

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Estudo da Pasteurização de Suco de
Laranja Utilizando Ultrafiltração**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marina da Silveira Gomes

Porto Alegre

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Estudo da Pasteurização de Suco de Laranja Utilizando Ultrafiltração

Marina da Silveira Gomes

Dissertação de Mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Engenharia

Área de concentração: Pesquisa e
Desenvolvimento de Processos.

Orientador:

Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Tessaro

Co-orientador:

Prof.^a Dr.^a Lígia Damasceno Ferreira Marczak

Porto Alegre

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Estudo da Pasteurização de Suco de Laranja Utilizando Ultrafiltração*, elaborada por *Marina da Silveira Gomes*, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Keiko Wada

Prof.^o Dr.^o Caciano Pelayo Zapata Noreña

Prof.^a Dr.^a Sueli Teresinha Van Der Sand

“Acreditar em algo e não o viver é desonesto”

Mahatma Gandhi

Agradecimentos

Às professoras Isabel Cristina Tessaro e Lígia Damasceno Ferreira Marczak pela confiança dada, pela orientação, apoio e incentivo para que este trabalho fosse realizado.

À Empresa Parceira – Sucos Petry - por ter doado o suco utilizado neste trabalho.

À Sirley Secchi por todo o suporte dado na parte experimental deste trabalho.

Ao Maurício Kipper, por sua orientação e ajuda.

À Ana Luisa Rizzatti, por toda a ajuda dada nos experimentos, mesmo não sendo, efetivamente, minha bolsista.

Ao Marcus Rutsatz e Carolina Cameranesi pelas horas de estudo.

À todos os amigos conquistados durante o mestrado, os quais ficarão para sempre em minha memória.

À Comissão Examinadora pelo tempo e atenção dada ao trabalho.

À minha irmã, Natália, e aos amigos de sempre, que mesmo a distância, também me apoiaram para seguir em frente.

Ao Daniel de Ávila, por estar sempre ao meu lado.

Aos Meus Pais, por acreditarem em mim, pelo amor e apoio incondicional dados para que este sonho se concretizasse.

Resumo

Com o crescente apelo dos consumidores por alimentos minimamente processados, o consumo de sucos tem aumentado significativamente, sendo o suco de laranja pasteurizado e refrigerado um dos mais consumidos pelos brasileiros. No entanto, o processo de pasteurização, mesmo utilizando altas temperaturas por curto período de tempo, altera ligeiramente as características organolépticas do suco, resultando em um produto com sabor diferente ao do suco fresco. Atualmente, uma das alternativas é a utilização de processos de separação por membranas (PSM) na produção de suco de laranja, especificamente na etapa de pasteurização, pois os PSM podem operar em baixas temperaturas. Nestes processos é comum a utilização de hidrólise enzimática como pré-tratamento, tendo como objetivo diminuir a viscosidade do suco, possibilitando uma melhora no fluxo permeado e nas demais condições do processo. Tendo em vista a necessidade de inovação no ramo de sucos, este trabalho estuda a possibilidade de integração de processos de separação por membranas com o processo de pasteurização convencional. Analisa, primeiramente, dois compostos enzimáticos comerciais com o objetivo de verificar qual o mais adequado para a utilização no pré-tratamento de suco de laranja. Para esta análise, a viscosidade do suco foi medida antes e depois das hidrólises em diferentes tempos e temperaturas, assim como a acidez, °Brix e pH. Além disto, foram realizados testes de ultrafiltração em uma unidade de bancada com uma membrana polimérica comercial de massa molar de corte entre 40 - 50 kDa, nas seguintes condições de operação: pressão transmembrana de 150 kPa, velocidade de escoamento de $7,47 \text{ m.s}^{-1}$ e temperatura de 25°C . Os resultados indicam que o composto enzimático que mais se adequou ao pré-tratamento proposto foi a Pectinex Ultra SP-L, a uma temperatura de 30°C e tempo de 30 minutos. Na ultrafiltração do suco de laranja foi observado um comportamento de queda do fluxo permeado ao longo do tempo tanto na filtração de suco de laranja hidrolisado com Pectinex Ultra SP-L, quanto na filtração do suco sem hidrólise. Com os resultados das análises microbiológicas, não pôde-se afirmar que o suco reconstituído (90% de suco pasteurizado + 10% de suco permeado) apresentou maior vida útil comparado ao suco pasteurizado (100% pasteurizado).

Abstract

With the growing appeal of consumers for minimal processed food, the consumption of juices has been increasing significantly, being the pasteurized and refrigerated orange juice one of the most consumed by the Brazilians. However, the pasteurization process, even using high temperatures for short period of time, it lightly alters the organoleptics characteristics of the juice, resulting in a product with different flavor compared to the fresh juice. Nowadays, one of the alternatives is the use of membrane separation processes (MSP) in the production of orange juice, specifically in the pasteurization stage, because MPS can operate under low temperatures. In these processes it is common to use enzymatic hydrolises as pre-treatment, lookink for a decrease of the juice viscosity, improving the permeated flow and the other process conditions. Due to the need of innovation in the juice market, this work studies the possibility of integrate membrane separation processes with conventional process of pasteurization. It analyzes, firstly, two commercial enzymes with the objective of verifying which one will be the most indicated for the use in the pre-treatment of orange juice. For this analysis, the juice viscosity was measured, before and after the hydrolises, in different times and temperatures, as well as the acidity, °Brix and pH. Besides, ultrafiltration tests were accomplished in an unit with a commercial polymeric membrane with mass court molar among 40 - 50 kDa, in the following operation conditions: transmembrane pressure of 150 kPa, flow speed of 7,47 m.s-1 and temperature of 25°C. The results indicate that the enzymatic composition that most fitted in was Pectinex Ultra SP-L, at a temperature of 30°C and time of 30 minutes. In the ultrafiltration process of the orange juice a decreasing behavior of the permeated flow along the time was observed for both juices (with and without hydrolises). With the results of the microbiologyc analyses, it could not be possible to affirm that the reconstituted juice (90% of pasteurized juice + 10% of permeated juice) present larger useful life compared to the pasteurized juice (100% pasteurized).

Sumário

Introdução	1
Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica	3
2.1 Suco de laranja	3
2.1.1 Mercado	5
2.1.2 Processamento do suco de laranja.....	6
2.2 Processos de separação por membranas.....	11
2.2.1 Membranas.....	15
2.2.2 Módulos de membranas	17
2.2.3 Polarização por concentração e fouling	18
2.2.4 Limpeza das membranas	20
2.3 Processos de Separação por Membranas no Processamento de Sucos	21
2.3.1 Fouling no processamento de sucos por membranas	22
2.3.2 Pré-tratamento do suco.....	23
2.3.3 Microbiologia do suco de laranja.....	27
Materiais e Métodos.....	30
3.1 Matéria-prima.....	30
3.2 Reagentes e soluções.....	31
3.3 Membrana	31
3.3.1 Análise da Membrana através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	31
3.4 Equipamentos de Ultrafiltração e Pasteurização.....	32
3.4 Análises físico-químicas	34
3.4.1 Determinação da viscosidade.....	34
3.4.2 Determinação do pH	34
3.4.3 Determinação do °Brix.....	35
3.4.4 Determinação de acidez titulável	35
3.4.5 Determinação do ratio	35
3.4.6 Determinação qualitativa de atividade da pectinesterase.....	35
3.5 Análises microbiológicas	35
3.5.1 Limpeza e esterilização do material.....	35
3.5.2 Preparo dos meios de cultura	36
3.5.3 Preparo das diluições	36
3.5.4 Método de semeadura total de bactérias mesófilas.....	36
3.5.5 Método de semeadura total de fungos e leveduras.....	36
3.5.6 Método de análise do ambiente.....	37
3.6 Metodologia experimental	37
3.6.6 Pré-tratamento do suco através de hidrólise enzimática	37
3.6.7 Ultrafiltração	37
3.6.8 Pasteurização.....	38
3.6.9 Higienização do sistema.....	38
3.6.10 Amostragem	39
Resultados e Discussão.....	40

4.1 Hidrólise enzimática	40
4.2 Ultrafiltração	45
4.2.1 Compactação da membrana	45
4.2.2 Permeabilidade hidráulica	47
4.2.3 Fluxo permeado do suco de laranja.....	48
4.3 Higienização da membrana	52
4.4 Pasteurização.....	53
4.5 Análise da Membrana através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
4.6 Análises físico-químicas	55
4.7 Análises microbiológicas	57
Conclusões e Sugestões	63
5.1 Conclusões	63
5.2 Sugestões.....	64
Referências Bibliográficas	65
Apêndice A	70
Dados Experimentais	70
Apêndice B	72

Lista de Figuras

Figura 2.1: Corte de uma laranja com suas principais partes representadas (ABECITRUS, 2006).....	4
Figura 2.2: Esquema simplificado do processo de extração em máquinas FMC	24
Figura 2.3: Estrutura da parede celular de plantas.....	24
Figura 3.1: Fluxograma da bancada experimental, incluindo os sistemas de ultrafiltração e pasteurização.....	33
Figura 4.1: Viscosidade do suco de laranja tratado com as enzimas Pectinex e Citrozym ao longo do tempo de hidrólise.....	43
Figura 4.2: Compactação da membrana para cada experimento (água destilada a 25°C e pressão transmembrana de 200 kPa).....	46
Figura 4.3: Compactação média da membrana de ultrafiltração (água destilada a 25°C e pressão transmembrana de 200 kPa).....	46
Figura 4.4: Permeabilidade da membrana antes do uso para cada experimento.	47
Figura 4.5: Fluxo permeado do suco hidrolisado.	48
Figura 4.6: Fluxo permeado do suco hidrolisado normalizado em relação à permeabilidade inicial da membrana.	50
Figura 4.7: Fluxo permeado do suco sem hidrólise.....	50
Figura 4.8: Fluxo permeado médio do suco	51
Figura 4.9: Fluxo permeado médio de água através da membrana antes e após o uso e após limpeza e higienização.....	53
Figura 4.10: Fotomicrografia da seção transversal da membrana utilizada nos experimentos de ultrafiltração.....	54
Figura 4.11: Fotomicrografia da camada seletiva da membrana utilizada nos experimentos de ultrafiltração.....	55
Figura 4.12: Gráfico comparativo da viscosidade do suco ao longo do processo de filtração com pré-tratamento enzimático.....	56
Figura 4.13: Placa de <i>Petri</i> , com meio de cultura BDA, após aberta por 10 minutos no laboratório e incubada em estufa por 5 dias a 35°C.....	59

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Composição média da laranja Pêra por 100 g de produto.....	4
Tabela 3.1: Valores de viscosidade, acidez, °Brix, <i>ratio</i> e pH do suco cru em diferentes dias	31
Tabela 3.2: Processos realizados em cada um dos experimentos (1, 2, 3 e 4).....	34
Tabela 4.1: Valores da viscosidade do suco de laranja não pasteurizado hidrolisado com a enzima Pectinex Ultra SP	41
Tabela 4.2: Valores da viscosidade do suco de laranja não pasteurizado hidrolisado com a enzima Citrozym Cloudy 100L	41
Tabela 4.3: Percentual de redução da viscosidade do suco de laranja hidrolisado com Pectinex Ultra SP-L (30°C e 40°C) e Citrozym Cloudy 100-L (35°C e 45°C).	42
Tabela 4.4: Valores de acidez titulável, °Brix, <i>ratio</i> e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Pectinex Ultra SP-L a 30°C.	44
Tabela 4.5: Valores de acidez titulável, °Brix, <i>ratio</i> e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Pectinex Ultra SP-L a 40°C.	44
Tabela 4.6: Valores de acidez titulável, °Brix, <i>ratio</i> e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Citrozym Cloudy 100-L a 35°C....	44
Tabela 4.7: Valores de acidez titulável, °Brix, <i>ratio</i> e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Citrozym Cloudy 100-L a 45°C....	45
Tabela 4.8: Permeabilidade hidráulica para os pedaços de membrana utilizados em cada experimento.	48
Tabela 4.9: Valores de acidez titulável e °Brix do suco cru, hidrolisado, permeado, concentrado e pasteurizado para os experimentos de UF.	56
Tabela 4.10: Valores de <i>ratio</i> e pH do suco cru, hidrolisado, permeado, concentrado e pasteurizado para os experimentos de UF.....	57
Tabela 4.11: Resultados das análises microbiológicas do ar do laboratório.....	58
Tabela 4.12: Resultados da contagem de fungos filamentosos realizadas para o experimento 1.....	60
Tabela 4.13: Resultados da contagem de fungos filamentosos realizadas para o experimento 2.....	60
Tabela 4.14: Resultados da contagem de leveduras realizadas para o experimento 1.....	60
Tabela 4.15: Resultados da contagem de leveduras realizadas para o experimento 2.....	61
Tabela 4.16: Resultados da contagem de bactérias mesófilas realizadas para o experimento 1.....	61
Tabela 4.17: Resultados da contagem de bactérias mesófilas realizadas para o experimento 2.....	61
Tabela A.1: Medidas do fluxo permeado de água destilada durante a compactação da membrana para cada experimento.....	70
Tabela A.2: Medidas do fluxo permeado de água destilada para a determinação da permeabilidade hidráulica da membrana antes de seu uso.....	70
Tabela A.3: Medidas do fluxo permeado para o suco de laranja hidrolisado.....	71
Tabela A.4: Medidas do fluxo permeado para o suco de laranja não hidrolisado	71
Tabela B.1: Composição do meio de cultura <i>Orange Serum Agar</i>	72
Tabela B.2: Composição do meio de cultura <i>Agar batata</i>	72

Lista de Símbolos

C_i^m	concentração do soluto entre os dois lados da membrana (mg.L^{-1})
D_i	difusividade mássica do soluto ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)
C_i	concentração do soluto (mg.L^{-1})
J	fluxo permeado ($\text{m}^3.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
J_i	fluxo permeado de soluto ($\text{m}^3.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
L_p	permeabilidade da membrana ($\text{m}^3.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)
R	resistência da membrana (m^{-1})
R_I	resistência total da membrana (m^{-1})
R_m	resistência hidráulica da membrana limpa (m^{-1})
R_{cp}	resistência da membrana associada à camada de polarização (m^{-1})
R_f	resistência da membrana associada ao <i>fouling</i> (m^{-1})
$\frac{\partial P}{\partial x}$	gradiente de pressão através da membrana (Pa.m^{-1})
ΔP	diferença de pressão transmembrana (Pa)

Capítulo 1

Introdução

O suco de laranja, que é definido como suco não fermentado obtido de laranjas maduras da espécie *Citrus sinensis*, está entre os sucos mais consumidos e apreciados em todo o mundo. Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, sendo o suco de laranja concentrado e congelado (FCOJ) um de seus principais produtos de exportação. Conforme a Abecitrus (2006), o maior volume de exportação é destinado à União Européia e ao NAFTA (Canadá, Estados Unidos e México), os quais importam cerca de 65% e 14%, respectivamente, da produção de FCOJ do Brasil.

Devido aos novos hábitos e crescente tendência ao consumo de produtos naturais, houve um aumento na demanda do suco de laranja e surgiram novas formas de comercialização do produto. Existem, basicamente, três formas de comercialização do suco de laranja: suco concentrado e congelado (FCOJ); suco reconstituído e suco pasteurizado.

Apesar de ser um produto com grande demanda para a exportação, o FCOJ não é um produto que apresenta um consumo acentuado em âmbito nacional. O suco reconstituído nada mais é do que o suco congelado adicionado de água e outros aditivos, comercializado pronto para beber, geralmente em caixas longa vida e sem necessidade de refrigeração. O suco pasteurizado também é vendido pronto para beber, porém necessita de refrigeração. Tanto o FCOJ quanto o suco de laranja reconstituído apresentam um sabor característico resultante do processo de concentração do suco. O suco pasteurizado, por sua vez, apresenta o diferencial de ser submetido a processamento térmico mais brando, fazendo com que suas características sensoriais sejam mais próximas às do produto fresco.

A pasteurização convencional pode ser realizada em trocadores de calor tipo duplo-tubo ou de placas. Consiste no aquecimento do suco a uma determinada temperatura, na retenção do suco a esta temperatura durante um determinado tempo, seguido de um resfriamento. Temperaturas e tempos utilizados no processo de pasteurização são, geralmente, segredo industrial. Existem diversos trabalhos científicos que citam diferentes combinações

de tempo e temperatura para que a pasteurização seja eficiente no seu propósito de conservação. O processamento térmico visa aumentar a vida útil e garantir a saúde do consumidor, porém deve ser conduzido de forma a manter as características sensoriais mais próximas do suco natural “fresco”. A preservação das características originais dos alimentos, pelo maior tempo possível, após a sua transformação, é um dos grandes objetivos da indústria de alimentos.

Apesar da pasteurização do suco de laranja ser efetuada com temperaturas mais baixas do que as, por exemplo, utilizadas para o leite, ainda assim o suco sofre alterações de sabor durante o processo. Os processos de separação com membranas (PSM), uma vez que operam a temperatura ambiente, apresentam-se como uma boa alternativa à pasteurização convencional.

Uma vez que o Brasil é o maior produtor de laranjas do mundo e o maior exportador de FCOJ, estudos nesta área são necessários para que o país não somente permaneça neste *ranking*, como também possa ser fonte de novas tecnologias na produção de sucos, oferecendo produtos mais competitivos no mercado nacional e internacional.

Neste contexto, este trabalho visa estudar a possibilidade de integrar o processo convencional de pasteurização com a ultrafiltração na produção de suco de laranja pasteurizado. Para tanto, avaliou-se tanto o comportamento do fluxo permeado durante a filtração, como as características do suco permeado e concentrado através de análises microbiológicas. Com os resultados obtidos fez-se uma comparação entre a vida de prateleira do suco pasteurizado e a do suco reconstituído.

Este trabalho foi desenvolvido em parceria com uma empresa produtora de sucos no Estado, cujo principal produto de comercialização é o suco de laranja pasteurizado pronto para consumo, o qual deve ser mantido sob refrigeração. Este suco é processado em trocadores de calor do tipo duplo-tubo, os quais, apesar de utilizarem temperaturas e tempos diferenciados (*flash pasteurização*), modificam as características sensoriais do suco.

Esta dissertação está dividida em cinco Capítulos. O Capítulo 2 apresenta a fundamentação teórica e a revisão bibliográfica referente à produção de suco de laranja e aos PSM. O Capítulo 3 apresenta os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento deste trabalho. No Capítulo 4 os resultados experimentais são apresentados e discutidos. Finalmente, no Capítulo 5 estão apresentadas as conclusões deste trabalho e sugestões de trabalhos futuros.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

Neste capítulo serão apresentados os fundamentos teóricos importantes para este trabalho e uma revisão bibliográfica dos estudos publicados que estão relacionados com o processamento de sucos utilizando processos de separação por membranas.

2.1 Suco de laranja

O suco de laranja é uma bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja (*Citrus sinensis*), através de processo tecnológico adequado, devendo obedecer às características de cor, sabor, aroma e composição descritos na legislação. Em relação à composição, os principais parâmetros analisados são:

- sólidos solúveis (°Brix);
- *ratio* (relação de °Brix/acidez (g de ácido cítrico anidro/100 g de suco));
- açúcares totais naturais da laranja (g/100 g);
- ácido ascórbico (mg/100 g) e
- óleo essencial % (V/V).

O suco de laranja pasteurizado encontrado no mercado é um suco composto de diferentes variedades de laranja. Dentre outras características, o suco de laranja deve apresentar um teor de sólidos solúveis em °Brix de no mínimo 10,5 e *ratio* mínimo de 7,0 (BRASIL, 1999).

A laranja da variedade Pêra é uma das mais utilizadas na fabricação de suco de laranja no Estado de São Paulo. Apresenta uma forma quase esférica, casca de espessura fina a média e cor alaranjada. Possui 3 ou 4 sementes e seu peso médio é de 145 g, tendo, aproximadamente, 52 g de suco. Sua polpa é firme e de cor laranja vivo. Na média, apresenta valores de 0,95% de acidez titulável (expressa por g de ácido cítrico anidro/100 g de suco) e

11,9° Brix. A literatura apresenta divergências quanto ao valor de *ratio* da laranja Pêra: enquanto alguns autores consideram um valor médio de 12,5 outros consideram uma faixa que vai de 12,94 a 20,75 (DE NEGRI 1999 e DONADIO, 1999 apud TRIBESS, 2003).

As principais partes que compõem a laranja são:

- flavedo: parte externa e colorida da casca;
- albedo: porção interna esbranquiçada e esponjosa da laranja;
- gomos revestidos por uma membrana e preenchidos por pequenos sacos de suco e sementes.

Na Figura 2.1 é apresentado um corte de uma laranja com estas partes representadas.

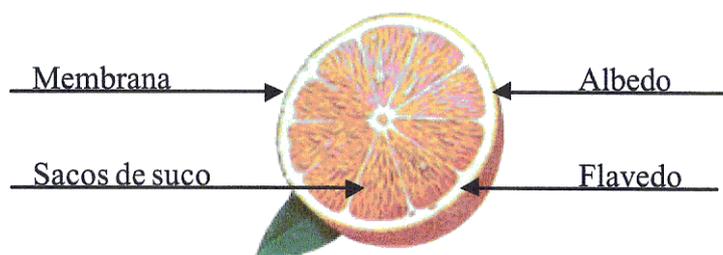


Figura 2.1: Corte de uma laranja com suas principais partes representadas (ABECITRUS, 2006).

A laranja é fonte de beta-caroteno, folato, tiamina e potássio, possuindo um baixo teor calórico, cerca de 60 calorias por 100 gramas de produto. A laranja é uma excelente fonte de vitamina C, sendo que uma laranja contém uma dose de ácido ascórbico mais elevada do que a dose diária recomendada a um adulto. A **Tabela 2.1** apresenta a composição média da laranja Pêra por 100g de produto.

Tabela 2.1: Composição média da laranja Pêra por 100 g de produto.

Composição da laranja Pêra em 100g de produto	
Calorias	62 kcal
Carboidratos	15,4 g
Proteínas	1,2 g
Fibras	3,1 g
Gordura	0,2 g
Potássio	237 mg
Vitamina C	69,7 mg

Fonte: NETLIGHT, 2002 apud TRIBESS, 2003

No entanto, conforme Tressler & Joslyn (1961), a composição das frutas cítricas é afetada por diversos fatores como: condições de crescimento, variadas práticas e tratamentos de cultivo, maturidade e clima. A mesma variedade cultivada em diferentes locais apresenta diferenças em sua composição.

2.1.1 Mercado

A primeira fábrica de suco concentrado e congelado do Brasil foi implantada nos anos 50, logo após a II Guerra Mundial, para fornecimento no mercado interno. Porém, foi somente nos anos 60 que a indústria brasileira de sucos e outros sub-produtos da laranja ganhou impulso. A motivação para este mercado foi a grande geada que, em 1962, atingiu os pomares da Flórida, chegando a destruir 13 milhões de árvores adultas e, conseqüentemente, destruiu grande parte da citricultura dos Estados Unidos da América (ABECITRUS, 2006).

Dados da Abecitrus (2006) demonstram que, a partir de 1963, o mercado apresentou uma rápida expansão e, já na década de 80, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial de laranjas, superando os Estados Unidos. Desde então, o Brasil não mais perdeu seu posto de líder mundial na produção de laranjas. Na safra de 2002/03 a produção brasileira de laranjas representou 25% da produção mundial, seguida pelos Estados Unidos com 16%.

A maior parte da produção brasileira de laranjas destina-se à indústria do suco, a qual se concentra no estado de São Paulo que é responsável por 70% das laranjas e 98% do suco que o Brasil produz. Como os Estados Unidos dedicam-se a abastecer apenas o seu mercado interno, o Brasil se transformou no maior exportador mundial de suco de laranja, atendendo cerca de 50% da demanda e 75% das transações internacionais. Não há outro produto industrializado onde a presença do Brasil seja tão marcante (ABECITRUS, 2006).

No Brasil, o mercado interno de suco industrializado está relacionado quase que estritamente ao comércio do suco de laranja natural pasteurizado e do suco de laranja reconstituído. Isto se deve ao fato de que o suco de laranja concentrado congelado (FCOJ – *Frozen Concentrated Orange Juice*) é rejeitado pelo consumidor brasileiro, o qual está habituado ao consumo do suco de laranja fresco, com características sensoriais superiores (GARCIA, 2000 apud TRIBESS, 2003).

A partir de 1990, surgiram novas formas de comercialização do suco de laranja, fazendo crescer seu consumo no Brasil. O aumento do interesse por este produto se deve, em parte, pelos novos hábitos de consumo de produtos naturais, fazendo com o que o consumidor substitua as antigas bebidas industrializadas, como refrigerantes, pelos sucos naturais (NETO & FARIA, 2003).

Neto & Faria (2003) acrescentam que, como opção intermediária, surgiram os sucos prontos para beber, que são pasteurizados e comercializados sob refrigeração. Estes sucos são submetidos a tratamentos térmicos mais brandos, fazendo com que suas características sensoriais sejam mais próximas às do produto fresco. Isto é necessário pois o consumidor brasileiro possui uma alta exigência com relação ao sabor natural dos sucos cítricos e,

geralmente, detectam alterações em sucos submetidos a processamentos térmicos rigorosos, tais como os sucos concentrados e congelados.

2.1.2 Processamento do suco de laranja

O processamento de um alimento tem por finalidade básica a conservação da qualidade do mesmo, sendo importante salientar que nenhum processo pode melhorar a qualidade de um produto, no máximo manter suas características originais. Desta forma a fruta utilizada para a produção do suco laranja deve ser sadia, podendo até apresentar pequenos problemas de manchas ou cor inadequada da casca, o que as tornam impróprias para o consumo “*in natura*”, mas não para a produção de suco.

No Brasil são produzidos alguns tipos de suco quase que estritamente para o mercado externo e outros para o mercado interno. Segundo Abecitrus (2006), o suco de laranja concentrado congelado representa 72% da produção nacional de laranjas e é quase totalmente voltado para a exportação, com exceção de uma pequena parte da produção que é utilizada no processamento do suco de laranja reconstituído no Brasil. Além disto, também são produzidos, para o consumo no mercado interno, o suco de laranja pasteurizado e o suco de laranja fresco.

As etapas iniciais de todas as formas de processamento são as mesmas. A colheita é realizada em pomares da própria indústria e/ou em pomares de terceiros devidamente cadastrados junto à empresa produtora de suco. A colheita é realizada manualmente, utilizando escadas, sacolas e caixas que, em seguida, são descarregadas nos caminhões com destino aos pátios de cada unidade da empresa produtora de suco. Todo o cuidado é tomado durante o manuseio e o transporte, pois o fruto não pode sofrer batidas que causem transformações externas e internas, tais como a perda do óleo encontrado na casca e o rompimento das células internas.

Conforme comentado por Ferrara (2003), o processamento de frutas cítricas permite que se tenha uma enorme quantidade de produtos acabados, como os concentrados de laranja, limão e tangerina, além de vários subprodutos com valor comercial, que são obtidos durante o processo de fabricação. Entre estes subprodutos estão os óleos essenciais, o *d'limoneno* e o farelo de polpa cítrica peletizado ou *pellet* de polpa cítrica.

As principais etapas do processamento de laranjas na produção de suco pasteurizado são: recebimento, lavagem, seleção e classificação, extração, acabamento, pasteurização, resfriamento e armazenamento, e estão descritas brevemente a seguir.

Recebimento

Os frutos colhidos são transportados em carretas até o pátio das empresas, onde são posicionadas nas docas de recepção. São realizadas análises de pH, °Brix, índice de acidez total e relação acidez/°Brix (*ratio*), principais parâmetros de qualidade dos frutos a serem processados, os quais influenciam no planejamento da produção e controle de qualidade do suco.

Através de registros preliminares, as empresas mantêm um histórico da variedade e da qualidade de diversos pomares, que servem de orientação para a aquisição das frutas durante a safra. Esse procedimento possibilita que as fábricas trabalhem com a máxima eficiência e sempre com a fruta no estágio adequado de maturação.

No interior do pátio, os caminhões entram em fila de espera, aguardam a chamada para a pesagem e o encaminhamento para o descarregamento. Após, é realizada a primeira seleção dos frutos. Esta seleção consiste de uma inspeção visual de toda a superfície do fruto, observando os seguintes aspectos de qualidade:

- estágio ideal de maturação (nem verde nem madura demais);
- ferimentos na casca, como cortes e picadas de insetos;
- presença de fungos e leveduras na casca;
- presença de sujidades;
- dimensões adequadas para o processamento.

Os frutos que não apresentarem qualidade, chamados de “refugo”, são removidos do processo. Dependendo da empresa, estes frutos são descontados do peso da carga e seguem para alimentação animal.

Lavagem

Após a primeira seleção, as laranjas são lavadas em esteiras equipadas com esguichos de água clorada na parte superior e escovas rotativas na parte inferior, sendo estas as responsáveis pela limpeza mecânica e deslocamento dos frutos. O objetivo desta etapa é a remoção de sujidades presentes na casca dos frutos.

Seleção e classificação

Após a lavagem, ficam evidentes alguns defeitos que podem prejudicar a qualidade do produto final e, desta forma é feita uma segunda seleção através de inspeção visual. As laranjas, completamente limpas, passam por um sistema de roletes em que funcionários especialmente treinados retiram os frutos em más condições. Nesta etapa, os frutos estragados por pragas, cortados ou amassados são retirados e enviados para ração animal.

Extração do suco de laranja

A extração do suco é realizada em unidades que operam à base de compressão do fruto integral, possibilitando a saída do suco por um cilindro, de forma a impedir a incorporação de material estranho ao mesmo (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

Existem dois tipos de extratoras: a *Brown*, que corta as laranjas em duas metades, que por sua vez são prensadas contra extratores rotativos similares aos extratores domésticos e as extratoras da *FMC Technologies* (**Figura 2.2:**), as quais são constituídas de dois copos em

forma de dedos que se interpenetram, comprimindo a laranja inteira. O copo inferior é dotado de um tubo através do qual o suco escoa. Cada máquina contém 5 pares de copos e tem capacidade para processar até 500 laranjas por minuto.

Este tubo, construído de tela perfurada, retém parte da polpa e as demais partes sólidas, impedindo que estas venham a se incorporar ao suco. Um dispositivo comprime a parte da laranja contida dentro do tubo para completar a extração. Nesta fase, a fruta é separada em casca, suco polposo, emulsão de óleo e sólidos em suspensão (*slurry*).

O bagaço e a casca são encaminhados à linha de ração animal, a emulsão de óleo é encaminhada à linha de extração do óleo essencial e o suco polposo é conduzido por gravidade até os turbo filtros (FERRARA, 2003).

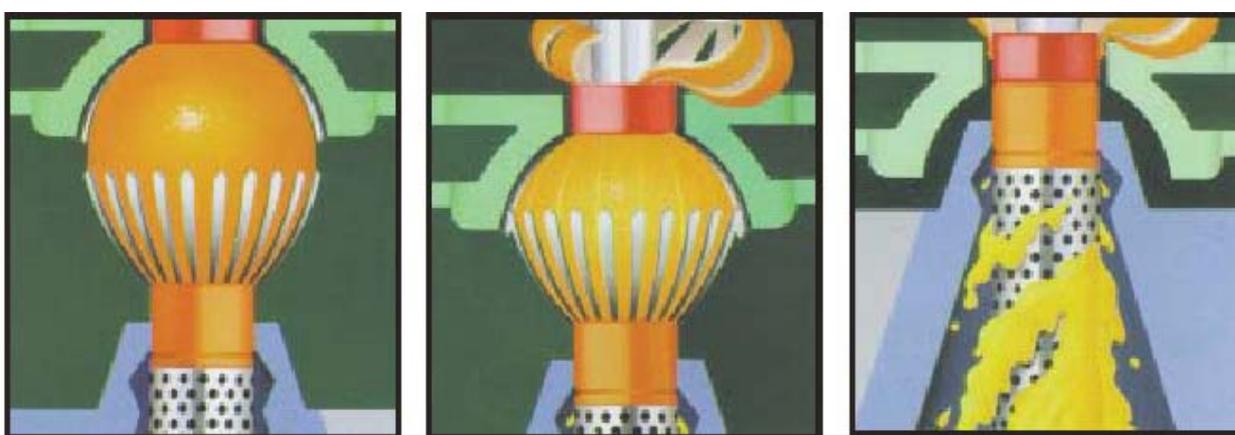


Figura 2.2: Esquema simplificado do processo de extração em máquinas FMC.

Fonte: FMC Technologies.com (2006)

Para adequação ao processo industrial, todas as extratoras são instaladas em plataforma elevada. O suco de laranja sai das extratoras por meio de tubulações na parte inferior do equipamento (YAMANAKA, 2005). O modelo de extratora adotado pela maior parte das empresas nacionais do setor é da FMC.

A limpeza realizada nas extratoras depende do fluxo de produção. Nos casos de fluxo contínuo, a limpeza é realizada a cada 24 horas com o sistema de retro-lavagem. Após a parada da fábrica, é feita uma limpeza geral, na qual a máquina é aberta e qualquer tipo de resíduo de laranja é retirado (FERRARA, 2003).

Acabamento (“Finisher”)

Após a extração, o suco com alto teor de polpa (aproximadamente 30%) é encaminhado a uma unidade denominada “*finisher*” ou turbo filtro, a qual tem por finalidade realizar a remoção de partículas insolúveis do suco, tais como células de laranja, fragmentos de casca e semente, etc. (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

A turbo filtração é um processo contínuo de peneiramento de microsólidos insolúveis em suspensão através da ação dinâmica da turbulência sobre o líquido a ser filtrado, com a vantagem de necessitar uma pequena superfície filtrante.

Em seu interior, o turbo filtro possui uma rosca helicoidal em aço inoxidável que gira internamente em posição inclinada para tentar retirar o máximo de suco possível. Neste momento, o suco é conduzido para os tanques de alimentação da centrífuga e as células de laranja vão para uma segunda prensagem para diminuir as perdas de produto (FERRARA, 2003).

O rendimento e a qualidade do suco podem ser controlados através do ajuste no grau de retenção do suco filtrado, pela abertura maior ou menor do orifício de saída da polpa e pela perfuração da tela filtrante. Deve-se ter controle, também, da vazão de entrada e da inclinação do turbo para não haver transbordamento de suco. Quanto mais inclinado o equipamento estiver, maior será a extração de suco nesta etapa, porém maior o risco de células passarem, prejudicando os processos posteriores, pois o produto final apresentará uma alta viscosidade (FERRARA, 2003).

O suco resultante da operação de acabamento é bombeado para um tanque de equilíbrio para manutenção do fluxo da linha (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

Após esta etapa, ocorre a diferenciação dos diversos tipos de suco conforme a continuidade do processo. O suco pode ser submetido somente à pasteurização ou então ser concentrado após prévia pasteurização.

Existe ainda o suco reconstituído, o qual é obtido a partir da adição de água potável ao suco concentrado congelado de forma a reduzir o teor de sólidos solúveis de 65°Brix para, aproximadamente, 11°Brix. Além disto, são ainda adicionados à mistura aromas, essências de laranja ou frutas cítricas (MORRIS, 1996 apud TRIBESS, 2003).

Pasteurização

A pasteurização é um tratamento térmico moderado utilizado em alimentos para a destruição de microorganismos vegetativos (principalmente os patogênicos) e inativação de enzimas. Como o processo não é severo a ponto de matar esporos, os alimentos pasteurizados devem ser armazenados sob refrigeração para minimizar a proliferação microbiana. No entanto, também devido ao moderado tratamento térmico, as características sensoriais e o valor nutritivo destes alimentos são minimamente afetados (JOGEM, 2002).

O pH dos alimentos é um parâmetro importante do ponto de vista dos tratamentos térmicos, sendo que os alimentos são divididos em três grupos de pH (JOGEM, 2002):

- alimentos altamente ácidos ($\text{pH} < 4,0$);
- alimentos ácidos ou moderadamente ácidos ($4,0 < \text{pH} < 4,5$);
- alimentos pouco ácidos ($\text{pH} > 4,5$).

A mais importante distinção na classificação de pH, referindo-se especialmente aos processamentos térmicos, é a linha divisória entre os alimentos ácidos e os pouco ácidos (JOGEM, 2002).

No caso de suco de laranja, o tratamento térmico prévio à evaporação (ou engarrafamento, no caso de suco pasteurizado), constitui-se basicamente de uma pasteurização, que, além de eliminar a maior parte da flora microbiana, busca inativar a pectinesterase. Esta enzima destrói a estabilidade da suspensão e faz o líquido tornar-se límpido na porção superior, alterando o seu aspecto natural (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

A presença inevitável de gases dissolvidos no suco (30-50 mL/L), que incluem oxigênio em quantidades que vão de 2,7 – 5mL/L, pode provocar a oxidação dos seus componentes modificando o gosto, aroma e cor do suco. Este inconveniente torna-se bem mais aparente quando o suco contém óleo essencial em quantidades maiores como consequência de extratores que retiram o suco da polpa misturando-o aos óleos da casca (RIO GRANDE DO SUL, 1975).

Embora se consiga impedir uma fermentação no suco com temperaturas inferiores, segundo Rio Grande do Sul (1975), o tratamento térmico é realizado a uma temperatura próxima de 92°C, durante aproximadamente 45 segundos. O processo de pasteurização do suco de laranja, por sua vez, é realizado a uma temperatura de 95°C durante 20 segundos, sendo então resfriado e envasado (LD CITRUS apud TRIBESS, 2003).

A temperatura do tratamento do suco e o tempo de retenção são dependentes do pH, o qual se eleva com o avanço da safra, aproximando-se cada vez mais do pH ideal para a atividade enzimática. Assim, tratamentos mais severos são empregados para o suco de fim da safra (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

O controle de atividade enzimática, realizado em laboratórios, tem como finalidade verificar a eficiência do tratamento empregado. Utilizam-se testes de clarificação, geleificação e análise da atividade da pectinesterase. Com base nos resultados, são feitas as regulagens da temperatura e tempo de tratamento no processamento do suco (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

Tribess (2003) estudou diferentes temperaturas (82,5; 85,0; 87,0°C) e tempos (de 15 a 55 segundos) de pasteurização na produção de suco de laranja minimamente processado e concluiu que, nas condições estudadas, as diferentes temperaturas aplicadas não influenciavam significativamente os parâmetros físico-químicos do suco, tais como, °Brix, pH e acidez titulável.

Refrigeração e armazenamento

A refrigeração é um processo de conservação que envolve temperaturas entre 0 e 15°C, sendo muito utilizada na conservação de frutas “in natura” e, juntamente com um controle atmosférico, possibilita o armazenamento prolongado de frutas que normalmente tornar-se-iam perecíveis alguns dias após a colheita, como por exemplo a banana, a manga e a maçã.

Na industrialização de sucos e néctares a refrigeração é utilizada como complemento da pasteurização ou mesmo da conservação por adição de conservantes (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

Subprodutos da industrialização da laranja

O farelo de polpa cítrica peletizado ou *pellet* de polpa cítrica é obtido por meio do tratamento de resíduos sólidos e líquidos remanescentes da extração do suco. Entre estes resíduos estão cascas, sementes e polpa de laranjas. Este material equivale a 50% do peso de cada laranja e possui uma umidade de aproximadamente 82%. Após passar pelo processo de industrialização onde a polpa é triturada e seca até atingir 12% de umidade, o produto é peletizado. O *pellet* de polpa cítrica é utilizado, principalmente, como complemento para ração animal, principalmente no ramo da pecuária; possui boa aceitação como insumo na ração de rebanhos bovinos (leite e corte), mas sua utilização não deve ultrapassar 30% da matéria seca para cada animal adulto (ABECITRUS, 2006).

Os óleos essenciais são óleos voláteis que são retirados da casca das frutas cítricas durante o processo de extração do suco. As bolsas de óleo da casca se rompem, liberando o produto, que é então removido por meio de jatos de água. Em seguida, esta emulsão água-óleo essencial é separada por meio de centrifugação e depois é resfriada. Estes óleos têm maior aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Podem ser usados diretamente para dar sabor em bebidas, sorvetes e outros alimentos, assim como podem ser utilizados na fabricação de medicamentos, cosméticos como sabonetes, cremes e perfumes. São utilizados, ainda, pelas indústrias fabricantes de produtos de limpeza (ABECITRUS, 2006).

O *d'limoneno* é um líquido incolor, com leve odor cítrico, obtido da destilação do licor cítrico. Este licor provém da prensagem do resíduo úmido da laranja (casca, bagaço e sementes) após a extração do suco. O óleo do licor é removido durante a evaporação e condensado separadamente. O *d'limoneno* é a fração oleosa e é considerada uma das mais puras fontes de terpeno monocíclico, sendo um subproduto com alto valor comercial, especialmente no campo de fabricação de tintas, solventes e plásticos (ABECITRUS, 2006).

2.2 Processos de separação por membranas

A filtração é definida como a separação de dois ou mais compostos de um fluido baseada no princípio de diferenças de tamanho. Normalmente refere-se à separação de partículas sólidas imiscíveis de fluidos líquidos ou gasosos. A filtração por membranas expande suas aplicações e inclui a separação de sólidos solúveis em soluções líquidas, a separação de misturas de líquidos e a separação de misturas de gases.

Uma membrana pode ser definida como uma barreira seletiva, sólida ou líquida, que separa duas fases e restringe, parcial ou totalmente, o transporte de uma ou várias espécies químicas de maneira específica. Esse transporte pode ocorrer tanto por difusão ou advecção, sendo induzido por um gradiente de potencial químico (pressão, concentração ou temperatura) ou potencial elétrico. Dependendo do transporte e da força motriz, têm-se diferentes processos de separação por membranas (PSM), entre os quais se pode destacar: microfiltração,

ultrafiltração, osmose inversa, diálise, eletrodialise, pervaporação e separação de gases, entre outros.

Os processos de microfiltração e ultrafiltração são alguns dos PSM de maior importância comercial no mundo. A microfiltração teve origem na Alemanha logo após a 1ª Guerra Mundial, no entanto, somente era utilizada laboratorialmente e em escalas reduzidas. Após este período, também na Alemanha, a ultrafiltração começou a ser empregada, mas somente na década de 60, nos EUA, sua utilização comercial em larga escala foi empregada na concentração de macromoléculas (MULDER, 1996).

A principal vantagem da utilização dos PSM na indústria de alimentos deve-se ao fato de que estes processos não requerem a utilização de calor ou mudanças de fase. Desta forma, separações envolvendo proteínas ou outros compostos termolábeis, como vitaminas, são favorecidas uma vez que são preservados nutrientes e constituintes de aroma e sabor, fatores importantes para a qualidade do produto final. Como exemplo, no processamento de sucos, a osmose inversa pode ser utilizada na etapa de concentração em substituição à evaporação convencional, eliminando o sabor de “cozido” presente em muitos sucos processados industrialmente (MULDER, 1996; HABERT *et al.*, 2000).

Além de processar substâncias termolábeis com mínimas alterações, os PSM apresentam outras vantagens, destacando-se: a baixa demanda energética, uma vez que não necessitam de mudança de fase para que a separação ocorra; a alta seletividade das membranas, o que torna possível fracionar misturas e soluções; a simplicidade de operação e escalonamento, uma vez que os sistemas são modulares e os dados para o dimensionamento de uma planta podem ser obtidos a partir de equipamentos pilotos. Os PSM controlados pela pressão, como microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa têm sido implementados com sucesso em diversas indústrias, sendo a microfiltração, a ultrafiltração e a osmose inversa os PSM de maior interesse para a indústria de alimentos. Entre as aplicações dos PSM na área de alimentos, destacam-se a clarificação de vinhos, sucos e cerveja, a concentração de gelatina, de proteínas do soro de queijo e de sucos (GUADIX *et al.*, 2004; HORST e HANEMAAIJER, 1990 apud SANTIN, 2004), entre outras. Embora o suco de maçã seja o mais comumente processado com tecnologia de membranas, sistemas comerciais já estão operando com suco de uva, pêra, abacaxi e sucos cítricos (SHORT, 1998 apud SANTIN, 2004).

A microfiltração é amplamente utilizada na separação de pequenas partículas presentes em soluções. As membranas de microfiltração são classificadas pelo diâmetro nominal de poro, o qual é definido como aquele para o qual são retidos entre 97 a 98% de um determinado tamanho de soluto ou partícula, tipicamente dentro do intervalo de 0,1 a 10 μm . Além disto, requer pequenas pressões de operação, usualmente na faixa de 70 a 350kPa (VALENTAS *et al.*, 1997).

A ultrafiltração é utilizada na separação de várias macromoléculas. Normalmente, as membranas de ultrafiltração são especificadas através da massa molar de corte (MMC) ou “*cut off*”. A MMC de uma membrana é definida como sendo o valor da massa molar para a

qual a membrana apresenta um coeficiente de rejeição de 95%. Desta forma, uma membrana com MMC de 40 kDa é aquela capaz de rejeitar 95% das moléculas presentes em uma solução de um soluto com massa molar de 40.000 Dalton.

Segundo Guadix *et. al* (2004), plantas de ultrafiltração e microfiltração podem ser projetadas tanto para operações em batelada ou contínuas, sendo o modo contínuo o preferido para processos de larga escala.

A configuração do escoamento nos PSM pode ser de duas maneiras: transversal (*dead-end*) ou tangencial (*cross-flow*). Nos processos de filtração transversal, com o passar do tempo, as partículas retidas formam uma “torta” na superfície da membrana, aumentando a resistência à filtração. Já na filtração tangencial, a fase concentrada é forçada a escoar ao longo da superfície da membrana, varrendo as partículas retidas; desta forma, a camada de torta permanece relativamente fina e a resistência à filtração é relativamente pequena.

Ripperger & Altmann (2002) comentam que a filtração tangencial é influenciada por um grande número de parâmetros, tais como, velocidade tangencial, pressão transmembrana, resistência da membrana, resistência da camada de torta, distribuição do tamanho das partículas em suspensão, forma da partícula, comportamento de aglomeração e efeitos de superfície das partículas, entre outros. Os autores acrescentam que um melhor entendimento desta formação da camada de torta e deposição de partículas na superfície da membrana pode resultar em um uso mais econômico da filtração tangencial em diversas aplicações.

Muitos modelos têm sido desenvolvidos para descrever os processos de filtração tangencial, mas apenas alguns são adequados para descrever os processos reais e explicar os diferentes resultados experimentais e práticos. Ripperger & Altmann (2002) citam que recentes investigações estão focadas neste requisito, sendo que, em algumas delas, a espessura e estrutura da torta são medidas após o processo de filtração, em outros casos, tenta-se obter informações *on-line* a respeito da formação desta camada.

O fluxo permeado “*J*” é definido como o volume de permeado que escoar através de uma unidade de área da membrana por unidade de tempo. De um modo geral, para os processos que utilizam o gradiente de pressão como força motriz, o fluxo permeado é diretamente proporcional ao próprio gradiente de pressão conforme mostra a equação (2.1):

$$J = -L_p \frac{\partial P}{\partial x} \quad (2.1)$$

onde L_p é a constante de proporcionalidade conhecida como permeabilidade da membrana e $\partial P/\partial x$ é o gradiente de pressão através da membrana.

A permeabilidade da membrana depende das características da membrana e da solução a ser processada e pode ser entendida como uma medida de maior ou menor facilidade que a membrana oferece à passagem de um dado solvente. A permeabilidade pode apresentar uma forte dependência com as condições operacionais do sistema e com as

propriedades da membrana. O inverso da permeabilidade é uma medida de resistência (R) que o meio oferece ao transporte, desta forma, pode ser expressa por:

$$J = \frac{1}{\eta \cdot R} \Delta P$$

onde:

$$R = \frac{1}{\eta \cdot L_p} \quad (2.2)$$

O fluxo permeado (J) também pode ser expresso pelo modelo de resistências em série conforme a equação (2.3):

$$J = \frac{\Delta P}{\mu R_1} \quad (2.3)$$

onde ΔP é a pressão transmembrana, μ a viscosidade dinâmica do permeado e R_1 a resistência total definida como:

$$R_1 = R_m + R_{pc} + R_f \quad (2.4)$$

onde R_m é a resistência hidráulica da membrana limpa, R_{pc} é a resistência associada à camada de polarização por concentração e R_f é a resistência associada ao *fouling*. Estes dois fenômenos, polarização por concentração e *fouling* são muito importantes em PSM cuja força motriz é a diferença de pressão através da membrana e serão detidamente discutidos mais adiante.

Independente do modelo utilizado para o fluxo de solvente, o fluxo permeado de soluto, J_i , pode, no caso mais geral, ser calculado utilizando-se a lei de Fick, expressa pela equação (2.5):

$$J_i = J_v C_i^m - D_i \frac{dC_i}{dz} \quad (2.5)$$

onde C_i^m representa a concentração do soluto entre os dois lados da membrana; D_i , a difusividade mássica do soluto na fase líquida, no interior dos poros, e C_i , a concentração do soluto, que varia ao longo da espessura da membrana. Nesta equação, o primeiro termo representa a contribuição advectiva ao fluxo de soluto, ou seja, representa a quantidade de soluto que atravessa a membrana (por unidade de área e tempo) devido ao fluxo do próprio solvente. O segundo termo representa a contribuição difusiva, ou seja, representa a quantidade de soluto que atravessa a membrana devido à existência de um gradiente de sua concentração

ao longo da espessura da membrana. Nos processos cuja força motriz é o gradiente de pressão, a contribuição difusiva, via de regra, é negligenciável face à parcela advectiva.

A rejeição do soluto é definida como sendo uma fração do soluto originalmente presente na corrente de alimentação e rejeitado pela membrana, sendo geralmente expressa em percentagem.

$$R_{obs} = 1 - \frac{C_p}{C_b} \quad (2.6)$$

O desempenho de um sistema de filtração por membranas é medido em termos de sua habilidade para produzir grandes volumes de filtrado em um pequeno período de tempo e um elevado grau de pureza do filtrado em relação à concentração de soluto. Desta forma, o fluxo permeado e a rejeição do soluto são os dois parâmetros utilizados para medir este desempenho.

Guadix *et al.* (2004) comentam que o uso de modelos matemáticos precisos permite prever o comportamento do processo e sua modelagem é reconhecidamente uma tarefa essencial para o sucesso do projeto e a operação das plantas, sendo, geralmente, o objetivo final da modelagem a otimização do processo. De forma geral, o modelo deve incluir equações apropriadas para prever o fluxo permeado. Conforme os mesmos autores, os principais modelos disponíveis na literatura são: o modelo gel, o modelo de resistências em série e o modelo de pressão osmótica. O modelo gel pode prever o fluxo limite e assume a formação de uma camada gel na superfície da membrana, onde a concentração é constante e depende apenas do soluto. Este modelo não pode prever o comportamento do fluxo nas regiões controladas pela pressão. O modelo de resistências em série relaciona o fluxo permeado à pressão transmembrana e as demais resistências ao fluxo do solvente devido à concentração por polarização e *fouling*. Por sua vez, o modelo da pressão osmótica justifica a existência do fluxo limite devido ao aumento da pressão osmótica, o qual é decorrência do aumento na concentração de solutos retidos próximo à superfície da membrana.

2.2.1 Membranas

O principal papel de uma membrana é atuar como uma barreira seletiva, permitindo a passagem de certos componentes de uma mistura e retraindo os demais.

Em função das aplicações a que se destinam, as membranas apresentam diferentes estruturas: porosas ou densas. As membranas podem ser classificadas como isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas), ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo da sua espessura. As membranas assimétricas caracterizam-se por uma região superior muito fina ($\approx 1\mu\text{m}$), mais fechada (pode ou não apresentar poros), chamada de “pele”, suportada em uma estrutura porosa. Quando ambas as regiões são constituídas por um único material, a membrana é do tipo assimétrica integral e quando são empregados materiais diferentes no seu preparo, a membrana é do tipo assimétrica composta.

As membranas são fabricadas com uma ampla variedade de materiais tais como metais sinterizados, cerâmica e polímeros. O material das membranas e suas características morfológicas possuem um importante papel no desempenho do processo de filtração. Por exemplo, materiais hidrofílicos, como o acetato de celulose, são menos propensos ao *fouling* por compostos oleosos do que materiais hidrofóbicos como a polissulfona. As membranas sintetizadas com ésteres de celulose apresentam limites referentes à temperatura ($\approx 50^{\circ}\text{C}$) e ao pH (≈ 3 a 8) e baixa durabilidade. Membranas mais resistentes podem ser preparadas com polímeros como poliamidas, polissulfonas, poliarilsulfonas, poli (fluoreto de vinilideno), nylon e policarbonato, entre outros, porém, alguns destes apresentam menor resistência a agentes oxidantes (MULDER, 1996).

O uso de membranas inorgânicas tem crescido nos últimos anos. Estas são formadas por óxidos de silício, alumínio, zircônio ou titânio, sendo possível a formação de estruturas microporosas variadas, bem como um controle adequado da distribuição de tamanho de poros. As membranas inorgânicas suportam altas pressões, soluções com pH entre 0 e 14 e temperaturas superiores a 400°C . No entanto, apresentam baixa plasticidade, resultando em grande fragilidade (DI LUCCIO, 1997; JULIANO, 2000 apud SANTIN, 2004).

De um modo geral, as propriedades mais importantes para as membranas são: permeabilidade, seletividade, resistência mecânica, estabilidade térmica e resistência química. As membranas porosas apresentam outras características importantes na determinação da melhor aplicação: porosidade, espessura e distribuição de tamanhos de poros. Todas as características das membranas dependem do material e da técnica empregada no preparo das mesmas (MULDER, 1996).

A porosidade consiste na relação entre o volume de vazios (poros) e o volume total ocupado pela membrana. Quanto maior a porosidade, menor será a resistência do fluxo de solvente através da membrana. Desta forma, uma maior porosidade não implica necessariamente na redução da rejeição de um determinado soluto, pois o aumento na porosidade pode ser devido ao maior número de poros e não a um aumento em seus diâmetros médios (MULDER, 1996).

As medidas de fluxo permeado permitem quantificar a permeabilidade da membrana; no caso de solvente puro, admitindo-se que a membrana seja inerte em relação ao solvente e que ela não sofra deformação pela ação da pressão (compactação), o fluxo permeado apresentará uma dependência linear com a pressão, sendo o coeficiente angular desta reta a permeabilidade da membrana para o solvente em questão (Eq. 2.2).

Observa-se também que, para uma mesma pressão de operação, o fluxo permeado diminui com o aumento da viscosidade, ou seja, o fluxo permeado através da membrana, para um dado solvente, é inversamente proporcional à viscosidade do meio fluido. O fluxo permeado normalmente é expresso em $\text{L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ou $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. As permeabilidades de água típicas de membranas de osmose inversa, são menores que $50 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$, de 50 a $800 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$ para membranas de ultrafiltração e acima de $500 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$ para membranas de microfiltração. A permeabilidade à água é uma determinação simples, uma vez

que não é destrutiva, e é fundamental na caracterização de uma membrana, servindo como parâmetro de controle, indicando o grau de limpeza e integridade da membrana (HABERT *et al.*, 2000; MULDER, 1996).

Conforme Habert *et al.* (2000), em processos de ultrafiltração os fluxos permeados apresentam-se, em média, na faixa de 150 a 250 L.m⁻².h⁻¹. No entanto, fluxos bem menores podem ser obtidos em função dos efeitos de polarização de concentração e “*fouling*”, os quais dependem das condições de operação do sistema e das interações membrana-solução. Estes dois fenômenos são limitantes para que os PSM sejam mais empregados na indústria e, em função disso, serão discutidos detidamente mais adiante.

2.2.2 Módulos de membranas

Os principais objetivos da configuração modular das membranas são acomodar grandes áreas de filtração em um pequeno espaço, suportar as pressões requeridas pelos processos, assim como apresentar geometrias adequadas que resultem em uma menor perda de carga e em uma separação eficiente. Os módulos podem ser fabricados a partir de membranas planas (placa e quadro e espiral) ou a partir de membranas com geometria cilíndrica (fibra-oca, capilares e tubular), os quais serão brevemente descritos a seguir.

O projeto do módulo de placa e quadro é similar ao de filtros prensa convencionais, onde as membranas estão dispostas paralelamente, intermediadas por espaçadores de alimentação e suportes. Os espaçadores, com geometrias bem definidas, são conhecidos como promotores de turbulência e têm a função de formar os canais de escoamento e gerar a turbulência necessária para tornar a separação mais eficiente; a função do suporte é criar os canais de escoamento para o permeado. A alimentação ocorre simultaneamente a todas membranas, sendo o concentrado (fração que não permeou através da membrana) retirado por um duto central. Módulos com esta configuração apresentam um elevado custo de fabricação e possuem uma baixa densidade de empacotamento, 400 – 600 m²/m³ (relação entre a área de permeação e o volume do módulo). No entanto, apresentam algumas vantagens tais como, o fato de que as condições de escoamento da alimentação e do permeado podem ser facilmente controladas e, no caso de membranas danificadas durante o processamento, estas podem ser facilmente substituídas.

Os módulos em espiral se constituem de envelopes de membranas intercalados por espaçadores, enrolados em torno de um tubo coletor perfurado, para o qual o permeado esco, sendo todo o conjunto selado externamente. O custo de fabricação do módulo é baixo e este apresenta uma densidade de empacotamento mais elevada que a configuração do módulo placa e quadro, aproximadamente de 800 – 1.000 m²/m³.

Os módulos fibra-oca e capilares são semelhantes aos trocadores de calor casco-tubos; consistem de feixes de fibras ou capilares de membranas acondicionados dentro de um tubo, sendo que a alimentação pode ser feita pelo interior das fibras, com o permeado recolhido no casco, ou vice-versa. A divisão entre módulos fibra-oca e capilares é baseada no diâmetro, ou seja, considera-se fibra-oca quando o diâmetro externo for inferior a 0,5 mm e capilar quando o diâmetro externo se situar na faixa de 0,5 a 3,0 mm. Tipicamente, membranas capilares

possuem relação área/volume entre 800 a 1.200 m²/m³, enquanto que, na fibra-oca, esta relação situa-se em torno de 10.000 m²/m³.

Os módulos fibra-oca e capilares têm recebido grande atenção nos últimos anos devido às inúmeras vantagens que eles apresentam em relação aos demais. Dentre estas vantagens destacam-se: elevada densidade de empacotamento e fibras e capilares são auto-suportados, o que reduz o custo de produção do módulo. No entanto, a possibilidade de entupimento do orifício interno das fibras, nos casos em que a alimentação contém material em suspensão é uma desvantagem apresentada por este tipo de módulo (HABERT *et al.*, 2000).

Por fim, o módulo tubular que, ao contrário dos módulos fibra-oca e capilares, não são autosuportados. O módulo tubular é amplamente utilizado no processamento de sucos de frutas, pois seus canais de diâmetro grande permitem uma filtração, com alto desempenho, mesmo para soluções com elevado teor de sólidos em suspensão. Outras configurações com canais menores também podem ser consideradas para o processamento de sucos, no entanto, pode ser necessária a utilização de uma pré-filtração (RODRIGUES, 2002 apud SANTIN, 2004).

A escolha da configuração do módulo, assim como o arranjo dos módulos em um sistema está baseada em considerações econômicas e parâmetros de engenharia. Alguns aspectos que devem ser considerados na escolha são o tipo de separação, facilidade de limpeza, facilidade de manutenção, facilidade de operação, dimensão do sistema, escala e possibilidade de reposição de membrana, além dos custos de investimento em equipamentos, custos operacionais e de reposição das membranas (MULDER, 1996).

2.2.3 Polarização por concentração e fouling

A independência do fluxo permeado com o tempo é uma clara indicação da estabilidade mecânica da membrana, da pureza do solvente e da sua baixa interação com o material da membrana. No entanto, quando não são observadas uma ou mais destas condições, o fluxo permeado diminui com o tempo, indicando claramente que alguma alteração está ocorrendo com a membrana.

O declínio do fluxo permeado pode ser causado por diversos fatores, destacando-se: deformação mecânica da microestrutura da membrana, fenômeno da polarização de concentração, adsorção de solutos, formação da camada gel e entupimento dos poros. Nos casos em que o único motivo para o decréscimo do fluxo de solvente puro com o tempo é a deformação mecânica da microestrutura, o fenômeno é conhecido como compactação, o qual é função do valor da pressão aplicada e das características estruturais da membrana.

A polarização de concentração consiste em um fenômeno reversível causado pelo aumento da concentração de solutos rejeitados pela membrana que se acumulam em uma fina camada de fronteira (*camada limite*) próximo à superfície da membrana e estabelecem um gradiente de concentração positivo na direção oposta ao fluxo permeado. Após um certo tempo, condições de estado estacionário são estabelecidas e o acúmulo de soluto ou partículas

na superfície da membrana pode afetar o fluxo permeado de formas distintas. O acúmulo de solutos rejeitados na camada limite cria uma resistência ao fluxo permeado, sendo que na micro e na ultrafiltração esta resistência hidráulica da camada limite é considerável e pode até exceder a resistência da própria membrana. As macromoléculas retidas podem atingir a concentração de saturação na superfície da membrana e formar uma camada gel, a qual oferecerá uma resistência adicional.

Particularmente, nos PSM que utilizam membranas porosas, é comum observar uma queda contínua do fluxo permeado com o tempo, indicando a probabilidade de que outros fenômenos, além da polarização de concentração, possam estar presentes durante o processamento. Este fenômeno transiente normalmente é acompanhado por um decréscimo na rejeição do soluto e é denominado de “*fouling*”.

O termo “*fouling*” inclui diferentes processos, tais como adsorção de macromoléculas na superfície da membrana ou dentro dos poros e a formação da camada de torta. A formação da camada de torta é uma importante causa do declínio do fluxo na filtração de suspensões coloidais, como no caso do processamento de sucos. Para limitar a formação da camada de torta, a limpeza da membrana é usualmente aplicada, sendo relativamente efetiva se a camada de torta for reversível (HUISMAN *et al.*, 1998).

Todos estes fatores induzem a resistências adicionais ao transporte através da membrana e são fortemente dependentes do tipo de PSM e da solução de alimentação a ser processada. Os efeitos do *fouling* podem ser reduzidos através de pré-tratamentos da alimentação, os quais são utilizados para remoção de partículas que podem causar obstrução nos poros e/ou nos canais de escoamento ou para prevenir que partículas ou macromoléculas atinjam e se depositem na superfície da membrana. O pré-tratamento pode envolver tanto processos físicos quanto químicos: processos físicos envolvem pré-filtração ou centrifugação para remoção dos sólidos em suspensão que podem obstruir a membrana; processos químicos incluem ajuste de pH da alimentação para que possíveis incrustações permaneçam longe de seus pontos isoeletrônicos reduzindo, desta forma, a tendência para formação da camada gel. Os processos químicos podem também envolver precipitação, coagulação, floculação, entre outros (WAKEMAN & WILLIAMS, 2002).

A escolha da membrana, módulo, configuração do processo, condições de operação e pré-tratamento são parâmetros a serem avaliados para que a eficiência do processo não seja diminuída devido ao *fouling* e à polarização por concentração. Adequada operação nas plantas de PSM requer um cuidadoso gerenciamento destes fenômenos visto que, dificilmente, é possível eliminá-los completamente. Evitando e/ou minimizando o *fouling* e a polarização por concentração, além de incrementar as taxas de filtração, facilita-se a limpeza das membranas, limitando, assim, o uso de regimes mais severos e frequentes de limpezas e, conseqüentemente, prolongando o tempo de vida útil das mesmas (WAKEMAN & WILLIAMS, 2002).

2.2.4 Limpeza das membranas

Por definição, a limpeza consiste na remoção de materiais estranhos da superfície e do interior das membranas, e tem como objetivo restaurar as características de fluxo e seletividade iniciais. A limpeza pode ser realizada através de métodos físicos (mecânicos) ou químicos.

A limpeza e a sanitização das membranas fazem-se necessárias por diversas razões; uma delas é a exigência por leis e regulamentações em certas aplicações, como, por exemplo, em indústrias de biotecnologia e de alimentos, outra é reduzir a contagem de microorganismos para prevenir uma possível contaminação nos produtos. Por fim, a limpeza da membrana visa, também, a melhoria do desempenho do processo, tendo em vista que é melhor utilizar algum tempo para a limpeza da membrana e restauração do fluxo permeado a manter um processo com uma membrana com “*fouling*” e baixo fluxo (CHERYAN, 1998).

Membranas com *fouling* são comumente rejuvenescidas através de limpezas do tipo *clean-in-place* (CIP). A CIP possui um menor tempo de manutenção do que os procedimentos de limpeza convencionais, também chamados de *clean-out-of-place* (COP). Muitos fornecedores costumam recomendar protocolos de CIP para suas membranas. Usualmente, as soluções de limpeza são circuladas com uma pressão menor do que a utilizada durante a filtração para prevenir a possível penetração de agentes causadores de *fouling* na membrana. Não existe uma regra que possa ser aplicada para predizer qual técnica de limpeza é a mais adequada para uma aplicação em particular (WAKEMAN & WILLIAMS, 2002).

Cheryan (1998) acrescenta que a frequência das limpezas é um fator econômico crítico, tendo em vista que causa um profundo efeito no tempo de operação da membrana.

A escolha da solução de limpeza não é determinada somente pelo tipo de agente causador do *fouling*, mas também pela compatibilidade da membrana com a solução na temperatura da limpeza, custo e toxicidade. Muitas soluções de limpeza podem apresentar, com o tempo de uso, um efeito adverso na seletividade da membrana (WAKEMAN & WILLIAMS, 2002).

Conforme Souza & Daniel (2005) o ácido peracético é um sanitizante amplamente utilizado na indústria de alimentos, pois apresenta um largo espectro de atividade antimicrobiana, apresentando propriedades bactericidas, virucidas, fungicidas e esporicidas. Além disto, segundo CHERYAN (1998), o ácido peracético não é corrosivo ao aço inox, não libera resíduos perigosos e age rapidamente em baixas temperaturas, podendo ser utilizado em sistemas com membranas de diversos materiais, tais como acetato de celulose, polissulfona e em membranas inorgânicas. No entanto, não é comumente utilizado em sistemas com membranas de poliamida, a não ser nos casos em que o fabricante da membrana indique e aprove o seu uso (CHERYAN, 1998).

Nas duas últimas décadas, a maior parte da literatura focou o *fouling* em vez da limpeza. Ainda que o problema de queda de fluxo permeado possa parecer relacionado ao *fouling*, pode ser na realidade um problema relacionado à limpeza da membrana. Atualmente,

um considerável progresso foi atingido sobre o entendimento das interações entre os agentes causadores do *fouling*, a membrana e as condições de operação durante a limpeza (CHERYAN, 1998).

2.3 Processos de Separação por Membranas no Processamento de Sucos

O objetivo inicial da utilização de filtração por membranas na indústria de sucos de frutas foi substituir algumas etapas da fabricação dos sucos clarificados. Pesquisas da década de setenta indicam que a microfiltração e a ultrafiltração podem substituir a etapa de clarificação do suco com algumas vantagens (CHERYAN, 1998).

Conforme Ganlmann (1993) apud Vaillant *et al.* (1999), alguns PSM podem ser utilizados para separarem sucos em uma fração concentrada de polpa e outra fração clarificada livre de microorganismos. A fração clarificada, considerada comercialmente estéril, pode sofrer uma concentração sem aquecimento, também por membranas e, eventualmente, pode ser utilizada na reconstituição do suco através da combinação com a fração concentrada de polpa pasteurizada, com o objetivo de obter um produto com melhores propriedades sensoriais.

Como comentam Vladislavljevic *et al.* (2003), a aplicação de ultrafiltração na clarificação de sucos de frutas e vegetais tem sido extensivamente estudada durante os últimos 25 anos. Segundo os mesmos autores, o principal problema para a aplicação prática da ultrafiltração é a redução do fluxo permeado com o tempo, causado pelo acúmulo de componentes da alimentação nos poros (*fouling*) e na superfície da membrana (polarização por concentração e formação de gel). Tendo em vista o controle do *fouling* na membrana durante a clarificação de sucos, vários métodos para o incremento do fluxo têm sido propostos, dentre eles, o pré-tratamento enzimático.

Segundo Vaillant *et al.* (1999), os sucos clarificados podem ser utilizados na produção de refrigerantes, geléias e gelatinas. Recentemente, observam-se novas tendências na utilização destes sucos, que passam do consumo direto, como suco ou refresco, para a elaboração de misturas e *drinks*, passando por toda a gama de bebidas formuladas e enriquecidas, gaseificadas ou não, licores, entre outros.

Visando atender esse mercado, novos processos e/ou combinações de processos têm sido estudados e desenvolvidos. Os PSM, por serem tecnologias que utilizam baixas temperaturas, contribuindo para a manutenção das características originais das frutas, atendem às exigências deste novo mercado. Desta forma, a tecnologia de membranas é uma alternativa aos processos convencionais de clarificação e concentração de sucos.

Na produção de sucos concentrados, a evaporação é o processo mais utilizado até o presente momento; no entanto, uma vez que este processo acarreta alterações de sabor e aroma nos sucos, a tecnologia de osmose inversa tem-se apresentado como uma alternativa promissora para atender os novos hábitos dos consumidores.

Em seu trabalho, Silva *et al.* (1998) concluíram que é possível concentrar o suco de laranja através da combinação de ultrafiltração, como pré-tratamento, seguida de osmose inversa. O suco de acerola também foi concentrado através da combinação de processos de separação por membranas. Matta *et al.* (2004a) utilizaram a microfiltração para a clarificação do suco de acerola, seguida de osmose inversa para a concentração do suco.

A microfiltração e a ultrafiltração, apesar de serem utilizadas como pré-tratamento na concentração por osmose inversa, podem ser empregadas como uma pasteurização a frio, preservando o valor nutricional e sensorial do produto.

2.3.1 Fouling no processamento de sucos por membranas

A maioria dos sistemas que envolvem macromoléculas e sólidos em suspensões estão sujeitos a limitações de transferência de massa e decréscimo nas taxas de permeação. Em função disso, a maior restrição em relação aos PSM em sucos ricos em polpa é a formação de espessas camadas de partículas na superfície da membrana, o que reduz significativamente a performance do processo (JIRARATANANON *et al.*, 1998, VAILLANT *et al.*, 1999).

Na ultrafiltração de suco de kiwi hidrolisado enzimaticamente, Cassano *et al.* (2003) investigaram os efeitos das resistências total, da membrana, a torta e do *fouling*. Segundo os autores, a resistência da membrana representa 68,3% da resistência total enquanto a contribuição das resistências da camada de torta e do *fouling*, combinadas, representam 31,6%. Particularmente, a fração reversível da resistência pelo *fouling* representa 29,4% da resistência total enquanto que a fração irreversível do *fouling* representa 2,75%. Os autores comentam, ainda, que a resistência da camada de torta teve um pequena contribuição na resistência total, representando apenas 2,23%.

Youn *et al.* (2004), concluíram que a razão entre a resistência do *fouling* e a resistência total (R_f/R_t), assim como a razão entre a resistência da torta e a resistência total (R_c/R_t), devem ser realmente consideradas, pois estão muito relacionadas à facilidade de recuperação do fluxo permeado através da limpeza da membrana.

No estudo da clarificação do suco de maçã através de microfiltração, Riedl *et al.* (1998a) mostraram que a estrutura da camada de *fouling* tem um grande efeito sobre o fluxo através da membrana. Em estudo posterior, Riedl *et al.* (1998b) demonstraram que o comportamento do *fouling* para uma membrana em particular é governado pelo modo como as partículas do suco de maçã se agregam próximo à superfície da membrana durante os primeiros instantes da filtração. Segundo os mesmos autores, a morfologia da camada de *fouling* e, conseqüentemente o fluxo através da membrana, podem ser drasticamente alterados através da manipulação das interações entre as pectinas, taninos e proteínas, os quais são componentes da fração coloidal do suco de maçã. Os resultados apresentados por Lenki & Riedl (1999) mostram que estes três componentes influenciam na resistência da camada de *fouling* através de alterações em seu comportamento devido as diferentes associações, modificando, assim, a morfologia final da camada de *fouling* sobre a superfície da membrana.

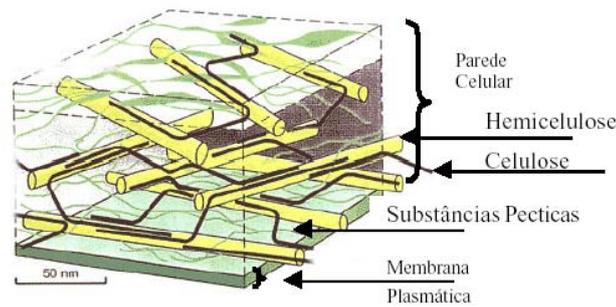
Além da morfologia da camada de *fouling*, conforme afirmam Cassano *et al.* (2003), é importante lembrar que a vazão de alimentação é outro fator preponderante na performance dos processos de UF, assim como a pressão transmembrana aplicada. Os mesmos autores, no estudo de ultrafiltração de suco de cenoura, observaram que o fluxo permeado aumenta com o aumento de pressão até um valor limite, denominado de pressão transmembrana limite (TMP_{lim}), a qual depende das propriedades físicas da suspensão e da taxa do fluxo de alimentação. Acima da TMP_{lim} , qualquer aumento de pressão é fonte de ineficiência, pois a energia despendida no processo aumenta e não se obtém um aumento da taxa de permeado. Além disto, em pressões acima da TMP_{lim} , o *fouling* torna-se significativamente importante e a queda do fluxo permeado é acelerada.

Na ultrafiltração de suco de abacaxi, Barros *et al.* (2003) compararam o desempenho de uma membrana cerâmica tubular (tamanho médio de poro de $0,01 \mu m$) e uma membrana polimérica de fibra oca (massa molar de corte de 100 kDa) e demonstraram que o fluxo permeado obtido com a membrana cerâmica é maior que o obtido com a membrana polimérica. A explicação dos autores para este comportamento é que no interior da membrana cerâmica o regime do escoamento é turbulento, o qual aumenta a taxa de transferência de partículas da superfície da membrana para o escoamento principal, resultando em uma polarização por concentração e formação de camada de torta menos espessas. Para a membrana polimérica em módulo fibra oca o escoamento ocorre em regime laminar e há a formação de uma camada de torta mais espessa. Os autores concluem que, no caso da membrana cerâmica tubular, o mecanismo de *fouling* predominante no processo também é causado pelo bloqueio dos poros e, no caso da membrana de fibra oca de polissulfona, o principal mecanismo de *fouling* foi a formação da camada de torta.

Conforme Todisco *et al.* (1996), durante a microfiltração de suco de laranja com uma membrana de diâmetro de poro médio igual a $0,3 \mu m$, o fluxo permeado decai rapidamente nos primeiros 20-30 minutos, seguido por um declínio gradual até atingir um valor limite de, aproximadamente, $5 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$. Nestas condições de escoamento ($Re = 5000$), a filtração pelo modo tangencial é governada pelo mecanismo combinado de polarização por concentração e de *fouling* baseado na teoria da formação de torta. Isto significa que o fluxo convectivo direto da solução concentrada para a membrana prevalece sobre o fluxo contra-difusivo do material rejeitado, conduzindo à formação de uma camada de torta sobre a superfície da membrana. Além disto, o autor observa que com o aumento do número de Reynolds de 5000 para 7000 o bloqueio dos poros passa a ser o mecanismo de *fouling* predominante durante a filtração.

2.3.2 Pré-tratamento do suco

Para sucos de frutas, o material responsável pelo *fouling* é principalmente composto por polissacarídeos da parede celular tais como pectina, celulose, lignina e hemicelulose, conforme mostra a **Figura 2.3**. Dentre estes, a pectina tem sido considerada como a maior contribuinte na queda do fluxo permeado e nas dificuldades de limpeza das membranas de microfiltração com escoamento tangencial.



Fonte: IPPA, 2006

Figura 2.3: Estrutura da parede celular de plantas

Pectinas são polissacarídeos estruturais presentes na lamela média e na parede celular das células vegetais. Estes polissacarídeos são compostos por ácidos galacturônicos unidos por ligações do tipo α (1-4). Com base nos tipos de modificações da cadeia principal das substâncias pecticas, elas são classificadas em protopectinas, ácidos pecticos, ácidos pectínicos e pectinas. As cadeias laterais da molécula de pectina consistem de açúcares como L-ramanose, arabinose, galactose e xilose. Os grupos carboxílicos dos ácidos galacturônicos são parcialmente esterificados por grupos metilas (KASHYAP *et al.*, 2001).

Tendo em vista o controle do *fouling* na membrana durante a clarificação de sucos, vários métodos para o incremento do fluxo têm sido propostos, dentre eles, o pré-tratamento enzimático, o qual consiste na hidrólise dos polissacarídeos solúveis, os quais são responsáveis pela alta viscosidade dos sucos (VAILLANT *et al.*, 1999; VLADISAVLJEVIC *et al.*, 2003; CARNEIRO *et al.*, 2002; CHO *et al.*, 2003).

Enzimas são proteínas globulares que possuem um sítio ativo com poder catalítico. São sintetizadas pelas células e, em todos os tipos de organismos, estão relacionadas com as reações químicas do metabolismo. Conseqüentemente, as reações enzimáticas ocorrem em diversos tipos de alimentos, podendo melhorar a qualidade ou provocar a deterioração dos mesmos. O processo de amadurecimento de frutas e vegetais está relacionado a estes fenômenos enzimáticos (BELITZ & GROSCH, 1999).

As pectinases são enzimas responsáveis principalmente pela degradação de pectinas. Para a produção industrial destas enzimas, o *Aspergillus niger* é o fungo mais utilizado, sintetizando poligalacturonase (PG), polimetilgalacturonase (PMG), pectina liase (PL) e pectinesterase (PE) (NAIDU & PANDA, 2003).

Ao contrário do que ocorre na maçã, na qual as pectinas apresentam alto grau de metilação, as pectinas da laranja são apenas parcialmente metiladas. Isto ocorre porque o suco de laranja contém naturalmente grandes quantidades de pectinesterase, enzima que retira grupos metilas das moléculas de pectina dando origem a ácidos pecticos e metanol. Na presença de íons de cálcio e ácidos pecticos são formados pectatos de cálcio insolúveis no suco, o que ocasiona uma indesejável precipitação de partículas (KASHYAP *et al.*, 2001).

A massa molar da maioria das pectinesterases encontra-se na faixa de 35-50 kDa e a temperatura ótima de atividade é na faixa de 40-50°C (JAYANI *et al.*, 2005). Esta enzima apresenta sua atividade máxima por volta de pH 7,0 a 7,5 e é motivo de grande atenção no processamento de frutas cítricas, pois acredita-se que esta é uma das principais causas da instabilidade conhecida como perda de turbidez e geleificação no suco não pasteurizado ou em concentrados congelados (TOCCHINI, *et al.*, 1995).

A poligalacturonase (PG) é um membro da família das pectinases, a qual atua nas ligações α (1→4) dos ácidos poligalacturônicos das pectinas. Em grande parte das aplicações industriais, as poligalacturonases obtidas através de fungos são as mais utilizadas devido à sua maior atividade enzimática em uma faixa de pH menor, sendo as mais indicadas nos processos de frutas e vegetais. A temperatura ótima para a atividade da PG é na faixa de 30 – 50°C e, para temperatura acima de 50°C, a inativação da mesma é notável após curto período de aquecimento. No entanto, PG's comerciais são mais tolerantes ao calor do que as PG's purificadas (ORTEGA *et al.* 2004).

Conforme Gummadi & Panda (2003), a estabilidade das pectinases é afetada por parâmetros físicos como temperatura e pH e, também, por agentes químicos como inibidores ou ativadores. O efeito da interação entre pH e temperatura é um aspecto interessante que afeta a estabilidade das pectinases. Observa-se que estas enzimas degradam diversas substâncias pecticas através de diferentes mecanismos e o seu comportamento durante a hidrólise é crucial na avaliação e aplicação das mesmas nos diferentes ramos industriais. Segundo os mesmos autores, o pH ótimo para a estabilidade da poligalacturonase (PG), polimetilgalacturonase (PMG) e pectina liase (PL) é de 4,8, 2,23 e 3,9, respectivamente com temperatura ótima de 28°C, 23°C e 29°C, respectivamente. Desta forma, os autores concluíram que a PL apresenta uma maior estabilidade térmica em relação à PG.

Além disto, os resultados apresentados por Gummadi & Panda (2003), mostraram que as condições de pH e temperatura ótimos para a estabilidade das enzimas não são as mesmas nas quais apresentam sua atividade ótima. Desta forma, fica claro que a performance catalítica e a estabilidade das pectinases são aspectos ligeiramente diferentes.

Diversas outras enzimas de degradação da parede celular são utilizadas industrialmente para aumentar a qualidade de produtos e melhorar a eficiência da clarificação de vinho e sucos de frutas, assim como a extração de óleos. Dentre elas estão, além das pectinases, as celulasas e as hemicelulasas, as quais são comumente utilizadas nos preparados enzimáticos comerciais (ORTEGA *et al.* 2004).

No estudo da clarificação do suco de maçã reconstituído utilizando filtração por membranas, Youn *et al.* (2004) avaliaram diferentes tipos de pré-tratamentos com pré-filtros (poli vinil poli pirrolidone - PVPP, carvão ativado e bentonite) e com enzimas (mistura de pectinase e amilase), antes da microfiltração e da ultrafiltração. Os autores comentam que o pré-tratamento melhorara o fluxo permeado em comparação ao suco sem pré-tratamento. Segundo eles, este comportamento é comum em casos de pré-tratamento com filtração, no qual os componentes responsáveis pela turbidez são removidos por adsorção. Entre os filtros

avaliados, o *bentonite* foi o que apresentou o melhor resultado tanto para a microfiltração quanto para a ultrafiltração.

Conforme Vaillant *et al.* (1999), os sucos de frutas são, usualmente, pré-tratados com compostos enzimáticos para hidrolisar, principalmente, os polissacarídeos responsáveis pela alta viscosidade. Este tratamento é mais efetivo em sucos com conteúdo relativamente baixo de polpa. Aparentemente, uma degradação enzimática mais agressiva é necessária não somente para reduzir a viscosidade do suco, mas também para liquefazer os polissacarídeos insolúveis presentes na parede celular, os quais são retidos pela membrana.

Segundo Szaniawski & Spencer (1997), pré-tratamentos com enzimas que hidrolisam as pectinas estão sendo amplamente investigados nos processos de microfiltração, ultrafiltração e osmose inversa de sucos de frutas e demais líquidos alimentícios que contenham pectinas.

Vaillant *et al.* (1999) estudaram a microfiltração de suco de maracujá previamente hidrolisado. Com o objetivo de verificar a influência de diferentes atividades enzimáticas sobre a performance geral da filtração, foram utilizadas quatro enzimas comerciais com diferentes atividades. Em todos os casos em que o suco foi tratado enzimaticamente, os autores observaram um forte e positivo efeito sobre o fluxo permeado; no entanto, a magnitude deste efeito foi dependente da composição da enzima comercial utilizada. As enzimas que possuíam somente um tipo de atividade (pectinolítica ou celulolítica) apresentaram um menor efeito em relação às enzimas que possuíam ambas as atividades.

Barros (2002) apud Balischi *et al.* (2002) determinou a redução percentual da viscosidade do suco de acerola com 2% de polpa, tratado com a enzima Citrozym Ultra L, nas seguintes condições: temperatura de 30°C, tempo de tratamento de 60 minutos e concentrações de 10, 20 e 30 ppm. A redução média da viscosidade foi de 27%.

Balischi *et al.* (2002), por sua vez, determinaram a redução percentual da viscosidade em amostras de suco de acerola com 30% de polpa, tratadas com a enzima Citrozym Ultra L, a 35°C, tempo de tratamento de 60 minutos e concentração de 50 ppm, encontrando um valor médio de 29% para a redução da viscosidade. Também observaram que, com um aumento da temperatura de hidrólise de 30 para 35°C e da concentração de 30 para 50 ppm, ocorre uma maior redução percentual da viscosidade, mesmo com um teor de polpa muito mais elevado. Os autores observaram que o tratamento enzimático realizado com duas enzimas comerciais (Citrozym Ultra L e Pectinex Ultra SP-L) no suco integral de acerola aumentou o tamanho das partículas insolúveis devido à redução da repulsão eletrostática entre as partículas, fazendo com que elas se agrupassem. Foi observado também que as características microscópicas da polpa sofreram alterações com o tratamento enzimático, sendo evidente uma tendência a aumentar o tamanho do diâmetro médio das partículas.

Balischi *et al.* (2002) concluíram que o tratamento enzimático reduziu o teor de polpa, a viscosidade e a turbidez, melhorando as características do suco de acerola e facilitando a clarificação por processo de filtração com membranas.

Em adição, Matta *et al.* (1999) apud Balischi *et al.* (2002) mediram a redução de viscosidade para o suco integral de acerola com, aproximadamente, 34% de polpa, após tratamento enzimático com as enzimas Pectinex Ultra SP-L (0,01% e 0,02% (v/v)) e Citrozym LS (0,01% e 0,02% (v/v)), na temperatura de 35°C. Os autores observaram que a viscosidade diminuiu com o tempo de tratamento, assim como com a concentração das enzimas. Utilizando uma concentração de 0,01% (v/v) da enzima Pectinex Ultra SP-L e tempo de tratamento de 60 minutos, a redução encontrada foi de 80%. No entanto, nas mesmas condições, Balischi *et al.* (2002), encontraram valores de redução da viscosidade em torno de 53%.

Em estudo posterior, Matta *et al.* (2004a) concluíram que o principal efeito do tratamento enzimático foi a redução da viscosidade e do conteúdo de polpa do suco de acerola; os resultados encontrados mostraram que a hidrólise foi eficiente na quebra de moléculas de pectina e outras substâncias como amido, celulose e hemicelulose, as quais provocam os fenômenos de polarização por concentração, formação da camada gel e *fouling* durante a filtração.

É importante salientar que os resultados obtidos pelos autores que trabalharam com suco de acerola não podem ser linearmente comparados, pois a composição do suco pode variar, não apenas em relação à quantidade de polpa, mas em relação a outros constituintes e, conseqüentemente acarretar diferentes interações; o mesmo deve ser considerado em relação à enzima comercial, a qual pode apresentar diferentes graus de pureza e, como mencionado por Vaillant *et al.* (1999) e ORTEGA *et al.* 2004, apresentar diferentes desempenhos em relação à redução da viscosidade dos sucos.

No caso do suco de abacaxi hidrolisado com duas diferentes enzimas, Pectinex Ultra SP-L e Celuclast 1,5L, em uma concentração de 0,03% (v/v) a 30°C durante 60 minutos, Carneiro *et al.* (2002), encontraram uma redução média de 29,6% na viscosidade e 22,0% no conteúdo de polpa.

Youn *et al.* (2004) comentam que as enzimas testadas em seu trabalho apresentaram performances diferentes em cada processo (MF e UF), sendo seu melhor resultado observado na microfiltração. Esta variação pode ser explicada pelo fato de que as enzimas fracionam polímeros em partículas de menor tamanho, as quais podem penetrar e permear facilmente através dos poros de membranas de microfiltração, mas não são pequenas o suficiente para permear através de membranas de ultrafiltração.

Segundo Lenki & Reidel (1999), a adição de enzimas não necessariamente melhora o fluxo através da membrana; para o caso de suco de maçã, observaram que apenas o aquecimento do suco, sem tratamento enzimático, já conduz à criação de flocos densos e uma camada de *fouling* com pouca resistência.

2.3.3 Microbiologia do suco de laranja

O alto conteúdo de ácido dos sucos cítricos evita o crescimento de microorganismos patogênicos, mas também permite o desenvolvimento de bactérias lácticas dos gêneros

Lactobacillus e *Leuconostoc*, leveduras e fungos resistentes ao meio ácido, cujos metabolismos produzem substâncias que conferem sabor e odor indesejáveis (KIMBALL, 1991 & APHA, 1992 apud SHIGEOKA, 1999).

As bactérias do gênero *Lactobacillus* apresentam diversos metabólitos: lactato, diacetil, acetato, formato, succinato, dióxido de carbono, etanol e outros ácidos de um ou dois carbonos, sendo o lactato o principal metabólito. O diacetil produzido por esta bactéria confere um sabor amanteigado e odor indesejável aos sucos cítricos, sendo uma das grandes causas de sua rejeição. A temperatura ótima de crescimento dos *Lactobacillus* varia de 30° a 40°C e o pH ótimo entre 5,5 e 5,8; suas colônias são circulares, do tamanho da cabeça de um alfinete. A maioria de suas colônias é de coloração branca, sendo que algumas podem ser pigmentadas, variando de alaranjadas a avermelhadas (KIMBALL, 1991 & APHA, 1992 apud SHIGEOKA, 1999).

As bactérias do gênero *Leuconostoc* também produzem metabólitos, dentre eles estão o ácido láctico, o etanol, o dióxido de carbono e o diacetil. A temperatura ótima de crescimento varia de 20° a 30°C e a maioria das espécies cresce em pH 5,5 a 6,5; são também aeróbias facultativas, ou seja, crescem na presença ou ausência de oxigênio. As bactérias do gênero *Leuconostoc* formam grandes colônias circulares abobadadas, aparecendo somente na superfície do meio de cultura, com uma cor translúcida e textura suave. No entanto, algumas espécies podem apresentar-se no fundo do meio de cultura, sob condições anaeróbias (KIMBALL, 1991 apud SHIGEOKA, 1999).

As colônias de leveduras são maiores e crescem mais lentamente do que as das bactérias, com temperatura ótima de crescimento na faixa de 20° a 30°C. Geralmente, as leveduras são mais resistentes a altas temperaturas (65 a 70°C) do que as bactérias e os fungos. Estudos indicam que a levedura mais proeminente em sucos cítricos pasteurizados é a *Saccharomyces cerevisiae*, seguida da espécie *Rhodoturula* (conhecida como levedura rosa) e da *Zygosaccharomyces*. Tipicamente, as leveduras apresentam-se sob a forma de células pequenas e ovais. (STAINER *et al.*, 1969 & KIMBALL, 1991 apud SHIGEOKA, 1999).

Os fungos, por sua vez, desenvolvem-se em ambientes úmidos e com disponibilidade de ar. O limite superior de temperatura para seu crescimento é em torno de 60°C, com tolerância de pHs muito baixos. Os fungos presentes nos frutos cítricos não são considerados patogênicos. As espécies de fungos encontrados no suco de laranja pasteurizado são: *Aureobasidium pullulans*, *Penicilium*, e *Cladosporium*. As colônias dos fungos estão sempre na superfície e consistem de um material muito fibroso, que lembra a textura de um algodão (KIMBALL, 1991 apud SHIGEOKA, 1999).

Contagens elevadas de leveduras e bactérias ácido produtoras podem indicar a fermentação do produto. Dessa forma, é necessário estabelecer limites de tolerância destes microorganismos no suco para que a sua qualidade possa ser garantida.

O nível máximo de microorganismos aceito industrialmente varia de 5×10^2 a 1×10^5 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de suco (UFC).mL⁻¹ de suco). Existem

especificações comerciais que permitem somente 1×10^3 a 5×10^3 bactérias e menos de 10 fungos e leveduras por 1 mL de suco, o que pode ser apropriado para sucos pasteurizados (KIMBALL, 1991 apud SHIGEOKA, 1999).

A legislação brasileira vigente para sucos de frutas, néctares e similares, RDC n°12 de 02 de janeiro de 2001, somente estabelece limites para coliformes, o qual deve ser de ausência em 25 mL de suco. Na Portaria n.º 451, de 19 de setembro de 1997, a qual vigorou antes, o limite estabelecido para fungos e leveduras em sucos era de 10^2 UFC.mL⁻¹ de suco, sendo o limite para coliformes o mesmo que o estabelecido atualmente. O limite anterior à Portaria n.º 451, de 19 de setembro de 1997, era estabelecido pela portaria n° 01/87 do Ministério da Saúde, a qual estabelecia o limite aceitável de microorganismos em sucos e refrescos “*in natura*” como sendo de, no máximo, 10^4 UFC.mL⁻¹ de produto na contagem em placas de fungos e leveduras.

As análises microbiológicas de Matta *et al.* (2004a) mostraram que o produto obtido pela microfiltração de suco de acerola foi um suco clarificado e adequado para o consumo, pois está de acordo com os requerimentos da legislação brasileira.

Da mesma forma, Carneiro *et al.* (2002) afirmam que as características do suco permeado mostram que a microfiltração foi efetiva para pasteurização do suco de abacaxi. O suco microfiltrado também apresentou características microbiológicas dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira. Acrescentam, ainda, que estes parâmetros foram mantidos ao longo do período de armazenamento (no caso, 28 dias), concluindo, desta forma, que a microfiltração pode ser utilizada como um processo alternativo na conservação de sucos de frutas em substituição à pasteurização convencional.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

Neste capítulo serão apresentados a matéria-prima, os reagentes químicos e os equipamentos utilizados nos experimentos bem como a metodologia experimental empregada.

3.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada neste estudo foi suco de laranja fresco fornecido por uma empresa da região. As amostras foram coletadas diretamente do processo de fabricação do suco, após a passagem pelo turbo filtro - conhecido também como *finisher* - que é uma centrífuga que retira o excesso de polpa do suco. Esta etapa ocorre antes da pasteurização. Uma vez que o suco utilizado não foi pasteurizado ele será denominado, neste trabalho, de suco *cru*.

A composição do suco varia fortemente com a estação do ano, acarretando alterações na acidez e no teor de sólidos solúveis de cada amostra. Na empresa, com o intuito de amenizar estas alterações, o suco é colocado em um tanque de equalização antes do processo de pasteurização. No entanto, por questões operacionais, a amostra utilizada neste estudo foi coletada antes deste tanque e, desta forma, verificaram-se variações de acidez e °Brix nas amostras de suco cru. A **Tabela 3.1**, a qual apresenta valores de viscosidade, acidez, °Brix, *ratio* e pH do suco cru em diferentes épocas, ilustra estas variações de composição.

Tabela 3.1: Valores de viscosidade, acidez, °Brix, *ratio* e pH do suco cru em diferentes dias

Datas	Viscosidade (mPa.s)	Desvio Padrão	Acidez*	Desvio Padrão	°Brix	Ratio	pH
11/08/05	2,43	± 0,0062	0,82	± 0,01	13,0	15,79	3,71
15/03/06	1,80	± 0,0074	1,01	± 0,01	9,0	8,92	3,38
18/04/06	2,08	± 0,0051	1,00	± 0,02	11,0	10,99	3,59

*(g de ác. cítrico anidro/ 100 g de suco)

3.2 Reagentes e soluções

A seguir serão apresentados, separadamente, os compostos, soluções e meios de cultura utilizados no pré-tratamento do suco, na limpeza do sistema de membranas e para a realização de análises microbiológicas.

Pré-tratamento do suco de laranja: composto enzimático Pectinex Ultra SP, Novozymes e composto enzimático Citrozym Cloudy 100L, Novozymes.

Limpeza das membranas: solução de ácido peracético a 0,5% (Kalyclean S 380); solução de detergente alcalino a 2% (Remofoam).

Análises físico-químicas: solução de hidróxido de sódio 0,1N (marca DINÂMICA); fenolftaleína alcoólica a 1%.

Análises microbiológicas: meio de cultura Orange Serum Agar, marca OXOID, e meio de cultura Agar Batata, marca ACUMEDIA.

3.3 Membrana

Foi utilizada uma membrana polimérica comercial com massa molar de corte entre 40 – 50 kDa fabricada pela OSMONICS, atual General Electric Company. A membrana vem em formato retangular e, para ser utilizada, deve ser cortada no tamanho do módulo usado nos experimentos. O fabricante não forneceu informações a respeito da composição química da membrana, apenas algumas de suas características. A membrana é hidrofílica, possui uma pressão de operação recomendada de 170 bar e uma pressão de operação máxima de 890 bar e tem como recomendada uma temperatura máxima de 60°C.

3.3.1 Análise da Membrana através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com o objetivo de caracterizar a estrutura da membrana utilizou-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura.

O preparo da membrana para a MEV consistiu na quebra e metalização da mesma. A membrana foi imersa em nitrogênio líquido sendo, em seguida, quebrada com auxílio de duas pinças. As amostras foram dispostas em suportes metálicos e enviadas para a metalização.

Os materiais não condutores de corrente elétrica, para serem analisados no MEV, devem ser previamente metalizados. A metalização consiste na precipitação a vácuo de uma película micrométrica de material condutor (ouro ou carbono) sobre a superfície do material, possibilitando a condução da corrente elétrica. As membranas analisadas foram metalizadas com ouro no dia anterior à análise e previamente secas e armazenadas num dessecador.

As imagens eletrônicas de varredura foram obtidas com o equipamento *Jeol-JSM 5800 Scanning Microscope*, no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As seguintes condições analíticas foram utilizadas para as análises: feixe de elétrons com resolução nominal de 0,0035 μm , regulável para tensões de 0,3 a 30 kV; vácuo da análise de 10^{-4} Pa e vácuo da metalização de 10^{-5} bar.

3.4 Equipamentos de Ultrafiltração e Pasteurização

Os experimentos foram realizados em uma unidade de bancada, cuja representação esquemática está mostrada na **Figura 3.1**. O sistema é composto pelos elementos descritos a seguir, os quais estão identificados na **Figura 3.1** pelas letras entre parênteses:

- banho termostático (A) que mantém a água que circula na camisa do tanque de alimentação aquecida ou resfriada;
- tanque de alimentação (B) encamisado de vidro com capacidade de 2 L;
- bomba peristáltica (C) para circulação do fluido;
- manômetros (D) para medidas de pressão e válvula de contra-pressão (E);
- módulo para membrana plana (F) com área de filtração de 51,75 cm^2 e escoamento tangencial;
- sistema de pasteurização composto por uma serpentina (G) (~ 9 m) para o aquecimento, uma serpentina isolada termicamente (H) para o tempo de retenção (~3,70 m) e outra serpentina (I) para o resfriamento (~6 m) imersa em um banho refrigerado de gelo com cloreto de cálcio (~ -10°C);
- termopar (J) do tipo J (T1) que envia um sinal para um indicador de temperatura modelo N480-1 da NOVUS, com graduação decimal em graus Celsius. A leitura foi corrigida por uma curva de calibração feita com um termômetro aferido (equipamento utilizado no primeiro experimento de pasteurização).

- Registrador eletrônico de dados (K) LOGBOX da Novus modelo STANDART (equipamento utilizado no segundo experimento de pasteurização).

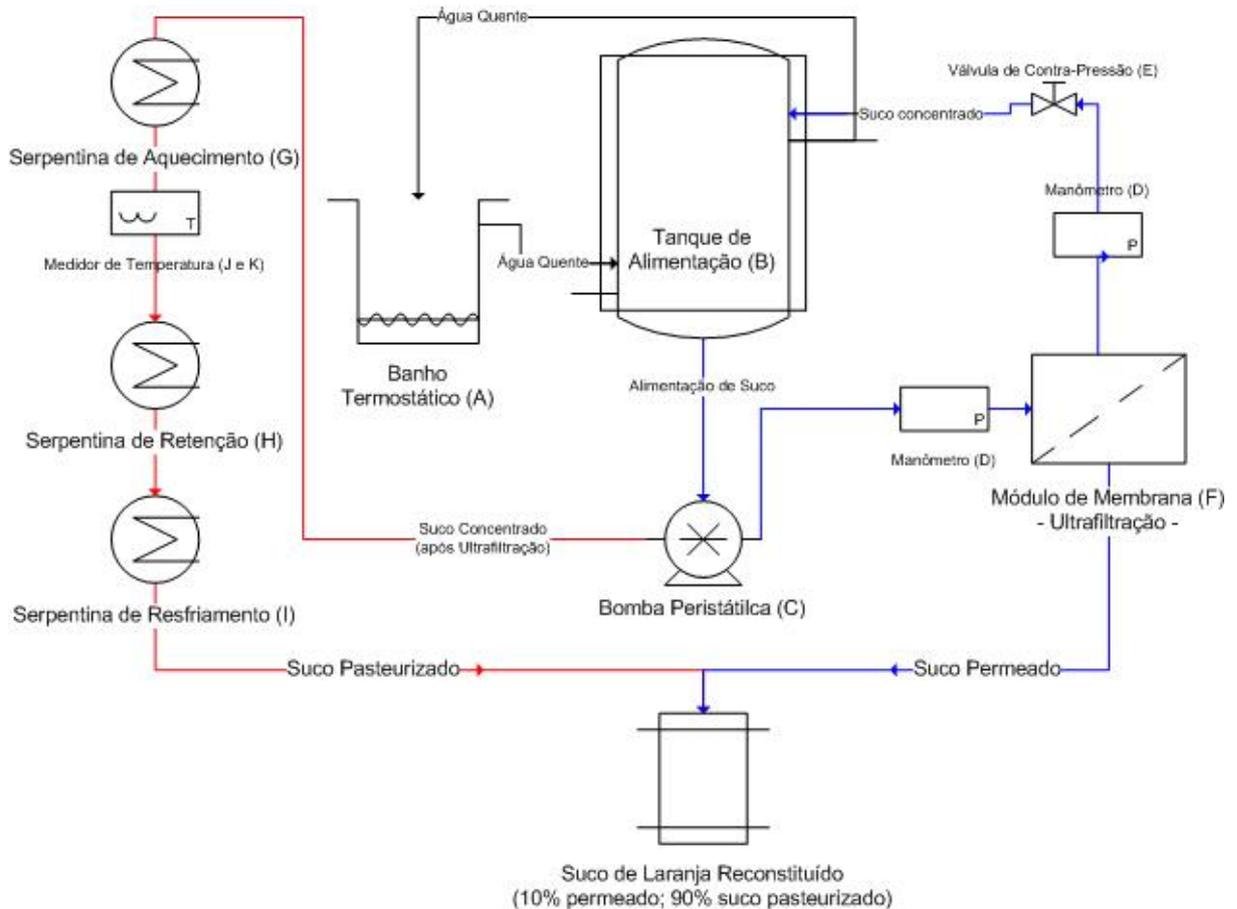


Figura 3.1: Fluxograma da bancada experimental, incluindo os sistemas de ultrafiltração e pasteurização.

As linhas representadas em azul são referentes ao processo de ultrafiltração do suco e as linhas em vermelho representam o processo de pasteurização do suco concentrado resultante do processo de ultrafiltração. Ao final da pasteurização, o suco é reconstituído com 10% de suco permeado e 90% de suco concentrado e pasteurizado através do método convencional (aquecimento por um determinado tempo seguido de resfriamento).

Conforme mostra a **Tabela 3.2**, foram realizados dois experimentos compostos pelo processos de ultrafiltração seguido do processo pasteurização (denominados Experimentos 1 e 2) e dois experimentos compostos apenas pelo processo de ultrafiltração (denominados Experimentos 3 e 4).

Tabela 3.2: Processos realizados em cada um dos experimentos (1, 2, 3 e 4)

Processos realizados	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Experimento 4
Ultrafiltração	X	X	X	X
Pasteurização	X	X		

3.4 Análises físico-químicas

A seguir serão apresentadas as análises físico-químicas realizadas para a caracterização do suco nas diferentes etapas dos processos de ultrafiltração e pasteurização.

3.4.1 Determinação da viscosidade

A viscosidade foi determinada em um viscosímetro capilar da marca SCHOTT, modelo AVS 350 e banho termostático modelo CT 52. O método consiste na medida do tempo requerido por uma certa quantidade de amostra líquida para escoar através de um tubo capilar com comprimento e espessura definidos. A viscosidade cinemática é obtida através da seguinte equação:

$$v = k.t \quad (3.1)$$

onde k é a constante do capilar ($0,01471\text{mm}^2/\text{s}^2$) e t é o tempo medido para o escoamento do fluido dentro do capilar. A viscosidade dinâmica (μ) do suco foi obtida multiplicando a viscosidade cinemática pela massa específica do suco (considerada igual a $1,0423\text{kg/L}$ – valor obtido da pesagem de um determinado volume de suco).

Uma vez que a viscosidade dinâmica será a única viscosidade utilizada neste trabalho, por simplificação, ela será doravante denominada apenas de viscosidade.

A viscosidade do suco cru depende do teor de sólidos solúveis e varia a cada experimento. Assim sendo, considerou-se a viscosidade inicial do suco como aquela obtida no início do processo de hidrólise. Desta forma, o parâmetro avaliado foi a redução de viscosidade em relação à viscosidade do suco cru e não os valores absolutos de viscosidade obtidos.

3.4.2 Determinação do pH

As análises de pH foram realizadas através do pHmetro DIGIMED modelo DM20. O eletrodo utilizado é do tipo DME CV4 com ponte eletrolítica de KCl e possui um termo

compensador DMF-NI. A precisão da medida apresenta incerteza de 0,1 e confiança de 95%. O equipamento foi regularmente calibrado com soluções padrão de pH 4,00 e 6,86.

3.4.3 Determinação do °Brix

O °Brix é o índice de sólidos solúveis em frutas e seus derivados. Sua medida baseia-se no princípio de que o índice de refração de uma solução varia regularmente com a concentração do soluto. Foi medido em refratômetro portátil PASSED modelo SZJ-A, conforme metodologia descrita em Instituto Adolfo Lutz (1976).

3.4.4 Determinação de acidez titulável

A acidez titulável, expressa em g de ácido cítrico anidro/100g de suco, foi determinada com solução de hidróxido de sódio 0,1N conforme metodologia descrita em Instituto Adolfo Lutz (1976).

3.4.5 Determinação do ratio

O *ratio* é um parâmetro que fornece o grau de maturação da fruta e, sendo de fácil obtenção, é amplamente utilizado na indústria como parâmetro de qualidade do suco.

O *ratio* foi obtido através da razão °Brix/acidez titulável, determinados conforme descrito anteriormente.

3.4.6 Determinação qualitativa de atividade da pectinesterase

O método para a determinação da atividade da pectinesterase baseia-se na medida da taxa pela qual os grupos metílicos esterificados da pectina são hidrolisados. Esta análise foi realizada nas amostras de permeado pelo laboratório da empresa parceira deste trabalho.

3.5 Análises microbiológicas

A seguir serão descritos os procedimentos utilizados na preparação e realização das análises microbiológicas.

3.5.1 Limpeza e esterilização do material

Todos os frascos utilizados para o armazenamento das amostras ao longo do período de análises, assim como as ponteiras de pipeta utilizadas para transferir alíquotas de amostras, foram previamente limpos e esterilizados em autoclave (121°C) durante 30 minutos. Foram utilizadas placas de *Petri* descartáveis previamente esterilizadas.

3.5.2 Preparo dos meios de cultura

Orange Serum Agar

Para a preparação do meio de cultura *Orange Serum Agar*, pesou-se 37 g do meio de cultura desidratado e suspendeu-se em 1 L de água destilada. O meio é levado à ebulição até dissolução completa do ágar. Para cada análise realizada neste trabalho foram preparadas quantidades exatas de meio de cultura conforme o número de placas a serem semeadas (10 mL de meio/placa). O frasco com o meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos. A composição final média do meio de cultura *Orange Serum Agar* preparado está demonstrada no Apêndice B.

Potato Dextrose Agar

Para a preparação do meio de cultura *Potato Dextrose Agar* pesou-se 39 g do meio de cultura desidratado e suspendeu-se em 1 L de água destilada. O meio é levado à ebulição até dissolução completa do ágar. Semelhantemente ao que foi feito para o meio de cultura anterior, para cada análise realizada foram preparadas quantidades exatas de meio de cultura conforme o número de placas a serem semeadas (10 mL de meio/placa). O frasco com o meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C durante 15 minutos. A composição final média do meio de cultura *Orange Serum Agar* preparado está demonstrada no Apêndice B.

3.5.3 Preparo das diluições

Foi transferido, assepticamente, 1 mL da amostra a ser analisada para um tubo com 9 mL de água destilada previamente esterilizado em autoclave (121°C; 15 minutos). Após a agitação do tubo, obteve-se a diluição 1×10^{-1} . Para a amostra de suco cru, a partir desta primeira diluição, foram realizadas mais três diluições de 1×10^{-4} ; para as amostras de permeado, pasteurizado e suco reconstituído foram feitas apenas uma diluição (10^{-1}).

3.5.4 Método de semeadura total de bactérias mesófilas

A semeadura foi realizada através do método de plaqueamento em profundidade. Alíquotas de 1 mL das amostras e suas diluições foram assepticamente depositadas no fundo das placas de *Petri* devidamente identificadas. A seguir, o meio *Orange Serum Agar*, preparado conforme descrito anteriormente, foi vertido cuidadosamente nas placas contendo as amostras. As placas foram rotacionadas em movimentos na forma de “8” até completa homogeneização. Cada amostra foi semeado em triplicata. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37°C durante 2 dias.

3.5.5 Método de semeadura total de fungos e leveduras

Para este método a preparação das amostras foi idêntica ao método de contagem total de bactérias mesófilas, apenas o tempo de incubação foi modificado de 2 para 5 dias e a temperatura de 37°C para 30°C.

3.5.6 Método de análise do ambiente

A análise do ar do ambiente foi realizada no local de realização dos experimentos. As placas com os meios de cultura foram expostas (abertas) ao ambiente por dez minutos e depois foram incubadas.

3.6 Metodologia experimental

A metodologia experimental utilizada neste trabalho será apresentada a seguir, separada em itens: pré-tratamento, ultrafiltração, pasteurização, higienização do sistema e amostragem.

3.6.7 Pré-tratamento do suco através de hidrólise enzimática

Foram testados dois compostos enzimáticos comerciais para realizar a hidrólise enzimática com o objetivo de reduzir a viscosidade do suco de laranja:

- Pectinex Ultra SP-L: composto basicamente de poligalacturonase, expressa pelo *Aspergillus aculeatus*;
- Citrozym Cloudy 100L: composto por pectina liase, poligalacturonase, pectinesterase de baixa atividade, celulase e hemicelulase, expressa pelo *Aspergillus niger*.

Ambos os compostos são comercializados pela Novozymes. Por conveniência, será utilizada a nomenclatura de *enzimas* em referência aos *compostos enzimáticos*.

Os tratamentos enzimáticos foram realizados em diferentes temperaturas e tempos de hidrólise. As temperaturas utilizadas foram de 30° e 40°C para a Pectinex Ultra SP e de 35° e 45°C para a Citrozym Cloudy 100 L em tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos para ambas. Estas diferenças de temperatura são necessárias devido as diferentes faixas de maior atividade enzimática de cada composto.

Foram adicionados 300 ppm de enzima em 1 L de suco cru. Este volume foi fracionado entre 4 Erlenmeyers de 250 mL cada e levados a um banho-maria tipo Dubnoff (TE-053) com agitação constante. A cada 15 minutos, um Erlenmeyer foi retirado do banho de água e colocado em um recipiente com água e gelo para cessar a reação de hidrólise, sendo, a seguir, medida a viscosidade de cada solução. Cada experimento de hidrólise foi realizado em triplicata para cada uma das enzimas.

3.6.8 Ultrafiltração

Para cada experimento de ultrafiltração foi utilizado um novo pedaço da membrana e, desta forma, antes de cada filtração de suco realizou-se a compactação da membrana com o objetivo de adaptar sua estrutura à pressão de operação do sistema. Esta etapa é necessária pois membranas de ultrafiltração sofrem um adensamento em sua microestrutura quando

submetidas à pressão, resultando na redução do fluxo permeado. Uma vez que a pressão de compactação necessita ser maior do que a pressão em que o sistema será operado, a compactação foi realizada com água destilada a 25°C e pressão transmembrana de 200 kPa. A membrana foi considerada compactada quando três medidas de fluxo permeado de água foram iguais, em intervalos de 10 minutos entre uma medida e outra.

A filtração foi realizada em bateladas de 2 L, com pressão de operação de 150 kPa, vazão de alimentação de $7,8 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e temperatura de 25°C.

O modo de operação utilizado foi o de concentração em batelada, no qual o permeado é coletado separadamente e o retido é recirculado para o tanque de alimentação. O tempo de filtração foi, em média, de duas horas por experimento.

O fluxo permeado foi medido pelo método direto através de medidas de volume por tempo num intervalo de 10 minutos entre uma medida e outra.

Foram realizadas três filtrações com o suco hidrolisado e com o suco cru. Na filtração do suco hidrolisado não foi adotado o procedimento de inativação da enzima.

Antes e após cada experimento com o suco, foi medido o fluxo permeado de água destilada a 25°C em diferentes pressões de operação (50, 100, 150 e 200 kPa) com o objetivo de verificar a tendência de *fouling* do suco.

3.6.9 Pasteurização

A pasteurização do suco concentrado foi realizada em três etapas: aquecimento, tempo de retenção e resfriamento. A pasteurização do concentrado foi realizada somente em dois experimentos de filtração. Para a pasteurização do suco não foi possível utilizar um pasteurizador piloto devido ao baixo volume a ser processado, aproximadamente 1,5 L.

Na etapa de aquecimento utilizou-se uma serpentina de 9 m de comprimento aquecida por um banho com água fervente. Para a etapa de retenção do suco aquecido, utilizou-se uma serpentina de 3,9 m de comprimento isolada com lã de rocha. O tempo de retenção foi estipulado em 1 minuto a uma temperatura estimada de 87°C; este tempo foi definido com base em estudos anteriores (SHIGEOKA, 1999; BADOLATO, 2000 e TRIBESS, 2003), nos quais foram estudadas diversas combinações de tempos e temperaturas para a pasteurização do suco de laranja.

Na etapa de resfriamento utilizou-se uma serpentina de 6 m de comprimento em um banho de refrigeração composto de gelo e cloreto de cálcio na proporção 3:1.

3.6.10 Higienização do sistema

A higienização do sistema foi realizada por CIP (*clean in place*) com pressão transmembrana desprezível. Primeiramente, realizou-se o enxágüe do sistema com água

destilada a temperatura de ~ 25°C durante 15 minutos e, após, mediu-se o fluxo permeado de água destilada. A limpeza da unidade foi realizada com uma solução de detergente alcalino a base de NaOH com uma concentração de 2% (pH ~ 12,8) durante 10 minutos a uma temperatura de ~ 45°C. Após a etapa da limpeza, realizou-se outro enxágüe com água destilada durante 15 minutos a uma temperatura de ~ 45°C. A sanitização do sistema foi realizada a uma temperatura de ~ 25°C com uma solução de ácido peracético a 0,5% (pH ~ 2,9). Após concluída a higienização, o fluxo permeado de água destilada foi medido novamente.

3.6.11 Amostragem

Em cada experimento de ultrafiltração com suco hidrolisado foram recolhidas sete amostras de permeado e uma amostra de concentrado pasteurizado. Estas amostras geraram a amostra de suco reconstituído.

Com o intuito de minimizar possíveis contaminações pelo manuseio e contato com a atmosfera do laboratório, as amostras de permeado foram coletadas a cada 10 minutos e, em cada coleta, utilizou-se um novo frasco esterilizado. Além disto, as amostras foram coletadas dentro de um caixa de metal com apenas uma abertura na parte frontal e, próximo ao frasco de coleta, havia uma chama de fogo acesa para evitar contaminações. Foram coletados sete frascos de permeado de cada experimento.

A amostra do pasteurizado foi coletada na saída da serpentina de resfriamento, sendo descartada a primeira fração de suco, na qual podia haver resíduos de desinfetante, pois a higienização da serpentina foi realizada no dia anterior e não se realizou o enxágüe do sistema para evitar contaminação do mesmo. Esta amostra foi coletada em um único frasco, sendo, posteriormente, fracionada em seis frascos.

A amostra de suco reconstituído é composta por 90% de pasteurizado e 10% de permeado. Todos os fracionamentos foram realizados no laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Neste capítulo estão apresentados e discutidos os resultados das duas fases deste trabalho. A primeira fase consistiu na escolha da enzima a ser utilizada no pré-tratamento. Na segunda fase foi investigada a utilização da ultrafiltração associada à pasteurização convencional e como este procedimento influencia a vida de prateleira do suco de laranja. Realizou-se, também, uma comparação entre o comportamento do fluxo permeado obtido para o suco de laranja com e sem pré-tratamento enzimático.

4.1 Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática foi empregada com o objetivo de reduzir a viscosidade do suco de laranja cru. Neste trabalho, foram testadas duas diferentes enzimas comerciais, a Pectinex Ultra SP-L e a Citrozym Cloudy 100-L, ambas fabricadas pela Novozymes A/S, conforme descrito no Capítulo 3.

A Citrozym Cloudy 100-L é uma enzima que apresenta atividades pectinolítica, hemicelulolítica e celulolítica, as quais são responsáveis pela quebra de pectinas, hemiceluloses e celulose, respectivamente. A Pectinex Ultra SP-L, por sua vez, é uma enzima que possui apenas atividades pectinolítica e hemicelulolítica.

A **Tabela 4.1** mostra os resultados obtidos de redução da viscosidade do suco hidrolisado quando utilizada a enzima Pectinex Ultra SP-L. A comparação de médias pelo teste de Tukey HSD, foi feita para as colunas da tabela, ou seja, a comparação foi realizada para uma mesma temperatura em diferentes tempos de hidrólise.

Nos experimentos com esta enzima, a viscosidade média inicial do suco bruto foi de 2,43 mPa.s. Com base na comparação entre as médias pelo teste de Tukey HSD, ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), pode-se verificar que houve diferença significativa entre a viscosidade do suco bruto e a do suco hidrolisado. Analisando a viscosidade resultante dos diferentes tempos (para uma mesma temperatura) e temperaturas (30°C e 40°C) de hidrólise

verifica-se que não houve diferença significativa ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$) entre eles.

Tabela 4.1: Valores da viscosidade do suco de laranja não pasteurizado hidrolisado com a enzima Pectinex Ultra SP

Tempo de hidrólise (minutos)	Viscosidade absoluta média Após a hidrólise a 30°C (mPa.s)	Viscosidade absoluta média após a hidrólise a 40°C (mPa.s)
0	2,43 ^a	2,43 ^a
15	2,05 ^b	2,06 ^b
30	2,05 ^b	2,04 ^b
45	2,04 ^b	2,02 ^b
60	2,03 ^b	2,01 ^b

*Letras sobrescritas iguais indicam que os valores de viscosidade não diferem significativamente entre si.

Nos testes realizados com a Citrozym Cloudy 100L, cujos resultados estão apresentados na **Tabela 4.2**, a viscosidade média do suco bruto foi de 2,31 mPa.s. A comparação das médias pelo teste de Tukey HSD, ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), mostra que para diferentes tempos e temperaturas de hidrólise não houve diferença significativa entre as viscosidades medidas. Novamente, letras sobrescritas iguais indicam que os valores não diferem significativamente entre si.

Tabela 4.2: Valores da viscosidade do suco de laranja não pasteurizado hidrolisado com a enzima Citrozym Cloudy 100L

Tempo de hidrólise (minutos)	Viscosidade absoluta média Após a hidrólise a 35°C (mPa.s)	Viscosidade absoluta média após a hidrólise a 45°C (mPa.s)
0	2,31 ^a	2,31 ^a
15	2,02 ^a	1,97 ^a
30	1,99 ^a	1,97 ^a
45	1,98 ^a	1,95 ^a
60	1,97 ^a	1,94 ^a

*Letras sobrescritas iguais indicam que os valores de viscosidade não diferem significativamente entre si.

No presente trabalho, a redução percentual média da viscosidade do suco de laranja variou entre 12 e 18 % dependendo da enzima e do tempo de hidrólise. A **Tabela 4.3** mostra a redução da viscosidade do suco de laranja, em percentual, para cada uma das enzimas e suas respectivas temperaturas de hidrólise.

Tabela 4.3: Percentual de redução da viscosidade do suco de laranja hidrolisado com Pectinex Ultra SP-L (30°C e 40°C) e Citrozym Cloudy 100-L (35°C e 45°C).

Tempo de hidrólise (minutos)	Pectinex Ultra SP-L 30°C (%)	Pectinex Ultra SP-L 40°C (%)	Citrozym Cloudy 100L 35°C (%)	Citrozym Cloudy 100L 45°C (%)
15	15,6	15,2	12,6	14,7
30	15,6	16,0	13,9	14,7
45	16,0	16,9	14,3	15,6
60	16,4	17,3	14,7	16,0

Este resultado é um pouco inferior aos obtidos por outros autores para outros tipos de suco e compostos enzimáticos. Conforme Balischi *et al.* (2002), a redução percentual média da viscosidade de amostras com 30% de polpa de acerola foi de 29%. Carneiro *et al.* (2002) encontraram uma redução percentual média da viscosidade do suco de abacaxi de 29,2%.

Estas diferenças no percentual de redução da viscosidade do suco de laranja em relação a outros sucos podem ser explicadas pelos seguintes fatores:

- 1) o suco de laranja utilizado passou pelo processo de turbo filtração para a remoção de grande parte da polpa resultando em um suco menos polposo que os sucos dos trabalhos citados;
- 2) diferenças nas reações bioquímicas decorrentes das variações na composição e concentração das enzimas utilizadas em cada trabalho;
- 3) diferenças na composição química de cada suco (ressalta-se que a viscosidade inicial para cada lote de suco é diferente).

Os valores da viscosidade em função do tempo de hidrólise obtidos no presente trabalho podem ser observados na Figura 4.1. Observa-se que, nos primeiros 15 minutos, a viscosidade do suco sofre uma diminuição de 2,43 mPa.s para 2,05 mPa e, a seguir, a viscosidade passa a ser levemente sensível ao tempo da reação de hidrólise.

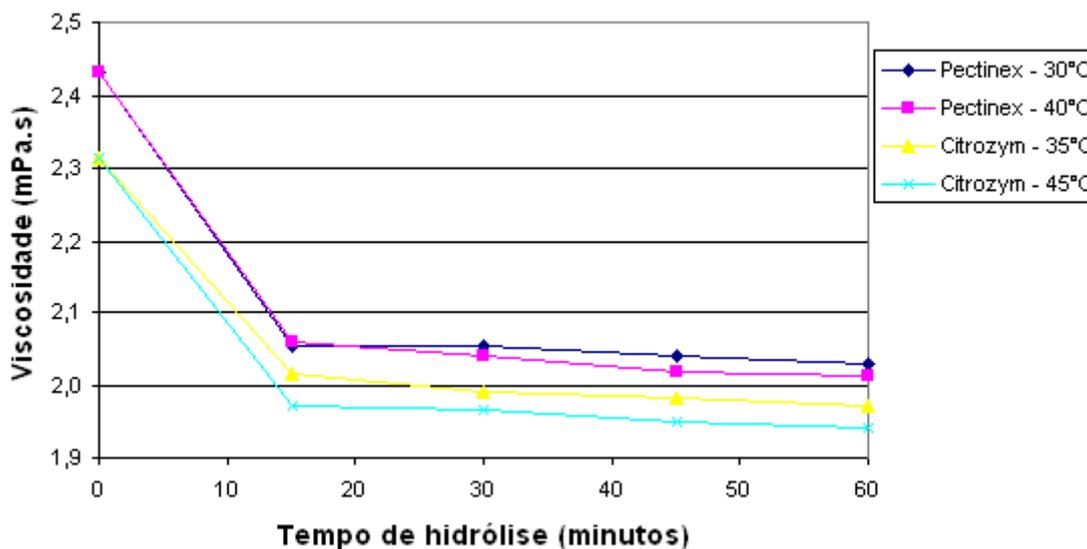


Figura 4.1: Viscosidade do suco de laranja tratado com as enzimas Pectinex e Citrozym ao longo do tempo de hidrólise

Conforme descrito no Capítulo 3, em cada experimento de hidrólise foram realizadas análises de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH. As Tabelas 4.4, 4.5, 4.6 e 4.7 mostram os valores obtidos para estes parâmetros, em diferentes tempos de hidrólise com Pectinex Ultra SP-L a 30°C e 40°C e Citrozym Cloudy 100-L a 35°C e 45°C, respectivamente. São apresentados os resultados da triplicata para cada experimento de hidrólise.

Nas Tabelas 4.4 e 4.5 pode-se observar que estes parâmetros pouco se alteram durante a hidrólise. A cada experimento (1, 2 e 3) era utilizado um lote diferente de suco e, desta forma, para cada experimento, tanto a acidez quanto os demais parâmetros, no tempo zero, eram os mesmos para as duas temperaturas de hidrólise testadas com a enzima (30 e 40°C). A acidez do experimento 1, no tempo zero, em ambas as tabelas, apresentou um valor inferior (0,48 g de ác. cítrico anidro/100g de suco) ao encontrado para o suco hidrolisado em qualquer tempo. No entanto, este fato não se repetiu para os experimentos seguintes (2 e 3), nos quais os valores de acidez variaram levemente conforme o tempo de hidrólise. Conclui-se, desta forma, que o valor de acidez encontrado para o tempo zero, no experimento 1, pode ter apresentado erro experimental.

Tabela 4.4: Valores de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Pectinex Ultra SP-L a 30°C.

Pectinex Ultra SP-L a 30°C	Acidez*			°Brix			Ratio			pH		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Experimentos Tempo												
0 min	0,48	0,65	0,82	11,0	11,3	13,0	22,9	17,4	15,9	4,09	3,80	3,71
15 min	0,63	0,68	0,84	11,2	11,2	13,2	17,8	16,5	15,7	3,93	3,82	3,70
30 min	0,64	0,68	0,86	11,0	11,1	13,0	17,2	16,3	15,1	3,88	3,83	3,62
45 min	0,64	0,66	0,86	11,2	11,1	13,2	17,5	16,8	15,3	3,88	3,83	3,63
60 min	0,64	0,67	0,84	11,0	11,1	13,2	17,2	16,6	15,7	3,90	3,82	3,68

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Tabela 4.5: Valores de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Pectinex Ultra SP-L a 40°C.

Pectinex Ultra SP-L a 40°C	Acidez*			°Brix			Ratio			pH		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Experimentos Tempo												
0 min	0,48	0,65	0,82	11,0	11,3	13,0	22,9	17,4	15,9	4,09	3,80	3,71
15 min	0,64	0,65	0,83	11,2	11,5	13,2	17,5	17,7	15,9	3,46	3,78	3,64
30 min	0,51	0,66	0,93	11,0	11,2	13,1	31,6	17,0	14,1	3,87	3,78	3,63
45 min	0,65	0,64	0,85	11,2	11,0	13,1	17,2	17,2	15,4	3,86	3,79	3,63
60 min	0,50	0,64	0,84	11,0	11,0	13,0	22,0	17,2	15,5	3,86	3,77	3,63

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Novamente, nas Tabelas 4.6 e 4.7, quando observa-se o experimento 2, onde a enzima Citrozym foi utilizada, pode-se constatar que a acidez inicial foi um pouco menor do que a acidez para o suco hidrolizado em qualquer tempo e em ambas as temperaturas, sugerindo, assim, um erro experimental na determinação da acidez.

Tabela 4.6: Valores de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Citrozym Cloudy 100-L a 35°C.

Citrozym Cloudy 100-L a 35°C	Acidez*			°Brix			Ratio			pH		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Experimentos Tempo												
0 min	0,91	0,89	0,86	11,5	12,5	13,2	12,6	14,0	15,3	3,82	3,61	3,60
15 min	0,91	1,02	0,86	11,5	12,3	13,0	12,6	12,1	15,1	3,54	3,63	3,56
30 min	0,89	1,01	0,9	11,2	12,3	13,1	12,6	12,2	14,6	3,66	3,66	3,53
45 min	0,90	1,01	0,84	11,5	12,5	13,2	12,8	12,4	15,7	3,72	3,64	3,65
60 min	0,93	1,00	0,86	11,0	12,1	13,2	11,8	12,1	15,3	3,74	3,65	3,59

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Tabela 4.7: Valores de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH, em diferentes tempos, para cada experimento de hidrólise com a enzima Citrozym Cloudy 100-L a 45°C.

Citrozym Cloudy 100-L a 45°C	Acidez*			°Brix			Ratio			pH		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Experimentos												
Tempo												
0 min	0,91	0,89	0,86	11,5	12,5	13,2	12,6	14,0	15,3	3,82	3,61	3,60
15 min	0,92	1,01	0,87	11,3	12,3	13,5	12,3	12,2	15,5	3,81	3,59	3,59
30 min	0,93	1,02	0,86	11,2	12,5	13,2	12,0	12,3	15,3	3,83	3,65	3,59
45 min	0,91	1,02	0,86	11,5	12,5	13,0	12,6	12,3	15,1	3,84	3,64	3,62
60 min	0,90	1,01	0,87	11,5	12,3	13,2	12,8	12,2	15,2	3,83	3,64	3,56

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Carneiro *et al.* (2002) mostram que a acidez, pH e conteúdo de sólidos solúveis (°Brix) do suco de abacaxi não foram alterados após o tratamento enzimático. Da mesma forma, estes parâmetros também não sofreram alterações significativas após os experimentos de hidrólise realizados.

Os resultados encontrados no presente trabalho indicam que, nas condições testadas, a enzima mais adequada ao pré-tratamento do suco é a Pectinex Ultra SP-L. Os aumentos do tempo e da temperatura de hidrólise não interferiram na redução da viscosidade.

4.2 Ultrafiltração

A seguir serão apresentados os resultados obtidos nos experimentos de ultrafiltração do suco de laranja hidrolisado e do suco de laranja não hidrolisado. Além disto, serão apresentados os resultados referentes às etapas de compactação e limpeza da membrana, assim como as medidas de permeabilidade antes e após o uso da membrana.

4.2.1 Compactação da membrana

A queda do fluxo permeado com o tempo para água destilada a 25°C, no processo de ultrafiltração, com pressão de 200 kPa, foi acompanhado antes de cada experimento. Esta queda do fluxo permeado é referente à compactação que a membrana sofre devido à pressão utilizada no processo.

A **Figura 4.2** mostra os resultados das compactações realizadas antes de cada filtração. Uma vez que cada experimento foi realizado com um novo pedaço de membrana, os fluxos permeado iniciais e finais diferiram para cada experimento.

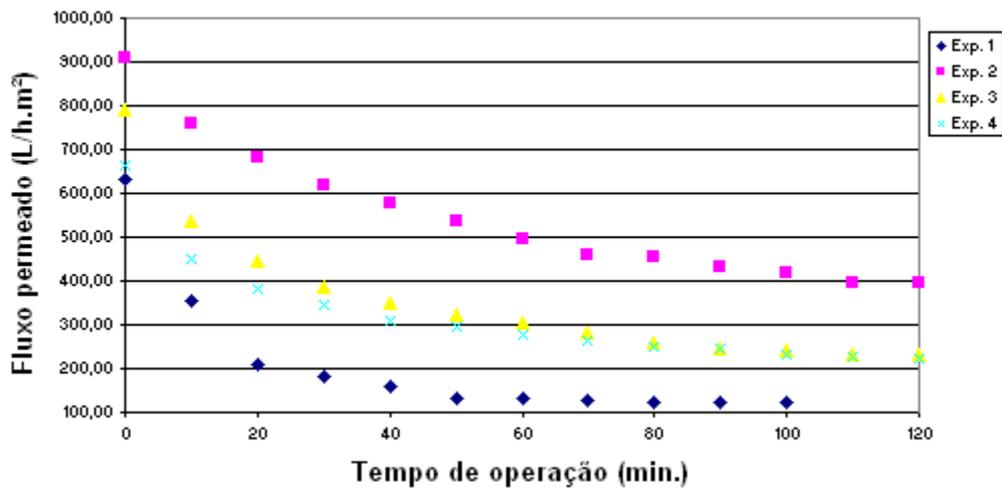


Figura 4.2: Compactação da membrana para cada experimento (água destilada a 25°C e pressão transmembrana de 200 kPa).

A **Figura 4.3** apresenta o valor do fluxo permeado médio para os quatro experimentos de compactação. A análise desta figura mostra que a membrana apresentou uma compactação média significativa, pois seu fluxo médio inicial foi de $749 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ e diminuiu para $254 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, representando, desta forma, uma diminuição de 66% do fluxo permeado para esta membrana.

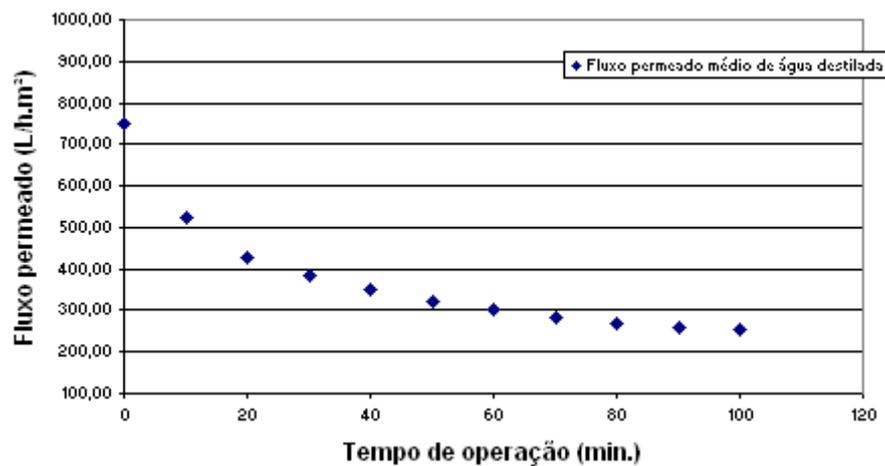


Figura 4.3: Compactação média da membrana de ultrafiltração (água destilada a 25°C e pressão transmembrana de 200 kPa).

Os resultados de compactação indicam que esta membrana possui uma estrutura microporosa bastante compactável, pois o tempo necessário para que o fluxo permeado atingisse valores praticamente constantes foi de cerca de duas horas, além de apresentar uma alta redução de fluxo permeado.

4.2.2 Permeabilidade hidráulica

Assim como a compactação foi realizada e acompanhada para cada novo pedaço de membrana, a medida da permeabilidade hidráulica, antes do uso, também foi realizada para cada experimento. A **Figura 4.4** mostra os valores do fluxo permeado de água destilada para diferentes pressões de operação para a membrana utilizada em cada experimento. Para cada pressão foram realizadas três medidas de fluxo permeado em um intervalo de 10 minutos cada e realizada a média. Assim, o intervalo de medida de fluxo entre uma pressão e outra foi entre 35 - 45 minutos.

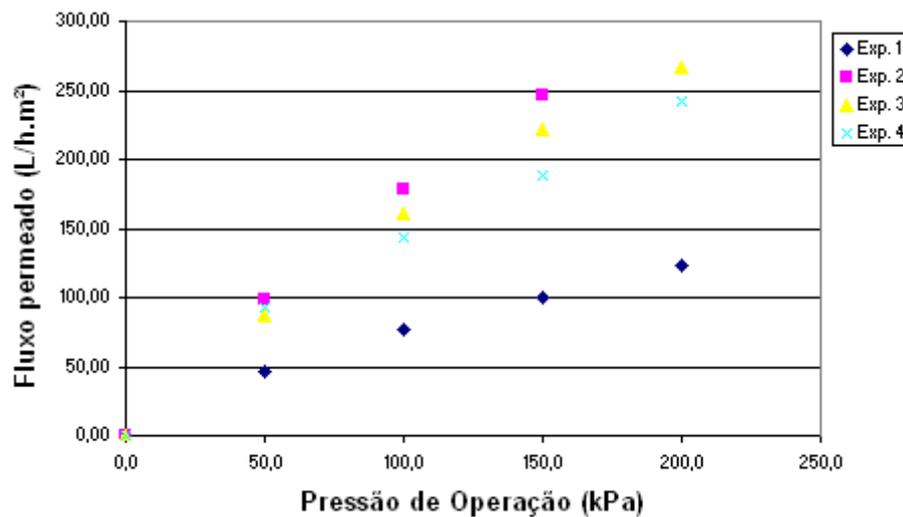


Figura 4.4: Permeabilidade da membrana antes do uso para cada experimento.

A permeabilidade hidráulica também apresentou diferentes valores para cada novo pedaço de membrana. Este resultado já era esperado, uma vez que a membrana apresenta uma distribuição de poros de forma irregular. Isto pode ser claramente percebido quando a membrana é dividida em pedaços menores.

A

Tabela 4.8 apresenta os valores de permeabilidade hidráulica medidos para cada experimento, os quais foram realizados com pedaços novos de membrana. Observa-se uma variação entre os valores de permeabilidade hidráulica encontrados em cada pedaço. Para o experimento 1 a permeabilidade hidráulica apresentada foi distinta das demais, indicando assim que a membrana não é homogênea em sua estrutura; este resultado pode ser visto também pela análise da **Figura 4.4** onde tem-se valores de fluxo de permeado para o experimento 1 bastante inferiores aos demais.

Tabela 4.8: Permeabilidade hidráulica para os pedaços de membrana utilizados em cada experimento.

Experimento	Permeabilidade hidráulica (L.m ⁻² .h ⁻¹ .atm ⁻¹)
1	75,17
2	176,44
3	156,46
4	145,61

Habert *et al.* (2000) comenta que as membranas de ultrafiltração apresentam permeabilidade hidráulica na faixa de 50 a 500 L.m².h⁻¹.atm⁻¹ conforme sua massa molar de corte. Os valores encontrados para a membrana utilizada neste trabalho estão dentro desta faixa.

4.2.3 Fluxo permeado do suco de laranja

Os experimentos foram realizados nas seguintes condições de operação: pressão transmembrana de 150 kPa, velocidade de escoamento de 7,47 m.s⁻¹ e temperatura do suco de alimentação de 25°C.

A variação do fluxo permeado em função do tempo, para os experimentos realizados com o suco de laranja hidrolisado pode ser observada na **Figura 4.5**.

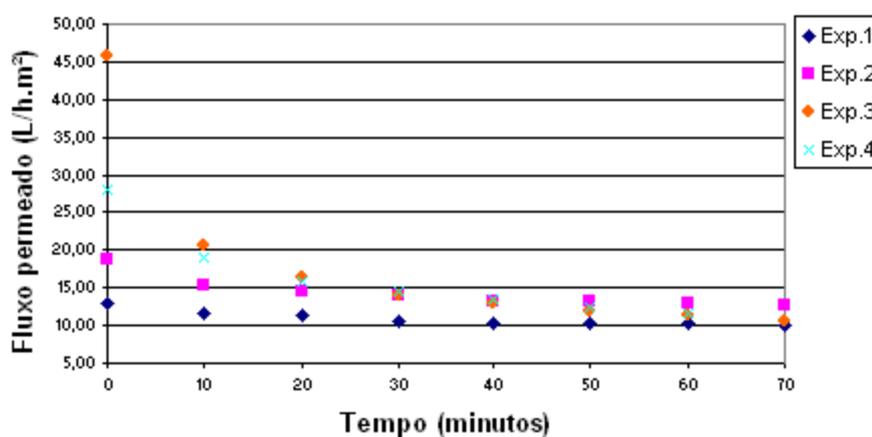


Figura 4.5: Fluxo permeado do suco hidrolisado.

O valor inicial do fluxo para o experimento 3 ficou bastante acima dos demais, provavelmente resultado de uma compactação incompleta e/ou uma descompactação muito rápida. Este ponto, para fins de comparação, foi excluído nas próximas análises.

Pela análise desta figura observa-se que o fluxo permeado apresentou uma queda bastante acentuada nos primeiros minutos de operação, sendo que, após este período, permaneceu praticamente constante até o final de cada experimento. Os resultados de Youn *et al.* (2004), para o suco de maçã, mostram esta mesma tendência do fluxo permeado em diminuir drasticamente no início da filtração e mais gradualmente ao longo do restante do processo.

Na microfiltração de suco de abacaxi, Carneiro *et al.* (2002) mostram que o processo de filtração pode ser dividido em duas etapas, sendo a primeira caracterizada por uma queda abrupta do fluxo permeado nos primeiros minutos do processo, seguida de um período no qual o fluxo permeado decai de forma menos pronunciada, tendendo a uma estabilização. De acordo com os autores, este comportamento é típico de processos de microfiltração e ultrafiltração, e pode ser atribuído à formação da camada polarizada de concentração, ao *fouling* e ao aumento da concentração de sólidos com o tempo de filtração.

A título de comparação fez-se uma normalização dos dados de fluxo permeado. Esta normalização consistiu em dividir os fluxos permeado medidos para o suco pelo fluxo permeado medido para a água destilada antes de iniciar a ultrafiltração. As medidas consideradas foram realizadas na mesma pressão e temperatura de operação.

Na **Figura 4.6** pode-se observar que o fluxo permeado de suco hidrolisado apresenta uma pequena variação entre os experimentos nos primeiros minutos de filtração. Esta variação entre os experimentos tende a não haver mais ao longo do tempo, com exceção do experimento 1.

Observou-se, tanto na filtração do suco hidrolisado quanto na do suco sem hidrólise, uma variação do fluxo permeado entre os experimentos (**Figura 4.7**); no entanto, o comportamento em função do tempo de operação foi similar para todos os experimentos. Esta diferença entre o fluxo permeado de cada experimento pode ser explicada devido à variação de viscosidade dos sucos a serem filtrados. A variação da percentagem dos sólidos solúveis de suco afeta a viscosidade do mesmo e, conseqüentemente, o fluxo permeado de cada experimento. Adicionalmente nos experimentos de compactação foi observada uma diminuição do fluxo permeado ao longo do tempo, indicando, desta forma, que a membrana é altamente compactável. Esta característica da membrana também pode ter influenciado o comportamento do fluxo permeado ao longo do tempo nos experimentos de ultrafiltração do suco de laranja.

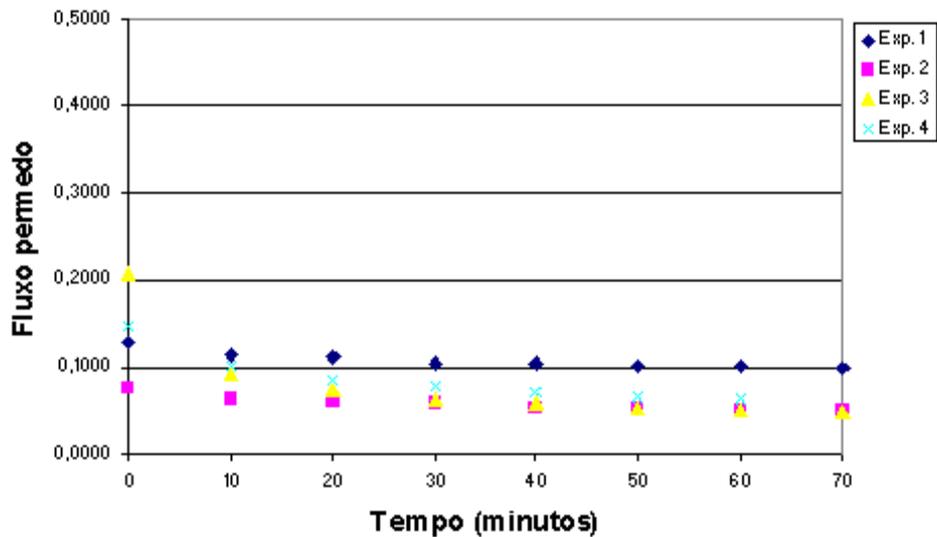


Figura 4.6: Fluxo permeado do suco hidrolisado normalizado em relação à permeabilidade inicial da membrana.

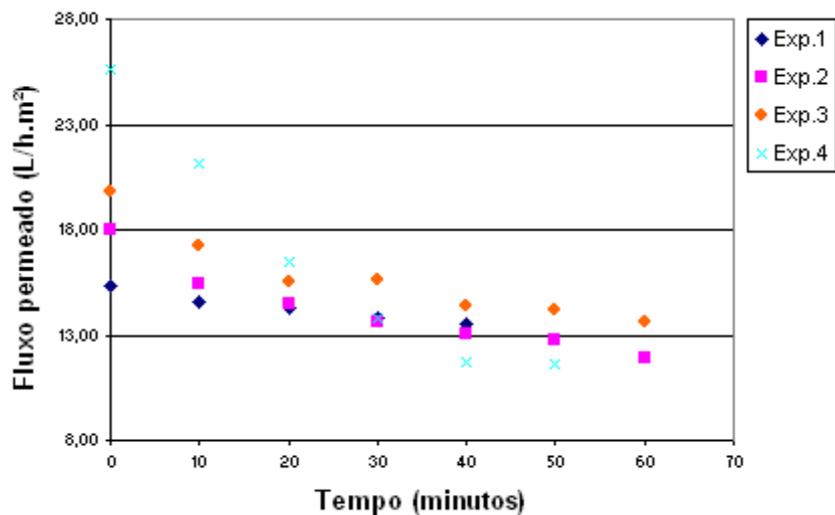


Figura 4.7: Fluxo permeado do suco sem hidrólise.

Na ultrafiltração de suco de kiwi hidrolisado enzimaticamente, Cassano *et al.* (2006) indicam que pequenas partículas permaneceram no suco após a hidrólise, as quais foram responsáveis pelo *fouling* irreversível durante a ultrafiltração.

Youn *et al.* (2004) comentam que os pré-tratamentos utilizados, tanto na microfiltração como na ultrafiltração de suco de maçã, não apresentaram nenhum efeito

significativo na redução dos valores das razões entre as resistências conforme citado no Capítulo 2.

A **Figura 4.8** mostra, para efeito de comparação, os valores médios dos fluxos permeado para o suco hidrolisado e para o suco não hidrolisado. Observa-se que o fluxo inicia em $26 \text{ L.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ e decai rapidamente nos primeiros 10 minutos e, após, mais suavemente tendendo para um valor constante entre 12 e $13 \text{ L.m}^{-2}\text{h}^{-1}$. Apesar da viscosidade ter sofrido alteração com o tratamento enzimático, conforme observado por outros autores, neste trabalho não foi observada uma melhora no fluxo permeado do suco hidrolisado em relação ao fluxo permeado do suco sem hidrólise, exceção feita ao valor inicial.

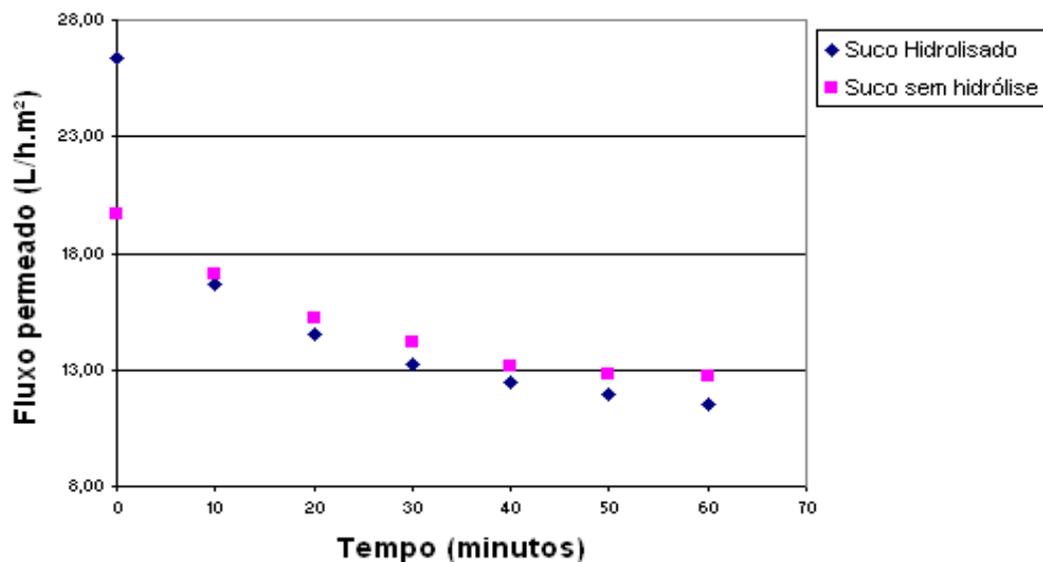


Figura 4.8: Fluxo permeado médio do suco

Uma possível explicação para este comportamento pode ser que: após o tratamento enzimático as macromoléculas foram hidrolizadas em moléculas menores cujo tamanho pode estar próximo ao tamanho dos poros da membrana, causando o bloqueio dos mesmos. Outra possibilidade é que substâncias geradas pela hidrólise podem apresentar uma maior afinidade com a membrana.

No trabalho de Cassano *et al.* (2003), na UF de suco de laranja com uma membrana de massa molar de corte de 15 kDa, temperatura de 21°C , velocidade de escoamento de $0,14\text{m/s}$ e pressão transmembrana de 85 kPa, o fluxo permeado inicial foi de $20 \text{ L.m}^{-2}\text{.h}^{-1}$.

Neste trabalho, operando o sistema com pressão transmembrana de 250 kPa e temperatura de alimentação de 25°C , o fluxo permeado inicial médio encontrado para os quatro experimentos, foi de $26,3 \text{ L.h}^{-1}\text{.m}^{-2}$ para o suco hidrolisado e de $19,7 \text{ L.h}^{-1}\text{.m}^{-2}$ para o suco não hidrolisado.

Conforme Todisco *et al.* (1996), durante a microfiltração do suco de laranja com uma membrana de diâmetro de poro médio igual a $0,3\mu\text{m}$, o fluxo permeado decai rapidamente nos primeiros 20-30 minutos de operação, seguido por um declínio gradual até atingir um valor limite de, aproximadamente, $5 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$.

Este comportamento de queda do fluxo permeado nos primeiros 20-30 minutos de operação também foi observado nos experimentos realizados neste trabalho, no entanto, atingiu-se um valor de, aproximadamente, $11 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ao final de duas horas de experimento.

Cassano *et al.* (2006) observaram que a permeabilidade da membrana decaiu cerca de 30% após a UF de suco de kiwi hidrolisado. Nos experimentos realizados neste trabalho, observou-se que a permeabilidade da membrana decaiu cerca de 40% após a ultrafiltração do suco de laranja.

4.3 Higienização da membrana

O fluxo permeado de água destilada através da membrana foi medido, para cada experimento, antes e após a filtração do suco, assim como após a higienização da membrana.

Como citado no capítulo anterior, a higienização foi realizada pelo sistema de CIP (*clean in place*), e consiste de quatro etapas:

- enxágüe com água destilada;
- limpeza com uma solução de detergente alcalino a 2%;
- enxágüe com água destilada;
- sanitização com solução de ácido peracético a 0,5%.

É possível observar-se um grande decréscimo do fluxo permeado da membrana após a filtração do suco hidrolisado e antes da limpeza e higienização (**Figura 4.9**), resultado esperado devido ao *fouling* inerente ao processo. O fluxo permeado médio decaiu cerca de 60% após a filtração do suco de laranja hidrolisado, sendo recuperado após a limpeza da mesma.

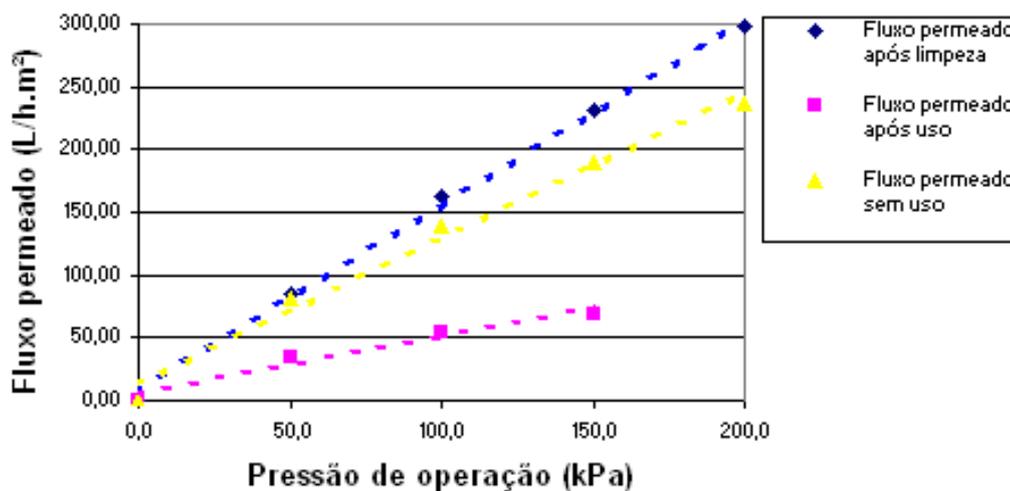


Figura 4.9: Fluxo permeado médio de água através da membrana antes e após o uso e após limpeza e higienização.

Rodrigues *et al.* (2003) realizaram a limpeza do sistema de microfiltração de suco de banana através da recirculação de uma solução cloro-alkalina composto por solução aquosa de NaOH (pH 10) e 0,8% de NaClO durante 2 horas. Segundo os autores, o emprego desta etapa permitiu a recuperação do fluxo permeado inicial, no entanto, não citaram a percentagem desta recuperação.

Cassano *et al.* (2006) observaram que, após a limpeza utilizando detergentes alcalinos e ácidos, a permeabilidade da membrana apresentou uma boa restauração, 96% da permeabilidade inicial.

4.4 Pasteurização

As temperaturas de entrada e saída de cada etapa não foram controladas e, desta forma, obteve-se valores aproximados. Na etapa de aquecimento a temperatura de entrada foi de ~ 25°C e de saída ~ 87°C. Teoricamente, a temperatura deveria se manter constante ao longo da serpentina de retenção, mas isso, na prática, não ocorreu. Observou-se que houve uma perda de calor e a temperatura de saída da etapa de retenção foi de ~ 82°C. No fim da etapa de resfriamento, a temperatura aproximada do suco foi de 10°C.

4.5 Análise da Membrana através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise da membrana através de Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada conforme descrito no Capítulo 3. Na fotomicrografia da seção transversal da membrana de ultrafiltração utilizada neste trabalho, antes de seu uso, observa-se que a membrana apresenta uma estrutura esponjosa ao longo de toda a sua espessura, sendo que, próximo à camada

seletiva, sua estrutura é mais compactada, diminuindo sua densidade com o afastamento da mesma (**Figura 4.10**).

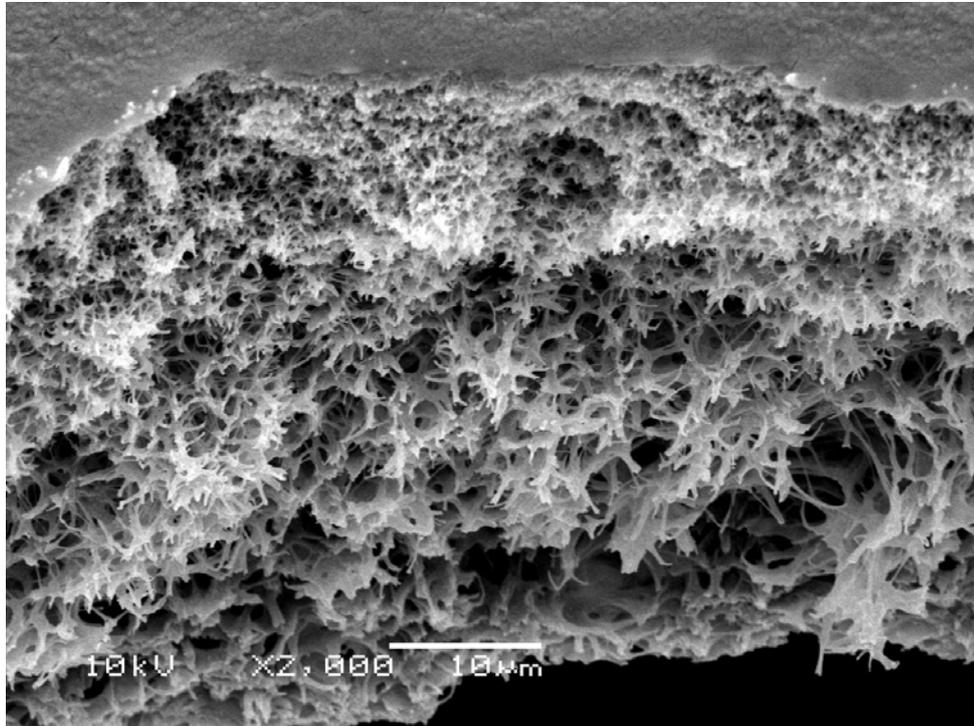


Figura 4.10: Fotomicrografia da seção transversal da membrana utilizada nos experimentos de ultrafiltração.

A **Figura 4.11** apresenta a fotomicrografia do topo da camada seletiva, a qual mostra os poros da membrana vistos de cima. Com esta imagem, pode-se constatar que os poros da membrana são irregulares.

Com estas imagens fica claro que esta membrana apresenta uma estrutura assimétrica, pois sua parte superior apresenta poros menores que vão aumentando ao longo de sua espessura, o que, em parte, pode explicar os resultados de compactação e as diferenças na permeabilidade hidráulica, ainda que a compactação seja mais fortemente influenciada pela natureza do polímero.

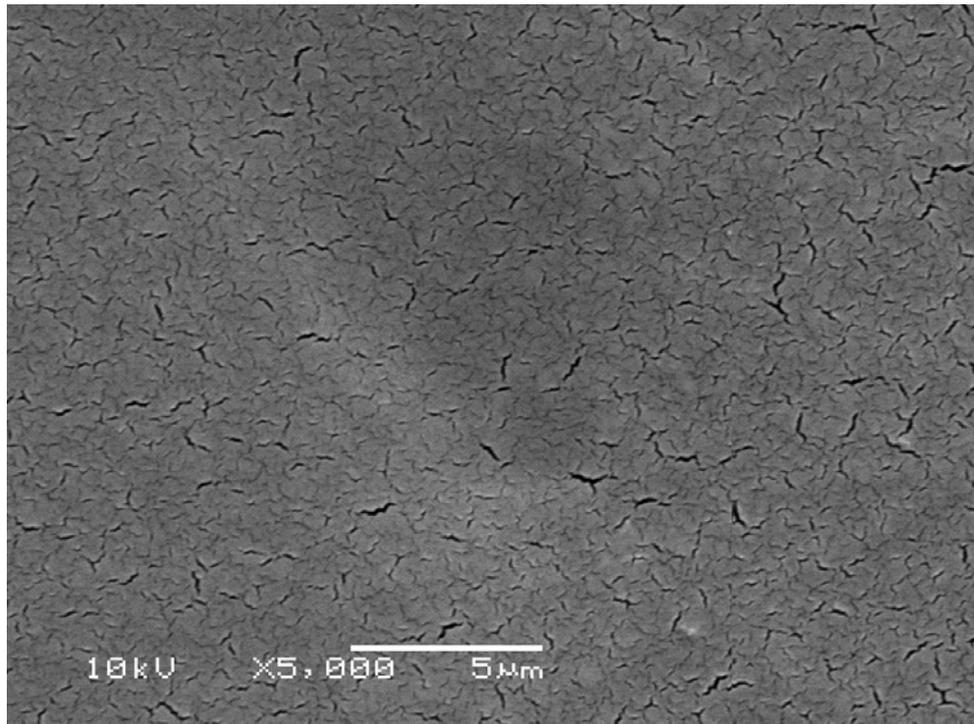


Figura 4.11: Fotomicrografia da camada seletiva da membrana utilizada nos experimentos de ultrafiltração.

4.6 Análises físico-químicas

A Figura 4.13 apresenta uma comparação entre os valores de viscosidade para suco cru, suco hidrolisado, suco concentrado e suco permeado. Observa-se que, para todos os experimentos, a viscosidade decai na seguinte ordem: cru > hidrolisado antes de ultrafiltrado > concentrado > permeado. Este resultado indica que a hidrólise continua ocorrendo durante o processo de ultrafiltração, indicando, desta forma, a existência de uma atividade residual da enzima, tendo em vista que a mesma não foi inativada após o processo de hidrólise.

Conforme descrito no Capítulo 3, a pasteurização foi realizada apenas nos experimentos 1 e 2 e, desta forma, não se tem resultados de viscosidade, acidez, °Brix, *ratio* e pH para o suco pasteurizado nos experimentos 3 e 4.

Conforme Vaillant *et al.* (1999), a maior queda da viscosidade do suco de maracujá foi observada nos 60 minutos de hidrólise antes da microfiltração; no entanto, ao longo do processo de filtração, a viscosidade continuou sofrendo alterações.

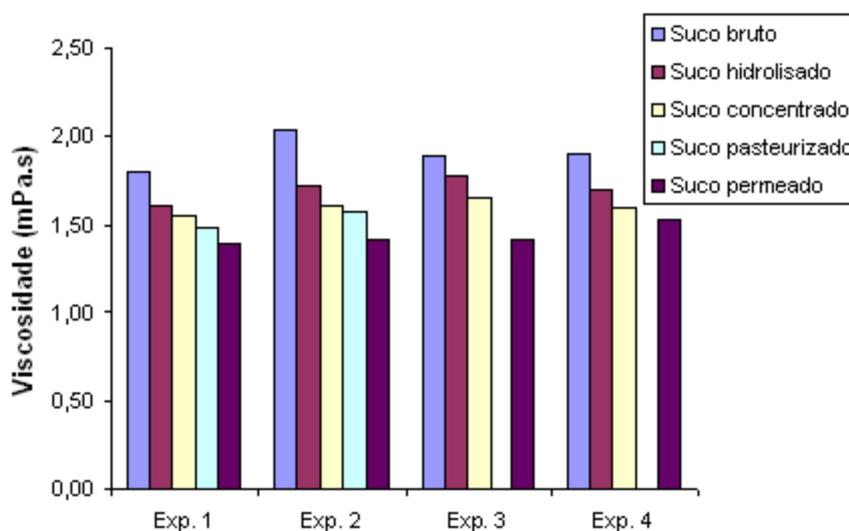


Figura 4.12: Gráfico comparativo da viscosidade do suco ao longo do processo de filtração com pré-tratamento enzimático.

Na **Tabela 4.9** pode-se observar que a acidez foi um parâmetro que não apresentou alteração significativa em relação ao valor do suco cru. Para o suco permeado do experimento 1, a acidez encontrada foi menor que a dos demais sucos, sendo que esta diferença pode ser atribuída às diferenças em cada lote de suco. O aumento da acidez observado no suco hidrolisado do experimento 4 também não apresentou repetibilidade, podendo ter sido causado por erro experimental.

Tabela 4.9: Valores de acidez titulável e °Brix do suco cru, hidrolisado, permeado, concentrado e pasteurizado para os experimentos de UF.

Experimento	1	2	3	4	1	2	3	4
Amostra de Suco	Acidez*				°Brix			
Cru	1,01	1,22	0,72	1,00	9,0	9,8	9,5	11,0
Hidrolisado	1,01	1,23	0,75	1,20	9,0	9,9	9,5	11,0
Permeado	0,97	1,22	0,75	1,00	8,5	9,5	9,3	10,8
Concentrado	1,01	1,23	0,75	1,01	9,0	9,9	9,6	11,0
Pasteurizado	1,00	1,23	-	-	9,0	9,9	-	-

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Foi observada, nos quatro experimentos, uma diminuição no °Brix do suco permeado em relação aos demais. Uma vez que o °Brix representa a percentagem de sólidos solúveis, este resultado está de acordo com o esperado.

Como o *ratio* é um parâmetro resultante da razão do °Brix pela acidez titulável, seus valores sofreram alterações para o suco permeado, devido as alterações de valores de °Brix

para o suco permeado (**Tabela 4.10**). O pH, por sua vez, não sofreu alteração significativa em nenhuma etapa do processo.

Tabela 4.10: Valores de ratio e pH do suco cru, hidrolisado, permeado, concentrado e pasteurizado para os experimentos de UF.

Experimento	1	2	3	4	1	2	3	4
Amostra de Suco	<i>Ratio</i>				pH			
Cru	8,9	8,0	13,2	11,0	3,38	3,30	3,78	3,59
Hidrolisado	8,9	8,1	12,7	9,2	3,38	3,32	3,77	3,60
Permeado	8,8	7,8	12,4	10,8	3,38	3,30	3,77	3,27
Concentrado	8,9	8,1	12,8	10,9	3,39	3,34	3,78	3,59
Pasteurizado	9,0	8,1	-	-	3,42	3,34	-	-

*dada em g de ác. cítrico anidro/100g de suco

Determinação qualitativa de atividade da pectinesterase

A pectinesterase é uma enzima encontrada naturalmente na laranja e é a responsável pela quebra da pectina, processo que faz parte da maturação da fruta e é indesejado no suco já processado.

A análise para a determinação de atividade da pectinesterase avalia se a enzima apresenta ou não atividade enzimática, ou seja, se ainda está ativa e capaz de hidrolisar a pectina existente no suco.

Em ambas as análises de determinação da atividade da pectinesterase no permeado, não foram detectadas atividade da enzima. Este resultado está de acordo com o obtido por Silva *et al.* (1998), onde o permeado da ultrafiltração (membrana com massa molar de corte igual a 50 kDa) de suco de laranja também não apresentou atividade de pectinesterase.

O referido autor cita, ainda, outros dois trabalhos de ultrafiltração de suco de laranja, porém com membranas de massa molar de corte iguais a 100 kDa, onde o resultado obtido foi o mesmo, afirmando que mesmo membranas com massa molar de corte elevadas são eficientes na retenção desta enzima.

4.7 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas com o objetivo de verificar se existe diferença entre o tempo de vida de prateleira do suco reconstituído (10% de suco permeado + 90% de suco pasteurizado) e do suco pasteurizado (100% de suco pasteurizado).

Conforme descrito no Capítulo 3, estas análises foram feitas para os experimentos 1 e 2, nos quais foi realizada a pasteurização do suco concentrado resultante da ultrafiltração.

É importante salientar que todas as amostras foram conservadas em geladeira, na temperatura de 4 °C (± 1 °C), somente sendo retiradas no dia da análise.

Para cada experimento (1 e 2) foi realizada uma análise microbiológica do ambiente do laboratório (**Tabela 4.11**).

Tabela 4.11: Resultados das análises microbiológicas do ar do laboratório.

Experimento	Fungos*	Leveduras*	Bactérias Mesófilas*
1	1×10^0	0	0
2	9×10^0	0	0

* Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Nas duas análises do ambiente, realizadas nos dias dos experimentos de ultrafiltração seguida de pasteurização, ocorreram crescimentos de fungos filamentosos. Desta forma, devido à contaminação cruzada com o meio ambiente, existe a probabilidade que ocorra crescimento de fungos nas amostras coletadas. A **Figura 4.13** mostra a placa de *Petri* referente à análise do ambiente para o experimento 2.

Sabendo da possibilidade de contaminação cruzada com o meio ambiente e, com o intuito de amenizá-la, as amostras de permeado foram coletadas próximas à lamparina (chama de fogo), conforme descrito no Capítulo 3, para aumentar a segurança e um ambiente livre de microorganismos.

No entanto, esta precaução não foi o suficiente, pois se verificou o crescimento de fungos filamentosos em algumas das amostras de permeado e/ou pasteurizado. Observou-se, também, que este crescimento foi maior para as amostras referentes ao experimento 2, no qual a análise microbiológica do ambiente apresentou maior contagem de fungos filamentosos (9×10^0 UFC).

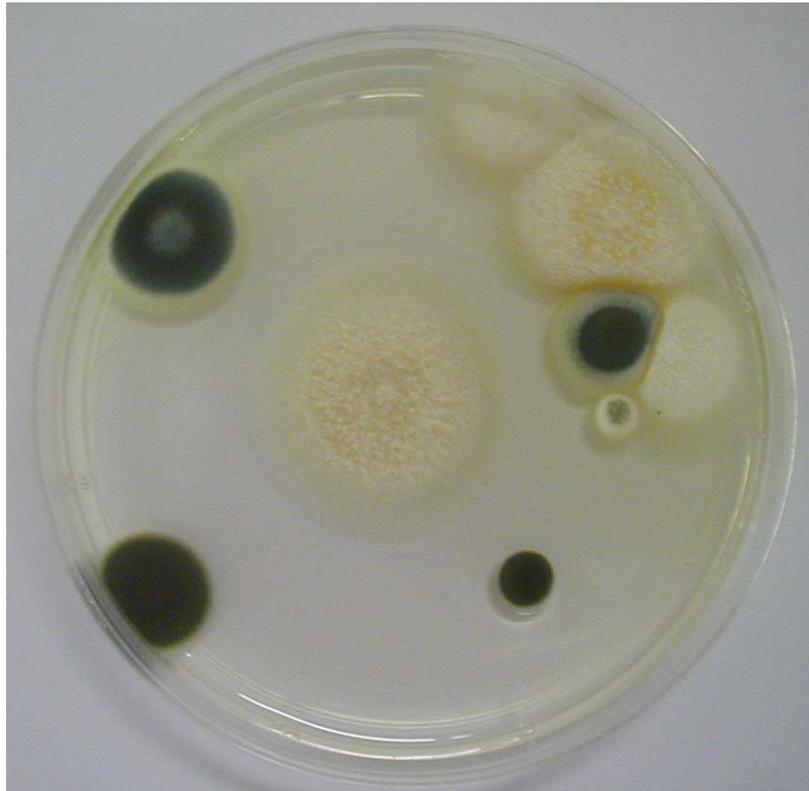


Figura 4.13: Placa de *Petri*, com meio de cultura BDA, após aberta por 10 minutos no laboratório e incubada em estufa por 5 dias a 35°C.

Os experimentos de análise microbiológica das amostras foram realizadas em triplicada e o resultado analisado é a média destas triplicadas e estão expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mL de amostra (UFC/mL de amostra). A seguir são apresentadas as tabelas com os resultados das análises microbiológicas.

Na **Tabela 4.12** observa-se que, no experimento 1, as amostras do suco pasteurizado apresentaram uma pequena contagem de fungos filamentosos. O permeado, por sua vez, não apresentou nenhuma contagem de fungos filamentosos, assim como as análises do suco reconstituído.

Tabela 4.12: Resultados da contagem de fungos filamentosos realizadas para o experimento 1.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	0	$3,3 \times 10^{-1}$	0
10	0	$3,3 \times 10^{-1}$	0
20	0	0	0
30	0	0	0
40	0	$3,3 \times 10^{-1}$	0

Na **Tabela 4.13** estão apresentados os resultados das análises microbiológicas de fungos filamentosos realizadas para o experimento 2. Neste experimento, as amostras de permeado apresentaram contagens de fungos filamentosos, sendo que as amostras do suco pasteurizado não apresentaram fungos. O suco reconstituído apresentou contagem menor ou igual (no caso do dia 40) do que a observada no permeado.

Tabela 4.13: Resultados da contagem de fungos filamentosos realizadas para o experimento 2.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	$3,3 \times 10^0$	0	$3,3 \times 10^{-1}$
10	1×10^0	0	$6,7 \times 10^{-1}$
20	$6,7 \times 10^{-1}$	0	0
30	$6,7 \times 10^{-1}$	0	$3,3 \times 10^{-1}$
40	$3,3 \times 10^{-1}$	0	$3,3 \times 10^{-1}$

Nas análises de leveduras, o permeado apresentou contagem zero nos dois experimentos e em todos os dias de armazenamento. Por sua vez, o suco pasteurizado e, conseqüentemente, o suco reconstituído, apresentaram contagens baixas (**Tabela 4.14 e 4.15**).

Tabela 4.14: Resultados da contagem de leveduras realizadas para o experimento 1.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	0	$2,0 \times 10^0$	$3,0 \times 10^0$
10	0	$3,3 \times 10^{-1}$	$2,0 \times 10^0$
20	0	$2,0 \times 10^0$	$1,7 \times 10^0$
30	0	$6,7 \times 10^{-1}$	0
40	0	0	$6,7 \times 10^{-1}$

Tabela 4.15: Resultados da contagem de leveduras realizadas para o experimento 2.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	0	0	0
10	0	$3,3 \cdot 10^{-1}$	0
20	0	0	0
30	0	0	0
40	0	0	0

Apesar das amostras analisadas apresentarem contagens de fungos e leveduras, seus valores estão dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira (Portaria n.º 451, de 19 de setembro de 1997) que vigorou até janeiro de 2001, o qual era de 102 UFC/mL de amostra. A legislação vigente (RDC n.º 12 de 02 de janeiro de 2001) determina limites somente para coliformes (ausência em 25mL).

Nenhuma das amostras analisadas apresentou contagem de bactérias mesófilas (Tabela 4.16 e 4.17). No entanto, na amostra de permeado do dia 1 do experimento 2, em uma das placas de *Petri* com meio de cultura *Orange Serum Agar*, específico para crescimento de bactérias mesófilas, houve o crescimento de 2 UFC de fungos filamentosos. O resultado desta análise é, provavelmente, consequência da contaminação cruzada com o ar do meio ambiente.

Tabela 4.16: Resultados da contagem de bactérias mesófilas realizadas para o experimento 1.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	0	0	0
10	0	0	0
20	0	0	0
30	0	0	0
40	0	0	0

Tabela 4.17: Resultados da contagem de bactérias mesófilas realizadas para o experimento 2.

Dias de armazenamento	Permeado	Suco Pasteurizado	Suco Reconstituído
1	0	0	0
10	0	0	0
20	0	0	0
30	0	0	0
40	0	0	0

Os resultados obtidos, em ambos os experimentos, não demonstram a existência de um aumento na contagem de colônias ao longo dos dias de armazenamento investigados. Desta

forma, não foi possível concluir se o procedimento de integração de processos proposto (ultrafiltração + pasteurização) é capaz de aumentar o tempo de armazenamento do suco reconstituído em comparação com o do suco pasteurizado. Entretanto, uma vez que não foram realizadas análises sensoriais das diferentes amostras de suco (em função da pequena quantidade de amostra), este resultado pode ser consequência de um tratamento térmico mais severo; mesmo assim, ainda é possível que o processo proposto seja conveniente. Caso seja empregada esta integração de processos, pode-se afirmar que haverá uma redução na quantidade de suco a ser submetido à pasteurização convencional. Desta forma, custos relacionadas à energia despendida na pasteurização convencional poderão ser minimizados.

Vale ressaltar que mais experimentos, utilizando outras membranas (matérias e tamanhos de poros), devem ser realizados para confirmar e até mesmo melhorar os resultados obtidos no presente trabalho.

Em relação ao suco comercializado pela empresa parceira, a pasteurização convencional garante um tempo de vida de prateleira de 30 dias sob refrigeração, ainda que, como margem de segurança, no rótulo do produto conste uma validade de 20 dias. A comparação dos resultados obtidos neste trabalho com o produto comercial não pôde ser realizada devido às diferentes condições do processo de pasteurização. Neste trabalho não se conseguiu reproduzir as condições de operação da pasteurização utilizadas na indústria de sucos.

Capítulo 5

Conclusões e Sugestões

Neste Capítulo são apresentadas as conclusões obtidas neste estudo e sugestões e para trabalhos futuros nesta área.

5.1 Conclusões

De acordo com os resultados obtidos e comentados no Capítulo 4, é possível concluir o que está apresentado a seguir.

- A diminuição da viscosidade durante o processo de hidrólise enzimática ocorre, basicamente, nos primeiros 15 minutos.
- A enzima Citrozym Cloudy 100-L não apresentou, segundo o Teste de Tukey ao nível de 95% de confiança, resultados significativos na diminuição da viscosidade. Desta forma, nas condições testadas, a enzima que apresentou melhor desempenho na redução da viscosidade foi a Pectinex Ultra SP-L.
- Para ambas as enzimas testadas, Citrozym Cloudy 100 L e Pectinex Ultra SP-L, os parâmetros de acidez titulável, °Brix, *ratio* e pH não sofreram alterações durante o processo de hidrólise.
- A membrana de ultrafiltração utilizada apresentou uma elevada compactação, diminuindo seu fluxo permeado de água cerca de 66% em relação ao fluxo inicial.
- As fotomicrografias obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostraram que a membrana utilizada apresenta estrutura assimétrica, esponjosa e com distribuição irregular de poros na superfície.
- O comportamento do fluxo permeado do suco em função do tempo foi similar para todos os experimentos, apesar das variações de valores.

- O fluxo permeado do suco hidrolisado e o do suco não hidrolisado não diferiram em relação ao comportamento, nem em relação aos valores.
- Através das análises de viscosidade do suco ao longo do processo de ultrafiltração e pasteurização, verificou-se que a enzima Pectinex Ultra SP-L apresentou atividade residual.
- Em relação aos parâmetros físico-químicos, somente foram observadas alterações no °Brix do suco permeado e, conseqüentemente, no *ratio*.
- Não foi detectada atividade da pectinesterase no suco permeado, confirmando, desta forma, que a membrana é capaz de retê-la.
- As análises microbiológicas não indicaram diferença significativa entre a vida de prateleira do suco pasteurizado, nas condições deste trabalho, e do suco reconstituído.
- Existe a viabilidade técnica de integrar processos de separação por membranas (PSM) com a pasteurização na produção de suco de laranja pronto para o consumo.

5.2 Sugestões

Tendo em vista a continuidade deste trabalho, as seguintes sugestões são apresentadas.

- Testes de hidrólise com outros compostos enzimáticos, variando-se, além de tempo e temperatura, a concentração dos mesmos.
- Experimentos com membranas cerâmicas de microfiltração e ultrafiltração com diferentes tamanhos de poro e MMC.
- Estudo e padronização da metodologia de limpeza da membrana.
- Determinação da vida útil da membrana na indústria de suco de laranja.
- Experimentos de pasteurização realizados em equipamento piloto, dotado de controles de temperatura e tempo de retenção.
- Estudo da viabilidade econômica da integração de PSM com a pasteurização convencional na produção de suco de laranja pasteurizado, focando-se nos custos relacionados ao consumo de energia.
- Realização de análises microbiológicas durante um período mais longo.

Referências Bibliográficas

- ABECITRUS, <http://www.abecitrus.com.br> - Acessado em novembro de 2006.
- ACUMEDIA, <http://www.acumediadcm.com> - Acessado em maio de 2006.
- BALISCHI, L., PEREIRA, N.C., LIMA, O. C. M., BARROS, T. D., DAMASCENO, J. W., MENDES, E. S., *Influência do tratamento enzimático sobre as características reológicas e microscópicas da polpa de acerola*. Acta Scientiarum, 2002, vol. 24 n°6, p. 1649-1658.
- BARROS, S. T. D., ANDRADE, C. M. G., MENDES, E. S., PERES, L., *Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration*. Journal of Membrane Science, 2003, vol. 215, p. 213-224.
- BELITZ, H. D., GROSCH, W., Food Chemistry. 2nd ed., Berlin: Springer, 1999, 992p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. *Portaria n° 01 – DINAL/MS de 28 de janeiro de 1987*. Diário Oficial da União de 28 de janeiro de 1987, Brasília.
- _____, Ministério da Saúde. *Portaria n° 451, de 19 de setembro de 1997*. Diário Oficial da União de 22 de setembro de 1997, Brasília.
- _____, Ministério da Saúde. *Resolução – RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001*. Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001, Brasília.
- _____, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. *Instrução Normativa n° 12, de 10 de setembro de 1999*. Diário Oficial da União de 10 de setembro de 1999, Brasília.
- CARNEIRO, L., AS, I. S., GOMES, F. S., MATTA, V. M., CABRAL, L. M. C., *Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangencial microfiltration*. Desalination, 2002, vol. 148, p. 93-98.
- CASSANO, A., DRIOLI, E., GALAVERNA, G., MARCHELLI, R., SILVESTRO, G. CAGNASSO, P., *Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane process*. Journal of Food Engineering, 2003, vol. 57, p. 153-163.

CHERYAN, M., 1998. *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. Washington: CRC PRESS, 526.

CHO, C.-W, LEE, D.-Y., KIM, C.-W., *Concentration and purification of soluble pectin from mandarin peels using crossflow microfiltration system*. Carbohydrate Polymers, 2003, vol. 54, p. 21-26.

FERRARA, A. L., *A Logística na Indústria de Suco de Laranja Concentrado*. São Paulo, 2003. 49p. Monografia – Centro Universitário de Araraquara. Departamento de Ciências da Administração e Tecnologia – Curso Engenharia de Produção.

FMC FOOD TECHNOLOGIES - <http://www.fmctechnologies.com> acessado em julho de 2006

GUADIX, A., SORENSEN, E., PAPAGEORGIOU, L. G., GUADIX, E. M., *Optimal design and operation of continuous ultrafiltration plants*. Journal of Membrane Science, 2004, vol. 235, p. 131-138.

GUMMADI, S. N., PANDA, T., *Purification and biochemical properties of microbial pectinases – a review*. Process Biochemistry, 2003, vol. 38, p. 987-996.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NOBREGA, R., *Processos de Separação com Membranas*. Programa de Engenharia Química/COPPE/UFRJ, 2000, 165p.

HUISMAN, I., ELZO, D., MIDDELINK, E., TRÄGÄRDH, A. C., *Properties of the cake layer formed during crossflow microfiltration*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 1998, vol. 138, p. 265-281.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do IAL – Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.**, 2 ed., Vol. 1, São Paulo, 1976, 371p.

IPPA – International Pectin Producers. What is pectin? Disponível em http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm. acessado em agosto de 2006

JAYANI, R. S., SAXENA, S., GUPTA, R., *Microbial pectinolytic enzymes: A review*. Process Biochemistry, 2005, Article in Press.

JIRARATANANON, R., UTTAPAP, D., SAMPRANPIBOON, P., *Crossflow microfiltration of colloidal suspension with the presence of macromolecules*. Journal of Membrane Science, 1998, vol. 140, p. 57-66.

JOGEN, W., *Fruit and Vegetable Processing – Improving Quality*, Washington: CRC Press, 2002. 397 p.

KASHYAP, D. R., VOHRA, P. K., CHOPRA, S., TEWARI, R., *Applications of pectinases in the commercial sector: a review*. Bioresource Technology, 2001, vol. 77, p. 215-227.

LD CITRUS; Louis Drey Citrus: Orange Processing Industry. Disponível em: <http://www.ldcitrus.com>. Acessado em junho de 2006

LENKY, R. W., RIEDL, K., *Effect of fractal flocculation behavior on fouling layer resistance during apple juice microfiltration*. Food Research International, 1999, vol. 32, p. 279-288.

MATTA, V. M., CABRAL, L. M. C., SILVA, L. F. M., *Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004a, vol. 24, p. 293-297.

MATTA, V. M., MORETTI, R. H., CABRAL, L. M. C., *Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice*. Journal of Food Engineering, 2004b, vol. 61, p. 477-482.

MECAT, 2006 -www.mecat.com.br acessado em junho de 2006.

MULDER, M., *Basic Principles of Membrane Technology*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1996.

NAIDU, G. S., Panda, T., *Studies on pH and deactivation of pectolytic enzymes from Aspergillus niger*. Biochemical Engineering Journal, 2003, vol. 16, p. 57-67.

NETO, R. S., FARIA, J. A. F., *Alterações químicas e enzimáticas em suco de laranja pasteurizado*. Higiene Alimentar, 2003, vol.17, nº114/115, p. 60-67.

ORTEGA, N., DIEGO, S., PEREZ-MATEOS, M., BUSTO, M. D., *Kinetic properties and thermal behaviour of polygalacturonase used in fruit juice clarification*. Food Chemistry, 2004, vol. 88, p. 209-217.

RIEDL, K., GIRARD, B., LENCKI, R. W., *Interactions responsible for fouling layer formation during apple juice microfiltration*. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1998, vol. 46, p. 2458-2464.

RIEDL, K., GIRARD, B., LENCKI, E. W., *Influence of structure on fouling layer morphology during apple juice clarification*. Journal of Membrane Science, 1998a, vol. 139, p. 155-166.

RIEDL, K., GIRARD, B., LENCKI, R. W., *Influence of membrane structure on fouling layer morphology during apple juice clarification*. Journal of Membrane Science, 1998b, vol. 139, p. 155-160.

RIO GRANDE DO SUL. *Programa de Investimentos Integrados para o Setor Agropecuário. Suco de Laranja Concentrado*. Porto Alegre, Ed. Pallotti, 1975. 113 p.

RIPPERGER, S., ALTMANN, J., *Crossflow microfiltration – state of the art*. Separation and Purification Technology, 2002, vol. 26, p.19-31.

SANTIN, M. M., *Aplicações de tratamento enzimático combinado a microfiltração na clarificação de suco de pêssego*. Dissertação Mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Ciências Agrárias, Erechim, 2004. 79 p.

SHIGEOKA, D. S., *Tratamento térmico mínimo de suco de laranja natural: Estudo da viabilidade de armazenamento em latas de alumínio*. São Paulo, 1999. 55p. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

SILVA, F. T., JARDINE, J. G., MATTA, V. M., *Concentração de suco de laranja (Citrus sinensis) por osmose inversa*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998, vol. 18, p. 99-104.

SOUZA, J. B., DANIEL, L. A., *Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de E. coli, colifagos e C. perfringens em água com elevada concentração de matéria orgânica*. Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, vol. 10, p. 111-117.

SZANIAWSKI, A. R., SPENCER, H. G., *Effects of immobilized pectinase on the microfiltration of dilute pectin solutions by macroporous titania membranes: resistance model interpretation*. Journal of Membrane Science, 1997, vol. 127, p. 69-76.

TOCCHINI, R. P., NISIDIA, A. L. A. C., MARTIN, Z. J., *Industrialização de polpas, sucos e néctares de frutas*. Manual do ITAL, Campinas, 1995, 85 p.

TODISCO, S., PEÑA, L., DRIOLI, E., TALLARICO, P., *Analysis of the fouling mechanism in microfiltration of orange juice*. Journal of Food Processing and Preservation, 1996, vol. 20, p. 453-466.

TRESSLER, D. K., JOSLYN, M. A., *Fruit and Vegetable Juice – Processing Technology*, Pennsylvania: Mack Printing Company, 1961. 1028 p.

TRIBESS, T. B., *Estudo da cinética de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja natural minimamente processado*. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química. São Paulo, 2003. 138 p.

VAILLANT, F., MILLAN, P., BRIEN, G. O., DORMIER, M., DECLoux, M., REYNES, M., *Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction*. Journal of Food Engineering, 1999, vol. 42, p. 215-224.

VLADISAVLJEVIC, G. T., VUKOSAVLJEVIC, P., BUKVIC, B., *Permeate flux and fouling resistance in ultrafiltration of depectinized apple juice using ceramics membranes*. Journal of Food Engineering, 2003, vol. 60, p. 241-247.

WAKEMAN, R. J., WILLIAMS, C. J., *Additional techniques to improve microfiltration*. Separation and Purification Technology, 2002, vol. 26, p. 3-18.

YAMANAKA, H. T., *Sucos cítricos*. São Paulo: CETESB, 2005. 45 p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>

YOUN, K. S., HONG, J. H., BAE, D. H., KIM, S. D., *Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment*. Journal of Membrane Science, 2004, vol. 228, p. 179-186.

Apêndice A

Dados Experimentais

Tabela A.1: Medidas do fluxo permeado de água destilada durante a compactação da membrana para cada experimento.

Tempo de operação (minutos)	Fluxo permeado (L/h.m ²)				
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Média
0	632,41	909,35	790,51	662,53	748,70
10	354,65	756,97	536,77	450,11	524,63
20	207,38	681,34	446,12	381,49	429,08
30	181,07	616,71	384,41	345,92	382,03
40	157,65	576,83	352,23	310,42	349,28
50	133,70	536,35	322,96	294,83	321,96
60	130,60	496,89	306,05	279,15	303,18
70	127,97	461,00	280,47	263,90	283,34
80	123,23	452,60	256,95	249,83	270,65
90	123,29	429,68	247,33	243,32	260,90
100	122,99	417,06	241,94	233,09	253,77
110	-	395,48	233,00	227,93	285,47
120	-	396,16	230,45	224,04	283,55
130	-	378,07	-	-	378,07
140	-	360,25	-	-	360,25
150	-	347,31	-	-	347,31
160	-	336,23	-	-	336,23
170	-	322,21	-	-	322,21
180	-	324,46	-	-	324,46
190	-	324,46	-	-	324,46
200	-	322,66	-	-	322,66
210	-	314,35	-	-	314,35
220	-	302,85	-	-	302,85

Tabela A.2: Medidas do fluxo permeado de água destilada para a determinação da permeabilidade hidráulica da membrana antes de seu uso.

Pressão (kPa)	Fluxo permeado (L/h.m ²)				
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Média
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
50	45,85	98,45	87,58	92,45	81,08
100	76,61	178,38	160,86	144,00	139,97
150	100,26	246,89	222,06	187,82	189,26
200	123,17	313,29	267,20	241,36	236,25

Tabela A.3: Medidas do fluxo permeado para o suco de laranja hidrolisado

Tempo de operação (minutos)	Fluxo permeado (L/h.m ²)				
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Média
0	12,86	18,69	45,86	27,90	26,33
10	11,50	15,27	20,65	19,11	16,63
20	11,24	14,62	16,29	15,90	14,51
30	10,53	14,07	13,93	14,46	13,25
40	10,41	13,20	12,95	13,36	12,48
50	10,28	13,11	11,94	12,42	11,94
60	10,20	12,82	11,29	11,66	11,49
70	10,01	12,63	10,58	-	-

Tabela A.4: Medidas do fluxo permeado para o suco de laranja não hidrolisado

Tempo de operação (minutos)	Fluxo permeado (L/h.m ²)				
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Média
0	15,36	17,96	19,86	25,63	19,70
10	14,54	15,43	17,20	21,17	17,08
20	14,30	14,47	15,50	16,51	15,19
30	13,85	13,60	15,60	13,84	14,22
40	13,51	13,00	14,38	11,71	13,15
50	-	12,77	14,15	11,59	12,84
60	-	11,91	13,59	-	12,75

Apêndice B

Tabela B.1: Composição do meio de cultura *Orange Serum Agar*

Componente / Propriedade	g.L ⁻¹
Triptose	10,0
Extrato de levedura	3,0
Suco de laranja (equivalente em sólidos)	3,5
Glicose	4,0
Fosfato dipotássico	2,5
Agar	14,0
pH	5,5 ± 0,2

Fonte: www.oxoid.com

Tabela B.2: Composição do meio de cultura *Agar batata*

Componente / Característica	g.L ⁻¹
Extrato de batata	4,0
Glicose	20,0
Ágar	15,0
pH	5,6 ± 0,2

Fonte: www.acumediadcm.com