



Na Figura 4.4, os valores no tempo zero são os mesmos valores medidos logo após o fim do experimento de microfiltração. Foram realizadas mais duas medições de concentração no dia seguinte (dia 1) e dois dias após este (dia 3). As taxas de degradação de concentração, isto é, a diferença da concentração final e inicial das amostras pelo tempo, são apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5: Concentrações de batalaínas nas alimentações iniciais e finais das amostras do experimento de MF 2 e taxa de degradação de concentração de betalaínas.

Amostra	Conc. (mg de bet./100 mL de ext.) logo após MF	Conc. (mg de bet./100 mL de ext.) 3 dias após MF	Taxa de degradação das betalaínas (mg de bet./100 mL de ext. dia)
Alimentação inicial	15,1 ± 0,4	13,6 ± 0,3	0,50
Alimentação final	14,3 ± 0,1	13,2 ± 0,4	0,37
Permeado	12,0 ± 0,3	11,2 ± 0,2	0,27

Através da Fig. 4.4 e da Tab. 4.5 foi possível perceber que a amostra com maior taxa de degradação é a de alimentação inicial. O resultado esperado era de uma taxa maior de degradação na alimentação final, pois esta, teoricamente, é a solução mais concentrada em enzimas, pois espera-se que a membrana retenha as enzimas responsáveis pela degradação do pigmento. Entretanto, para a confirmação desta hipótese, análises de atividade enzimática das soluções seriam necessárias.

Por outro lado, a menor taxa de decaimento é aquela do permeado. Essa redução na taxa de degradação indica que a clarificação do extrato foi possível através da MF e ainda contribuiu para o aumento da estabilidade dos pigmentos.

4.2.5 Análises físico-químicas

Conforme apresentado na seção 3, além das medidas de concentração, foram feitas outras análises para complementar o estudo. Os valores dos parâmetros analisados são apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6: Turbidez, sólidos solúveis e pH das amostras dos experimentos 1 e 2.

Experimento	Amostra	Turbidez (NTU)	Sólidos Solúveis (°Bx)	pH
MF 1	Alimentação inicial	296	1,4	6,26
	Alimentação final	618	1,4	6,29
	Permeado	0,54	1,1	6,33
MF 2	Alimentação inicial	410	1,8	6,46
	Alimentação final	725	1,8	6,4
	Permeado	0,28	1,6	6,44

Em relação a turbidez, foi observado que os valores obtidos estão coerentes com o esperado, uma vez que a amostra de alimentação final deve ser mais turva que a inicial, já que está mais concentrada em todos os compostos de alta massa molecular da amostra. Da mesma forma, demonstrando a seletividade da membrana, o permeado se apresenta muito mais límpido que as amostras de alimentação. Em ambos os experimentos, houve redução de 99,9% da turbidez. O mesmo pode ser observado no trabalho de Mereddy (2017), que usa uma membrana de 1 a 30 kD para a filtração do suco de beterraba com objetivo de remover sais e nitratos; neste trabalho, através de três filtrações, conseguiu-se diminuir em 99,9% a turbidez e em 47% a concentração de sólidos solúveis das amostras.

A análise de sólidos solúveis é análoga à de turbidez, demonstrando que o permeado tem um índice menor de sólidos devido a seletividade da membrana.

O pH levemente ácido é aproximadamente constante em todas as amostras, mostrando que o processamento não causou modificações relevantes neste parâmetro.

5 Conclusões e Trabalhos Futuros

As soluções de permeado obtidas nas microfiltrações apresentaram boa estabilidade de concentração de pigmento, ao mesmo tempo que fatores como o fluxo permeado semelhantes em ambos experimentos demonstram certa uniformidade de operação. Os *fouling*s apresentados nos dois casos, apesar de divergentes entre si, são mais baixos do que àqueles observados na literatura consultada. Além disso, os baixos níveis de turbidez e sólidos solúveis no permeado demonstram boa eficiência de remoção de compostos de alta massa molecular do extrato da beterraba, muito embora análises de atividade enzimática não tenham sido realizadas para corroborar sobre a estabilidade do extrato.

Levando-se em conta os aspectos citados acima, o trabalho mostra que existe um campo promissor a ser trabalhado, tanto no que se refere à utilização de membranas como meio de filtração do extrato do bagaço da beterraba como na utilização dos pigmentos na indústria alimentícia.

O estudo apresentado é apenas uma fração do que poderia ter sido realizado, mesmo assim demonstra potencial no desenvolvimento de trabalhos futuros na área. Ainda há muito a ser estudado, principalmente em relação a estabilidade dos extratos com relação a atividade enzimática que por motivos de escassez de tempo não puderam ser realizados.

Devido a alguns erros experimentais que levaram a dados inconclusivos, é preciso se ressaltar que a repetição dos testes em triplicata com uma análise estatística apropriada poderia levar a dados mais sólidos que por sua vez levariam a um estudo mais completo.

Por fim, se considera viável a continuação desse estudo que pode levar ao desenvolvimento de métodos de uso das tecnologias de membranas para reaproveitamento de um rejeito industrial e agrícola ainda sem muita utilidade nos dias de hoje.

6 Referências

Al-Bastaki N.; **Removal of methyl orange dye and Na₂SO₄ salt from synthetic waste water using reverse osmosis.** Chem. Eng. Process., 43 , pp. 1561–1567, 2010.

Amchova, P.; Kotolova, H.; Ruda-Kucerova, J.; **Health safety issues of synthetic food colorants. Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 73 , pp. 914–922. 2015.

Ayala-Zavala, J.F.;Vega-Veja, V.; Rosas-Domínguez, C.; Palafox-Carlos, H.; Villa-Rodriguez, J.A.; Siddiqui, M.W.; Dávila-Aviña, J.E.; González-Aguilar, G.A.; **Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives.** Food Res. Int., 44, pp. 1866–1874, 2011.

Bacchin, P.; **A possible link between critical and limiting flux for colloidal systems: consideration of critical deposit formation along a membrane.** Journal of Membrane Science 228, 237–241, 40, 2004.

Cai, Y.Z.; Sun, M.; Corke, H.; **Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae.** Trends Food Sci. Technol., n.16, p.370-376, 2005.

Cassano, A; Conidia, C; Timponeb, R.; **Membrane-based process for the clarification and the concentration of the cactus pear juice**, Journal of Food Engineering, v.80, pp. 914-921, 2007.

Cassini, A. S.; **Estudo de Processos Alternativos no Pré-tratamento de Efluentes Provenientes da Produção de Isolados Protéicos.** Tese de Doutorado, Porto Alegre: UFRGS, 179 p., 2008.

Cejudo, M.J.; Hurtado, N.; Mosquera, N.; Heredia, F.J.; **Potential use of new Colombian sources of betalains. Color stability of ulluco (*Ullucus tuberosus*) extracts under different pH and thermal conditions.** Food Research International, v. 64 , pp. 465–471, 2014.

Celli, G. B.; Brooks, M.S.; **Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins — A current review.** Food Research International (2016).

Chaparro L.; Dhuique-Mayer, C. Castillo, S.; **Concentration and purification of lycopene from watermelon juice by integrated microfiltration-based processes**. Innovative Food Science & Emerging Technologies, v.37, pp. 153-160, 2016.

Chung, C.; Rojanasasithara, T.; Mutilangi, W.; McClements, D.J.; **Enhancement of colour stability of anthocyanins in model beverages by gum arabic addition**. Food Chemistry, pp. 14–22, 2016.

Delgado-Vargas, F.; Jiménez, A. R.; Paredes-López, O.; **Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains — characteristics, biosynthesis, processing, and stability**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40, 173–28, 2000.

Echavarría, A.P.; Torras, C.; Pagán, J.; Ibarz, A.; **Fruit juice processing and membrane technology application**. Food Eng. Rev., v.3 , pp. 136–158, 2011.

El-Wahab, H.M., Moram, G.S.; **Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats**. Toxicology and Industrial Health, v.29, pp. 224–232, 2013.

Field, R.W.; WU, D.; Howell, J.A.; Gupta B.B. ; **Critical flux concept for microfiltration fouling** Journal of Membrane Science 100 259-272, 1995.

Gengatharan, A.; Gary, A. Dykes; Wee Sim Choo. **Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods**. LWT - Food Science and Technology, 64, 645–649, 2005.

Gentile, C.; Tesoriere, L.; Allegra, M.; Livrea, M. A.; Alessio, P. D.; **Antioxidant betalains from cactus pear (Opuntia ficus-indica) inhibit endothelial ICAM-1expression**. Annals of the New York Academy of Sciences, 1028, 481–486, 2004.

Gustavsson, J.; Cederberg, C.; Sonesson, U.; **Global Food Losses and Food Waste. Food and Agriculture Organization of United Nations**, Rome, 2011

Habert, A. C.; Borges, C. P.; Nobrega, R.; **Processos de separação por membranas**. Rio de Janeiro, RJ : E-papers, 180 p., 2006.

Herbach, K. M.; Stintzing, F. C.; Carle, R.; **Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose] monitored by high-**

performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219, 377–385, 2004.

Jedidi, I.; Saidi, S.; Khemakhem, S.; Larbot, A.; Elloumi-Ammar, N.A.; Fourati, A.; **Elaboration of new ceramic microfiltration membranes from mineral coal fly ash applied to waste water treatment.** *J. Hazard. Mater.* 172, pp. 152–158, 2009.

Kähkönen, M.P.; Kähkönen, A.I.; Hopia, H.J.; Vuorela, J.P.; Rauha, K.; Pihlaja, T.S.; Kujala, M.; **Heinonen Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, pp. 3954–3962, 1999.

Kaimainen, M.; Laaksonen, O.; Järvenpää, E.; Sandell, M.; **Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices.** *Food Chemistry*, pp 398-406, 2015.

Kong, C.; Kanezashi, M.; Yamamoto, T.; Shintani, T.; Tsuru, T.; **Controlled synthesis of high performance polyamide membrane with thin dense layer for water desalination.** *J. Membr. Sci.*, v.362, pp. 76–80, 2010.

Kujala, T.S.; Loponen, J.M.; Klika, K.D.; Pihlaja, K.; **Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, pp. 5338–5342, 2000.

Kummu, M.; Kummu, H.; De Moel, M.; Porkka, S.; Siebert, O.; Varis, P.J.; **Lost food, wasted resources: global food supply chain losses and their impacts on freshwater, cropland, and fertiliser use** *Sci. Total Environ.* 477–489. 2012.

Martins, N.; Roriz, C.L.; Morales, P.L.; Ferreira, I.C.F.R.; **Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices.** *Trends in Food Science & Technology*, 52, pp. 1–15, 2016

Mereddy, R.; Chanb, A.; Fanninga, K; **Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) using membrane separation technology.** *Food Chemistry*, v.215, pp. 311-317, 2017.

Pedreño, M.A.; Escribano, J.; **Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot** *Journal of Biological Education*, v.35, pp. 49–51, 2000.

Pitalua, E.; Jimenez, M.; Vernon-Carter, E.J.; Beristain, C.I.; **Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material**. Food and Bioproducts Processing, v.88, pp. 253–258, 2010

Ravichandran, K.; Saw, N. M. M. T.; Mohdaly, A. A. A.; Gabr, M. M. A.; Kastell, A.; Riedel, H.; Cai, Z.; Knorr, D.; **Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity**. Food Research International, v.50, 670–675, 2013.

Reddy, K.; M., Ruby, L.; Lindo, A.; **Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumor cells proliferation by natural food color**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.53, 9268–9273, 2005.

Rezaeil H.; Zokaee Ashtianill,; Fouladitajarll A.; **Fouling behavior and performance of microfiltration membranes for whey treatment in steady and unsteady-state conditions**. Braz. J. Chem. Eng. vol.31 no.2 São Paulo Apr./June 2014

Samuelsson, G.; Huisman, I.H.; Trägårdh, G.; Paulsson, M.A.; **Predicting limiting flux of skim milk in crossflow microfiltration**. J. Membr. Sci., v. 129, pp. 277–281, 1997.

Sanchez, N.; Jaime-Fonseca, M.R.; San Martin-Martinez, E.; Zepeda, L.G.; **Extraction, stability, and separation of betalains from Opuntia joconostle cv. using response surface methodology**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.61, pp. 11995–12004, 2013

Santos, C. D.; Roberta, R. Z; Cassini, A. S.; Marczak, L.D.F.; Tessaro, I.C.; **Clarification of red beet stalks extract by microfiltration combined with ultrafiltration**. Journal of Food Engineering, 185, 35-41, 2016.

Schoefs, B.; **Determination of pigments in vegetables**. J. Chromatogr., v.1054, p.217-226, 2004.

Shahid, M.; Islam, S.; Mohammad, F.; **Recent advancements in natural dye applications: A review**. Journal of Cleaner Production, v.53, pp. 310–331, 2013.

Silva, L.M.R; de Figueiredo, E.A.T.; Ricardo, N.M.P.S.; Vieira, I.G.P.; de Figueiredo, R.W.; Brasil, I.M.; Gomes, C.L.; **Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil**. Food Chem., v.143, pp. 398–404, 2014.

Stintzing, F. C.; Carle, R.; **Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition**. Trends in Food Science and Technology, v.15, 19–38, 2004.

Stintzing, F.C.; Carle, R.; **Betalains — Emerging prospects for food scientists**. Trends in Food Science & Technology, v.18, pp. 514–552, 2007

Stintzing, F.C.; Carle, R.; **Betalains in Food: Occurrence, Satability, and Postharvest Modifications**. Food colorantes: Chemical and Functional Properties, p. 277-299, 2008.

Strack, D.; Vogt, T.; **Recent advances in betalain research**. Phytochemistry, 62, 247–269, 2003.

Strathmann, H.; **Membrane separation processes: current relevance and future opportunities**. AIChE Journal, v. 47, n. 5, p. 1.077-1.087, 2000.

Tivelli, S. W.; Factor, T. L.; Teramoto, J. R. S.; Fabri, E. G.; Moraes, A. R. A.; **Beterraba: do plantio à comercialização**. Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 210. Campinas: Instituto Agronômico, 2011.

Unga; **Draft Resolution A/69/L.85: Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development**, 2015.

Von Elbe, J. H.; Maing, I.; **Colour stability of betanin**. Journal of Food Science, v.39, 334–337, 1974.

Wong, Y.-M.; **Effects of heat, pH, antioxidant, agitation and light on betacyanin stability using red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice and concentrate as models**. Journal of Food Science and Technology, v. 52, pp. 3086–3092, 2015.

Woo, K.K.; Ngou, F.H.; Ngo, L.S.; Soong, W.K.; Tang, P.Y.; **Stability of betalain pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*)**. American Journal of Food Technology, v.6, pp. 140–148, 2011.

Wootton P.C.B., Ryan L.; **A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants**. Journal of Functional Foods, 3, 29–334, 2011.

Yang, G.C.C.; Yen, C.; Wang, C.; **Monitoring and removal of residual phthalate esters and pharmaceuticals in the drinking water of Kaohsiung City, Taiwan**. J. Hazard. Mater., v.277, pp. 53–61, 2014.