RENATA NATSUMI HANEDA

**ESTUDO DO DESEMPENHO DO PROCESSO DE
MICROFILTRAÇÃO TANGENCIAL COM MEMBRANAS
CERÂMICAS APLICADO À RETENÇÃO DE BACTÉRIAS E
REDUÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS DE UMA BEBIDA À BASE DE
AÇAÍ**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos
da Universidade de São Paulo para a obtenção do título
de Doutora em Engenharia Mecânica.

Área de Concentração: **Térmica e Fluidos**

Orientador: **Prof. Assoc. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes**

São Carlos
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

S237e	<p>Haneda, Renata Natsumi</p> <p>Estudo do desempenho do processo de microfiltração tangencial com membranas cerâmicas aplicado à retenção de bactérias e redução de sólidos suspensos de uma bebida à base de açaí. / Renata Natsumi Haneda; orientador : Sérgio Rodrigues Fontes. São Carlos, 2010.</p> <p>Tese (Doutorado-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica e Área de Concentração em Térmica e Fluidos) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2010.</p> <p>1. Mecânica dos fluidos. 2. Microfiltração. 3. Membrana cerâmica. 4. Bebida à base de açaí. 5. Prata. 6. Camada de polarização. I. Título.</p>
-------	--

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharel **RENATA NATSUMI HANEDA**.

Tese defendida e julgada em 18/08/2010 perante a Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **SERGIO RODRIGUES FONTES** (Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADA

Profª. Dra. **MARIA DA PENHA LONGO MORTATTI CATANOZI**
(Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"/UNESP/Campus de Araraquara)

APROVADA

Prof. Dr. **LUIZ ANTONIO VIOTTO**
(Universidade Estadual de Campinas)

APROVADA

Dr. **JOSÉ DALTON CRUZ PESSOA**
(EMBRAPA)

APROVADA

Dra. **RITA MARGARETE DONATO MACHADO**
(Pós-Doutoranda FAPESP)

Aprovada

Prof. Associado **JONAS DE CARVALHO**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Mecânica

Prof. Titular **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus pais, Takeshi Haneda e Herta Brigida Haneda, à minha irmã, Lilian Mayumi Haneda, e ao meu marido, Eduardo A. Figueiredo, com muito amor e gratidão por toda a paciência, compreensão e apoio financeiro ao longo da realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela maravilhosa vida e permissão de evoluir no conhecimento, proporcionando-me tantas oportunidades de estudos e, colocando em meu caminho, pessoas prestativas, amigas e preciosas.

Ao Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes agradeço pela orientação, paciência e confiança na minha capacidade para realizar este trabalho. Sobretudo, agradeço o privilégio de haver trabalhado não só com um competente profissional, mas também com um amigo surpreendente que esteve presente em momentos de dificuldade, incentivando-me a seguir em frente. Em especial, agradeço à sua esposa, Maria Solange G. de Castro Fontes, que ao longo destes anos, tornou-se uma amiga muito especial, por quem tenho muito respeito, admiração e tanto me incentivou nessa fase de crescimento.

Ao Prof. Dr. Elson Longo agradeço imensamente pela gentil colaboração técnica e financeira, sem contar a paciência e atenção dispensada comigo ao longo deste grande aprendizado.

À Profa. Dra. Maria da Penha Longo M. Catanozi agradeço profundamente pelas ricas sugestões, assim como, sua compreensão e prestatividade, que muito me auxiliaram a superar as situações-limite, colaborando ativamente para a concretização desta pesquisa. Não podendo esquecer a indescritível solidariedade e afeto inestimável, que se traduziram sempre em entusiasmados e produtivos diálogos.

À Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche, do Laboratório de Processos Biológicos (USP/São Carlos), agradeço pela permissão de uso de equipamentos, assim como, à técnica, Dra. Eloisa Pozzi pelo suporte técnico que fortaleceu e impulsionou o desenvolvimento microbiológico desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Dalton Cruz Pessoa sou muito grata pela gentil disposição a participar da pesquisa, indicando referências, contribuindo com importantes sugestões e, principalmente, pela compreensão e paciência em sanar diversas dúvidas que surgiram ao longo do desenvolvimento da pesquisa.

À Dra. Rita Margarete Donato Machado, meus sinceros agradecimentos pela disposição para discutir o projeto, bem como por seus questionamentos e importantes contribuições desde a etapa de qualificação. Acima de tudo, sou grata à sua amizade, incentivo e atenção zelosa comigo e com o término da tese.

Ao Prof. Dr. Paulo Seleglim Júnior, chefe do Laboratório de Engenharia Térmica e Fluidos, meus sinceros agradecimentos pelo incentivo e apoio ao longo destes anos de pesquisa.

À Profa. Ângela Cristina P. Giampetro, do Centro Cultural (USP/ São Carlos), agradeço imensamente pelas imprescindíveis e cuidadosas traduções de artigos e resumos.

À técnica da Embrapa Instrumentação Agropecuária, Silviane Hubinger, agradeço sinceramente pela presteza e colaboração em diversas fases deste trabalho.

À técnica, Adriana Cristina Marchese Zavarizi, do Laboratório de Microbiologia de Alimentos (UNESP/Araraquara), meus sinceros agradecimentos pelo essencial suporte ativo e sugestões para construção e desenvolvimento da metodologia de análises microbiológicas.

Ao técnico, Eliezer Dias Francisco, do Departamento de Engenharia de Materiais (USP/São Carlos), agradeço imensamente pela presteza nos tratamentos térmicos realizados nas membranas.

A todos os professores e técnicos do Laboratório de Engenharia Térmica e Fluidos, do Departamento de Engenharia Mecânica (USP/ São Carlos) agradeço pela manutenção e construção de equipamentos utilizados nesta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) agradeço pela concessão da bolsa de doutorado e pelo suporte financeiro.

Aos meus familiares que mesmo à distância me incentivaram a seguir em frente, sempre com muito amor, compreensão e orgulho.

A todos os colegas de trabalho, meus sinceros agradecimentos por compartilharem diversos momentos de aprendizagem com paciência, cumplicidade e carinho.

Em especial, agradeço imensamente a todos os amigos que, sempre tão dedicados e preocupados comigo e com a tese, incentivaram e apoiaram-me com muito carinho e respeito.

A todos, sinceramente muito obrigada!

*“Falar é completamente fácil, quando se tem palavras em mente que se expresse sua
opinião...*

Difícil é expressar por gestos e atitudes, o que realmente queremos dizer.

Fácil é julgar pessoas que estão sendo expostas pelas circunstâncias...

Difícil é encontrar e refletir sobre os seus próprios erros.

Fácil é fazer companhia a alguém, dizer o que ela deseja ouvir...

Difícil é ser amigo para todas as horas e dizer a verdade quando for preciso.

Fácil é analisar a situação alheia e poder aconselhar sobre a mesma...

Difícil é vivenciar esta situação e saber o que fazer.

Fácil é demonstrar raiva e impaciência quando algo o deixa irritado...

Difícil é expressar o seu amor a alguém que realmente te conhece.

Fácil é viver sem ter que se preocupar com o amanhã...

*Difícil é questionar e tentar melhorar suas atitudes impulsivas e às vezes impetuosas, a cada
dia que passa.*

Fácil é mentir aos quatro ventos o que tentamos camuflar...

Difícil é mentir para o nosso coração.

Fácil é ver o que queremos enxergar...

Difícil é saber que nos iludimos com o que achávamos ter visto.

Fácil é ditar regras e, Difícil é segui-las...”

Título original: Reverência ao destino (Carlos Drummond de Andrade)

Resumo

HANEDA, R. N. **Estudo do desempenho do processo de microfiltração tangencial com membranas cerâmicas aplicado à retenção de bactérias e redução de sólidos suspensos da bebida à base de açaí.** 2010. 174 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Nesta pesquisa de doutorado, o processo de microfiltração tangencial com membranas cerâmicas é investigado visando à retenção de bactérias (*Escherichia coli* CCT 0549) e redução de sólidos suspensos de uma bebida à base de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). As membranas comerciais selecionadas foram manufaturadas com α -alumina (Al_2O_3) e possuem tamanho nominal de poro, fornecido pelo fabricante no valor de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$. O valor nominal da membrana de $1,2\mu\text{m}$ é maior que a largura da *Escherichia coli* ($0,8\mu\text{m}$). Como, a princípio, o microrganismo está fisicamente sujeito a passagem pela membrana de $1,2\mu\text{m}$, esta estrutura micro-porosa foi submetida à impregnação de prata. Este procedimento visou verificar a influência da prata como material bactericida para auxiliar na redução/eliminação das bactérias inoculadas na bebida à base de açaí. Para tanto, a estrutura cerâmica micro-porosa foi tratada quimicamente com solução de citrato de prata e submetida à queima até a temperatura de 600°C para eliminação dos compostos orgânicos e conseqüente impregnação de nanopartículas de prata metálica nos poros da membrana. Este processo de impregnação proporcionou um discreto aumento no índice de retenção microbiana em regime de escoamento turbulento ($\text{Re}=20000$). A caracterização morfológica, a composição e a impregnação de prata nas membranas foram realizadas com o auxílio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e do Detector de Energia Dispersiva de Raio-X (EDX). Estas mesmas técnicas foram utilizadas para caracterizar o fenômeno físico-químico de formação da camada polarizada sobre a superfície da membrana. A análise da retenção de bactérias foi realizada através da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) em placas Petrifilm ECTM. O desempenho das membranas na retenção de material particulado suspenso foi analisado pela técnica de espectroscopia de ultra-som e por comparação qualitativa, entre concentrado e permeado, via microscopia ótica. A redução de antocianina (cianidina-3-

glicosídeo) e o conteúdo de polifenóis totais foram investigados via espectrofotometria, apresentando relação direta com o tamanho dos poros da membrana e com o regime de escoamento. Desta forma, parâmetros fluido-dinâmicos do processo, tais como: número de Reynolds, pressão transmembrana e fluxo transmembrana foram caracterizados para uma ampla faixa do escoamento turbulento e analisados com o modelo de resistência em série. Os resultados experimentais obtidos neste trabalho indicaram que o processo de microfiltração tangencial é uma boa alternativa à retenção de microrganismos e simultânea redução de sólidos suspensos da bebida à base de açaí.

Palavras-chave: microfiltração, membrana cerâmica, bebida à base de açaí, prata, camada polarizada.

Abstract

HANEDA, R. N. **Performance study of the crossflow microfiltration process with ceramic membranes applied to the bacteria retention and suspended solids reduction of the beverage based on açai.** 2010, 174 p. Thesis (Doctoral) – Engineering School of São Carlos, São Paulo University, São Carlos, 2010.

In this doctoral research, the crossflow microfiltration process utilizing ceramic membranes was investigated aiming at the bacteria retention (*Escherichia coli*) and reduction of suspended solids of beverage based on açai (*Euterpe oleracea* Mart.). The selected commercial membranes of α -alumina (Al_2O_3) had nominal pore sizes of 0.8 and 1.2 μm and were manufactured by Andritz Group from Austria. The membrane nominal value of 1.2 μm is larger than the width of the *Escherichia coli* (0.8 μm). Therefore, as the microorganisms are subjected to pass through the pores of this membrane, it was submitted to silver impregnation. This procedure aimed to verify the silver influence as a bactericide material to assist in retention or elimination of bacteria during the microfiltration process. In this way, the microporous structure was chemically treated with a silver citrate solution and then, subjected to burning until 600°C to eliminate organic compounds and consequent impregnation of nanoparticles of metallic silver in the membrane pores. The morphology characterization, composition, and impregnation of silver in membranes were analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray fluorescence (EDX) spectrometer. The same techniques were utilized to characterize the physicochemical phenomenon of polarization layer formation on the membrane surface. The analysis of bacteria retention was performed by the counting of colony forming units (CFU/ mL) in Petrifilm Plates ECTM. The performance of the membranes in the retention of solids in suspension was analyzed by Ultrasound Spectroscopy - APS100 and Optical Microscopy. The variations of the anthocyanin concentration and the total polyphenol content were investigated by spectrophotometry, showing direct relationship with the membrane pore size and flow regime. Therefore, fluid-dynamical parameters, such as Reynolds number, transmembrane pressure, and permeate flux were characterized for a large range of turbulent flow and analyzed with

the resistance-in-series model. The experimental results of this research indicated that the microfiltration process is a suitable alternative to retain microorganisms and simultaneously decrease suspended solids of the beverage based on açaí.

Keywords: microfiltration, ceramic membrane, açaí, silver, cake layer.

Lista de Ilustrações

Figura 1. Palmeiras de açaizeiro. -----	36
Figura 2. Touceira ou cacho de açaí. A imagem no canto direito corresponde à ampliação do cacho de açaí. -----	36
Figura 3. Corte transversal em um fruto de açaí. -----	36
Figura 4. Micrografia eletrônica da <i>Escherichia coli</i> . -----	42
Figura 5. As estruturas componentes do envoltório de célula Gram-negativa. -----	43
Figura 6. Estrutura do peptidoglicano da <i>E. coli</i> . -----	44
Figura 7. Estrutura básica de uma antocianina. -----	46
Figura 8. Foto ilustrativa da presença de pigmentos (antocianinas) na bebida à base de açaí microfiltrada. -----	47
Figura 9. Principais características dos processos que utilizam diferença de pressão como força motriz. -----	52
Figura 10. Esquema da microfiltração tangencial. -----	54
Figura 11. Fluxo permeado de solvente puro e de solução em filtração tangencial em função do tempo de filtração. -----	54
Figura 12. Esquema da microfiltração perpendicular. -----	55
Figura 13. Variação esquemática no fluxo permeado com o tempo de operação ocasionada por polarização de concentração e incrustação. Operação em escoamento tangencial. -----	71
Figura 14. Resistências à transferência de massa em processo de separação por membrana, -----	

provocadas por incrustações e polarização de concentração, sendo R_a a resistência adicional devido ao fenômeno de adsorção, R_m resistência ao transporte através da membrana, R_p resistência adicional devido ao bloqueio físico de poros, R_g resistência adicional devido à formação de uma camada gel sobre a membrana e R_c resistência adicional devido ao fenômeno de polarização de concentração. -----74

Figura 15. Organograma da metodologia utilizada neste trabalho. -----75

Figura 16. Foto das membranas tubulares (comerciais) com tamanho médio de poro de $0,8\mu\text{m}$ (a) e $1,2\mu\text{m}$ (b). -----76

Figura 17. Reação química do preparo de citrato de metálico. -----77

Figura 18. Membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ após o processo de impregnação de prata. -----79

Figura 19. Foto ilustrativa da unidade de microfiltração tangencial. -----82

Figura 20. Diagrama esquemático da unidade de microfiltração tangencial constituída por: tanque de alimentação (TA); bomba de deslocação positiva (BDP); medidor de fluxo (MF); manômetro (MA); módulo para instalação da membrana (MO); sistema de refrigeração (SR); tanque de refrigeração (TR); bomba centrífuga (BC); inversor de frequência (IF) e controlador de temperatura (CT). -----81

Figura 21. Ilustração da placa Petrifilm ECTM para contagem de *E. coli*. -----85

Figura 22. Matriz de dados do APS-100. -----90

Figura 23. Gráfico do fluxo transmembrana (L/h.m^2) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 3600$ (a), $Re = 3200$ (b) e $Re=2400$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 23a, 23b e 23c) numa única escala (d). -----94

Figura 24. Gráfico do fluxo transmembrana (L/h.m^2) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re=20000$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 24a, 24b e 24c) numa única escala (d). -----98

Figura 25. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a) e $Re = 40000$ (b). Uniformização dos fluxos transmembrana em função do tempo nos dois regimes de escoamento (Figuras 25a e 25b) numa mesma escala (c). ---100

Figura 26. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 26a, 26b e 26c) numa única escala (d). -----103

Figura 27. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----104

Figura 28. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----105

Figura 29. Comparação entre os modelos de bloqueio de poro, constrição de poro e formação da camada polarizada (*cake*) através do fluxo de permeado normalizado em função do tempo adimensional. -----106

Figura 30. Gráfico do fluxo de permeado normalizado (J/J_0) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----107

Figura 31. Gráfico do fluxo de permeado normalizado (J/J_0) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----108

Figura 32. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de bloqueio de poro para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----110

Figura 33. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de bloqueio de poro para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----111

Figura 34. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de formação da *cake* para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de 0,8µm em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----112

Figura 35. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de formação da *cake* para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de 1,2µm em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----113

Figura 36. Comparação entre os modelos de bloqueio de poro, constrição de poro e formação da camada polarizada (*cake*) através da resistência relativa (R/R_m) em função do tempo adimensional. -----115

Figura 37. Gráfico da resistência adimensional (R/R_m) com a bebida à base de açaí em função do tempo de filtração, obtido com a membrana comercial de 0,8µm em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----116

Figura 38. Gráfico da resistência adimensional (R/R_m) com a bebida à base de açaí em função do tempo de filtração, obtido com a membrana comercial de 1,2µm em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). -----117

Figura 39. Porcentagem de retenção de microrganismos (*E. coli*) durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada, utilizando-se a membrana comercial de 1,2µm sem a impregnação da prata. -----118

Figura 40. Porcentagem de retenção de microrganismos (*E. coli*) durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada, utilizando-se a membrana comercial de 0,8µm sem a impregnação da prata. -----119

Figura 41. Porcentagem de retenção dos microrganismos (*E. coli*) ao longo do processo de microfiltração, utilizando-se as membranas de 0,8 e 1,2µm, sem impregnação de prata, em escoamento turbulento, variando-se as velocidades do escoamento e as pressões transmembrana. -----121

Figura 42. Porcentagem de retenção de bactérias (*E. coli*) obtida pela membrana comercial de 1,2 µm sem a impregnação de nanopartículas de prata e com a impregnação de prata (1º experimento; 2º experimento e 3º experimento). -----122

Figura 43. Fotomicrografia da membrana comercial de 1,2µm de tamanho médio de poro, identificando suporte cerâmico e membrana (a); fotomicrografia do suporte cerâmico da estrutura micro-porosa de 1,2µm (b) e fotomicrografia da membrana (c). -----	123
Figura 44. Fotomicrografia da membrana de 1,2 µm impregnada com a concentração 3:1 de citrato de prata com aumento de 2300x (a) e 7000x (b) e suas respectivas análises de EDX (c e d). -----	125
Figura 45. Fotomicrografia da membrana de 1,2 µm impregnada com a concentração 3:2 de citrato de prata com aumento de 300x (a) e sua respectiva análise de EDX (b). -----	126
Figura 46. Fotomicrografia da membrana de 1,2 µm impregnada com a concentração 3:3 de citrato de prata com aumento de 500x (a) e 7000x (b) e suas respectivas análises de EDX (c e d). -----	127
Figura 47. Fotomicrografias da membrana micro-porosa de 1,2µm antes e após o processo de microfiltração da bebida à base de açaí. Imagem lateral da camada do suporte cerâmico e da camada de membrana antes da microfiltração (a); imagem lateral da camada do suporte cerâmico e da camada de membrana após a microfiltração, indicando a camada polarizada sobre a superfície da membrana com aproximadamente 59,59µm (b); imagem frontal da membrana antes da microfiltração (c); e imagem frontal da membrana após a microfiltração, indicando a obstrução dos poros causada pela camada polarizada (d). -----	128
Figura 48. Fotomicrografia da <i>E. coli</i> CCT 0549 na superfície da membrana de 1,2µm, com aumento de 35000x (a), com aumento de 20000x (b) e com aumento de 1000x (c), após o processo de microfiltração da bebida à base de açaí centrifugada. -----	131
Figura 49. Micrografias eletrônicas de Varredura de células de <i>E. coli</i> “in natura” (a) e células tratadas com 50 µg cm ⁻³ de nanopartículas de prata em meio líquido LB por 4 horas (b). --	131
Figura 50. Imagem da interação da bactéria, <i>E. coli</i> , com as nanopartículas de prata. A imagem inserida no canto esquerdo da bactéria corresponde à uma imagem ampliada de uma região da bactéria. -----	132
Figura 51. Imagem da amostra do concentrado (bebida à base de açaí) (a), Imagem da amostra da bebida à base de açaí contaminada (b) e imagem do permeado (c), obtidas através da Microscopia Ótica. -----	134

Figure 52. Foto ilustrativa do permeado (a) e do concentrado (bebida à base de açaí) (b). --134

Figura 53. Imagem das células de *E. coli* CCT 0549 incubadas na bebida à base de açaí. --135

Figura 54. Análise da concentração de antocianina (cianidina-3-glicosídeo) em amostras de concentrado e permeado coletadas durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se membranas comerciais de 0,8µm e 1,2µm, em regimes turbulentos de $Re = 20000$, $Re = 40000$ e $Re = 60000$. -----137

Figura 55. Gráfico da concentração de antocianina em função do tempo (minutos) durante o processo de microfiltração da suspensão de açaí em regime de escoamento de $Re = 3600$ e $Re = 2400$. -----138

Figura 56. Comportamento reológico da bebida à base de açaí. Gráfico da tensão cisalhante ($10^{-1}N/m^2$) em função da taxa de cisalhamento (1/s). -----142

Figura 57. Gráfico da atenuação acústica do permeado, concentrado e água (dB/cm) versus frequência (MHz). -----143

Figura 58. Curvas típicas (diferencial e cumulativa) da distribuição do tamanho de partículas obtidas por espectroscopia de ultra-som para uma amostra da suspensão da bebida à base de açaí (a) e da suspensão da bebida à base de açaí centrifugada (b). -----144

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Teores nutricionais da polpa do açaí (base úmida). -----	38
Tabela 2 – Espécies retidas nos processos de OI, NF, UF e MF. -----	53
Tabela 3 – Microrganismos utilizados para testes de retenção em membranas de microfiltração. -----	57
Tabela 4 – Diluições da solução padrão de ácido gálico para construção da curva de calibração. -----	87
Tabela 5 – Índices de ajuste para correlação linear (%) dos modelos de bloqueio de poro e formação da torta de filtração para as membranas de 0,8µm e 1,2µm nas condições de escoamento de Re = 60000, Re = 40000 e Re = 20000 e nas pressões transmembrana de 1 a 4 bar. -----	114
Tabela 6 – Comprimento e largura das bactérias (<i>E. coli</i> CCT 0549) presentes na imagem da Figura 53. -----	135
Tabela 7 – Análise de polifenóis totais. -----	140
Tabela 8 – Composição química de metais da polpa de açaí (base seca). -----	140
Tabela 9 – Análises térmicas da polpa de açaí. -----	141

Lista de Siglas

APS – *Average Particle Size*

D – diâmetro (m)

Da – Dalton (unidade de medida de massa atômica) – g/mol

DLVO – Teoria do balanço eletrostático entre partículas proposta por Dejarguin, Landau, Verwey e Overbeek

DNA - Ácido desoxirribonucleico

E. coli – *Escherichia coli*

EDX – Energia Dispersiva de Raio-X

FAO – Food and Agricultural Organization

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

J – Fluxo transmembrana (L/h.m^2)

J_0 – Fluxo de permeado inicial (L/h.m^2)

K_c – parâmetro do sistema relativo à resistência devido à formação da camada polarizada

K_m – parâmetro do sistema relativo à resistência da membrana

K_p - parâmetro do sistema relativo à resistência devido ao bloqueio do poro

L_p - constante de proporcionalidade ($\text{m}^3/\text{m}^2.\text{s.Pa}$)

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MF – Microfiltração

MFT – Microfiltração tangencial

NF – Nanofiltração

OI – osmose inversa

OMS – Organização Mundial de Saúde

Pa – Pascal (unidade de medida de pressão)

PG - peptidoglicano

PSM – Processo de Separação por Membrana

R_b – resistência adicional devido ao bloqueio físico de poros (m^{-1})

R_c – diferença entre a resistência total e a soma de R_m e R_d (m^{-1})

R_d – fração da resistência total que seja removida com o simples enxágüe com água ao final do processo (m^{-1})

R_F – resistência devido à incrustação (m^{-1})

R_g – resistência adicional devido à formação de uma camada gel sobre a membrana (m^{-1})

R_m – resistência ao transporte através da membrana (m^{-1})

R_p ou R_{pc} ou R_c – resistência adicional devido ao fenômeno de polarização de concentração (m^{-1})

R_T – Resistência total ao movimento de permeado (m^{-1})

Re – Número de Reynolds

UF – Ultrafiltração

UFC – Unidades formadoras de colônias

UV-Vis – Ultra-violeta visível

VRBA – Violet Red Bile Agar (Ágar vermelho violeta bile)

Lista de Apêndices

Apêndice A – Levantamento da curva de crescimento da <i>E. coli</i> CCT 0549	165
--	-----

Sumário

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	29
1.1. Introdução.....	29
1.2. Objetivos.....	33
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	35
2.1. Açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.).....	35
2.1.1. Extração e produção do açaí.....	37
2.1.2. Importância do açaí	37
2.1.3. Contaminação do açaí.....	38
2.1.4. Presença de polifenóis no açaí.....	45
2.2. Polpas e sucos de frutas	49
2.3. Processo de Microfiltração	51
2.3.1. Microfiltração tangencial e perpendicular	53
2.4. Membrana.....	56
2.4.1. Matéria-prima e morfologia de membranas	57
2.4.2. Manufatura de estruturas micro-porosas	59
2.4.3. Atividade química na membrana.....	60
2.4.4. Vantagens do uso da filtração com membranas	63
2.4.5. Aplicações industriais do uso de membranas	64
2.5. Fenômenos de adsorção e polarização superficial.....	66
2.5.1. Afinidade de solutos macromoleculares e bactérias às superfícies	69
2.6. Modelo de resistência	70
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	75
3.1. Metodologia.....	76
3.1.1. Obtenção das membranas comerciais.....	76
3.1.2. Impregnação de prata (Ag) na membrana de 1,2µm	77
3.1.3. Obtenção da matéria-prima	79

3.1.4. Inoculação de microrganismos na bebida à base de açaí	80
3.1.5. Processo de microfiltração tangencial.....	82
3.1.6. Processo de limpeza.....	84
3.1.7. Análise microbiológica	84
3.1.8. Caracterização da polpa de açaí e permeado	85
3.1.9. Caracterização da membrana e formação da camada polarizada.....	86
3.1.10. Determinação de polifenóis totais e antocianina.....	86
3.1.11. Análise da retenção de sólidos suspensos	89
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
4.1. Análise do fluxo transmembrana	93
4.2. Análise de resistência.....	114
4.3. Análise microbiológica	117
4.4. Caracterização das membranas	122
4.5. Análise e caracterização da impregnação de prata na membrana.....	123
4.6. Análise da formação da camada polarizada.....	127
4.7. Caracterização qualitativa por microscopia ótica do permeado e concentrado	132
4.8. Conteúdo de antocianina cianidina-3-glicosídeo e polifenóis totais.....	136
4.9. Análise físico-química e propriedades térmicas da polpa de açaí	140
4.10. Caracterização do comportamento reológico da bebida à base de açaí	141
4.11. Análise de retenção dos sólidos suspensos	143
5. CONCLUSÕES	145
6. ESTUDOS FUTUROS.....	147
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149

Introdução e Objetivos

1.1. INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira nativa da região norte do Brasil, ocorrendo nos Estados do Pará, Amazonas, Maranhão e Amapá, estendendo-se ainda às Guianas e Venezuela (CALZAVARA, 1972; BOVI; CASTRO, 1993; GAMA et al., 2002). Seu fruto, o açaí, é pequeno, arredondado e contém uma semente que corresponde aproximadamente 80% do seu peso e existe em duas variedades, branco e roxo, mas a última é a que tem valor comercial.

Esta espécie (*Euterpe oleracea* Mart.) possui elevado teor de antocianinas (flavonóides) que são pigmentos naturais responsáveis pela cor do fruto e função antioxidante, o que assegura melhor circulação sanguínea e auxilia na proteção do organismo contra o acúmulo de placas de depósito de lipídeos, causadores da arteriosclerose. Também é rico em minerais, principalmente potássio e cálcio e, dentre as vitaminas, pode ser destacada a vitamina E, um antioxidante natural que atua na eliminação dos radicais livres (EMBRAPA, 2005).

Alguns anos atrás, o consumo e o comércio do açaí estavam restritos a poucas regiões do Brasil devido a sua natureza altamente perecível. No entanto, após o descobrimento e divulgação dos benefícios nutricionais do açaí, pessoas de outros países também se interessaram pelo consumo deste fruto, gerando uma expansão na distribuição do produto e tornando a polpa de açaí e vários produtos derivados deste fruto, amplamente disponíveis ao público em geral (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

A exportação da polpa congelada de açaí, por exemplo, para os Estados Unidos e para a Itália, só foi iniciada em 2000 e, estima-se que em 2003 foram comercializados por volta de US\$ 2,12 milhões, atingindo US\$ 5,49 milhões em 2005, o que correspondeu a aproximadamente de 2 a 3 mil toneladas da bebida (SANTANA, 2006).

Mesmo com as diversas pesquisas existentes e até com a exportação da polpa de açaí, ainda é preocupante a conservação desse alimento, uma vez que os poucos estudos realizados referem-se aos efeitos potencialmente benéficos à saúde (DEL POZO et al., 2006; LICHTENTHALER et al., 2005), e não há estudos que avaliem a sua estabilidade fitoquímica após o processamento e o armazenamento.

As técnicas mais utilizadas na conservação de sucos são: a pasteurização, que elimina os microrganismos patogênicos, e a concentração térmica, na qual há redução da atividade de água do produto (CIANCI et al., 2005). Porém, ambos os processos utilizam temperaturas elevadas que provocam perdas de nutrientes e degradação de cor.

Cassano et al. (2007) afirmaram que na técnica de conservação, concentração térmica, menor atividade de água do suco concentrado em relação ao suco natural é uma clara defesa contra o crescimento de microrganismos e pode prorrogar o prazo de validade do suco. No entanto, o sabor que corresponde a uma das características originais mais importantes da fruta pode-se alterar.

Atualmente, outras tecnologias estão sendo pesquisadas para o aprimoramento da produção de sucos de frutas, polpas e seus derivados, por processos não-térmicos, buscando-se novas alternativas à eliminação de microrganismos, à clarificação de sucos e até mesmo o aprimoramento dos aspectos estéticos através da remoção de sólidos suspensos.

Segundo Cheryan (1998), a tecnologia de separação por membranas pode ser uma alternativa não-térmica à conservação e à clarificação de sucos de frutas, por ser considerada uma tecnologia limpa, que não produz resíduo e não utiliza conservante químico, e assim, torna-se adequada ao processamento de sucos de frutas. Este processo utiliza baixas temperaturas que contribuem para a manutenção das características originais das frutas.

Novas tecnologias têm colaborado ainda mais para a redução de microrganismos. Sondi e Salopek-Sondi (2004) investigaram o efeito bactericida de nanopartículas de prata contra a bactéria *E. coli*, em meio Luria-Bertani (LB). Haneda (2006) implementou a tecnologia de impregnação de nanopartículas de prata em membranas cerâmicas de microfiltração, visando melhorias no tratamento de água residuária da indústria leiteira.

Considerando-se a importância do desenvolvimento de novas técnicas de conservação, clarificação e minimização da degradação dos frutos utilizados na fabricação de sucos, o

presente trabalho teve como objetivo, investigar o desempenho do processo de microfiltração tangencial como um tratamento alternativo ao clássico tratamento térmico, visando à retenção de microrganismos patogênicos e simultânea redução de sólidos suspensos de uma bebida à base de açaí.

Para estudar a retenção de microrganismos no processo de microfiltração tangencial, selecionaram-se membranas cerâmicas de tamanho médio de poro de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$, das quais a membrana de $1,2\mu\text{m}$ foi impregnada com nanopartículas de prata para aprimorar a retenção da *E. coli*, visto que o tamanho médio de seus poros por ser maior que a largura da bactéria não bloqueava as bactérias apenas fisicamente.

A aplicação destas duas estruturas cerâmicas micro-porosas, visando à retenção de microrganismos, pode ser considerada uma tecnologia inovadora, pois no processamento de bebidas, para uma esterilização segura, recomenda-se a utilização de membranas que apresentem tamanho de poro igual ou menor que $0,2\mu\text{m}$ (GROHMANN; FEUERPEIL, 1987; REID et al., 1990; SCHNEIDER; CZECH, 1994; VAILLANT et al, 1999).

Atualmente, um dos grandes objetivos da indústria de alimentos é produzir estes filtrados seguramente esterilizados. Entretanto, o tamanho do poro está diretamente relacionado ao fluxo de permeado, ou seja, quanto menor o tamanho médio do poro, menor será a vazão transmembrana, o que torna o processo inviável para a indústria de bebidas.

Neste contexto, pesquisadores vêm investigando a retenção de microrganismos no processo de microfiltração tangencial, utilizando-se membranas com tamanho médio de poro acima de $0,2\mu\text{m}$. A pesquisa de Girard e Fukumoto (2000), por exemplo, demonstrou que todos os fungos e leveduras e a maioria das bactérias são retidos por membranas de $0,45\mu\text{m}$. Estes autores afirmaram que devido ao desenvolvimento de uma camada gel polarizada, membranas de microfiltração com tamanho de poro de até $0,8\mu\text{m}$ também permitem a produção de filtrados comercialmente estáveis.

Ushikubo et al. (2007) e Paula et al. (2004) investigaram o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se um tratamento enzimático para promover aumentos na vazão transmembrana no processamento de suco de umbu e maracujá, respectivamente. Entretanto, no presente trabalho, o processo é investigado sem tratamento enzimático, uma vez que uma membrana comercial de tamanho médio de poro de $1,2\mu\text{m}$ é utilizada.

Quanto ao mecanismo de retenção e transferência, programou-se a impregnação de nanopartículas de prata na microestrutura porosa para análise da sua influência na retenção de bactérias, bem como na formação do fenômeno de polarização junto à superfície da membrana.

Vale mencionar que não há pesquisas relacionadas ao uso de nanopartículas de prata em estruturas micro-porosas para retenção de microrganismos, ainda mais originárias de um processo de impregnação (capilaridade), utilizando-se uma solução de citrato de prata na concentração de 1 mol de ácido cítrico para 1 mol de nitrato de prata.

Para avaliar o desempenho fluidodinâmico do processo, investigaram-se a redução do fluxo transmembrana durante o processo de microfiltração tangencial, a resistência das membranas ao transporte de permeado, a influência da variação da pressão transmembrana e do regime de escoamento (número de Reynolds), e a possível variação da concentração da antocianina (cianidina-3-glicosídeo).

1.2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é investigar o desempenho do processo de microfiltração tangencial aplicado à retenção de microrganismos e redução de sólidos suspensos da bebida à base de açaí, utilizando-se membranas comerciais de α -alumina (Al_2O_3).

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- i) Investigar o fenômeno de polarização junto à superfície das membranas comerciais de 0,8 μm e 1,2 μm no processo de microfiltração da bebida à base de açaí;
- ii) Analisar e quantificar a retenção de microrganismos (*E. coli* CCT 0549) no processo de microfiltração, utilizando-se membranas cerâmicas de tamanho de poros de 0,8 μm e 1,2 μm ;
- iii) Avaliar o processo de microfiltração tangencial quanto à redução de sólidos suspensos, presentes na complexa composição do fluido (bebida à base de açaí), e verificar possíveis variações na concentração de polifenóis totais e antocianina (cianidina-3-glicosídeo);
- iv) Desenvolver e aplicar a tecnologia de impregnação de nanopartículas de prata nas membranas e verificar sua influência como material bactericida na redução dos microrganismos;
- v) Quantificar os parâmetros fluidodinâmicos: número de Reynolds (Re), vazão transmembrana e pressão transmembrana (bar), no modelo de resistência para a formação da camada polarizada.

Revisão Bibliográfica

Neste capítulo, Revisão Bibliográfica, foram expostos os temas e aspectos mais relevantes para a compreensão deste trabalho, iniciando-se pela caracterização do açaí, produção de polpa e suco, posteriormente abordando-se o processo de microfiltração tangencial, membrana, relevância da impregnação de material bactericida e fenômeno de polarização (*cake layer*).

2.1. AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA* MART.)

O açaizeiro encontra-se classificado botanicamente na divisão *Magnoliophyta* (= *Angiospermae*), classe *Liliopsida* (= *Monocotyledoneae*), subclasse *Arecidae* (= *Espadiciflorae*), super-ordem *Arecanae*, ordem *Arecales* (= *Principes*), família *Arecaceae* (= *Palmae*), subfamília *Ceroxylineae*, gênero *Euterpe* (HENDERSON; GALENO, 1996). Ele é uma espécie tipicamente silvestre, que faz parte da vegetação florística das matas de terra firme, várzea e igapó (terrenos constantemente alagados). O caule é liso, delgado, atingindo de 25 a 30 metros de altura (Figura 1). Seu fruto cresce em touceiras (Figura 2), formadas por sucessivas brotações a partir de uma unidade de dispersão.

O açaí é uma drupa globosa (Figura 3), pesando de 0,8g a 2,3g e diâmetro de 1,0 a 2,0cm, verde brilhante quando imaturo e violáceo ou verde opaco quando maduro, contendo mesocarpo fino, de 1 a 2mm de espessura, de coloração variável e parte comestível variando de 5% a 15% do fruto (CAVALCANTE, 1991; ROGEZ, 2000).

Figura 1. Palmeiras de açazeiro. Fonte: www.cnr.berkeley.edu.

Figura 2. Touceira ou cacho de açai. A imagem no canto direito corresponde à ampliação do cacho de açai.
Fonte: <http://minhasfrutas.blogspot.com/2008/12/pragas-do-aai-e-seus-metdos-de-controle.html>.

Figura 3. Corte transversal em um fruto de açai. Fontes: <http://www.alibaba.com/member/gilllcmoreira.html> e http://www.universaltaste.com/acai_br.htm.

Essa palmeira é tipicamente tropical e de distribuição ampla, ocorrendo no norte da América do Sul, Panamá, Equador e Trinidad, onde recebe diferentes denominações (HENDERSON; GALENO, 1996). No Brasil, esta espécie encontra-se bem representada na região Amazônica, mais precisamente nos estados do Pará, Amapá e Maranhão, além de Tocantins e Mato Grosso (CALZAVARA, 1972). Guiana Francesa, Suriname, Venezuela e Colômbia são outros países onde há relatos de sua ocorrência (HENDERSON; GALENO,

1996).

2.1.1. EXTRAÇÃO E PRODUÇÃO DO AÇAÍ

Dos frutos do açaizeiro é extraído o vinho, polpa ou simplesmente açaí, como é conhecido no Brasil. Com este produto são fabricados sorvetes, sucos, licores, doces, néctares e geléias, podendo ser aproveitado, também, para a extração de corantes e antocianina (TINOCO, 2005).

Segundo o IBGE, a produção de açaí, em 2006, somou 101.341 toneladas, sendo 3,4% menor que a de 2005. O principal produtor é o Pará (87,4% do total). Os municípios paraenses de Limoeiro do Ajuru, Ponta de Pedras, Igarapé-Miri, Oeiras do Pará, Muaná, São Sebastião da Boa Vista, Mocajuba, Barcarena, Cachoeira do Arari e Inhangapi corresponderam por 68,5% da produção nacional. No entanto, a produção de frutos da palmeira de açaí cresceu 6,6% em 2007, totalizando 108.033 toneladas, sendo 6,6% maior que a de 2006. O principal produtor foi o estado do Pará, que na temporada 2007 concentrou 86,8% da produção nacional.

No Pará, encontram-se dezessete dos vinte maiores municípios produtores de frutos de açaizeiros nativos do País: Limoeiro do Ajuru, Ponta de Pedras, Oeiras do Pará, Muaná, Igarapé-Miri, São Sebastião da Boa Vista, Mocajuba, Barcarena, Cachoeira do Arari, Inhangapi, Magalhães Barata, São Domingos do Capim, São Miguel do Guamá, Irituia, Marapanim, Óbidos e Abaetetuba.

No Maranhão, os destaques foram os municípios de Luís Domingues, Carutapera e Amapá do Maranhão. Em conjunto, os vinte maiores municípios produtores responderam, em 2007, por 83,7% da produção nacional de frutos de açaí nativo. Em 2003, a produção de açaí, de acordo com a Pesquisa do IBGE, chegou a 144.531 toneladas.

2.1.2. IMPORTÂNCIA DO AÇAÍ

O interesse pela implementação da produção de frutos tem se dado pelo fato do açaí, antes destinado totalmente ao consumo local, ter conquistado novos mercados e se tornado importante fonte de renda e de emprego. A venda de polpa congelada, para outros estados brasileiros, vem aumentando significativamente com taxas anuais superiores a 30%, podendo chegar a cerca de 12 mil toneladas. As exportações do açaí na forma de polpa ou de mix, para

outros países, ultrapassam mil toneladas por ano (EMBRAPA, 2005).

Segundo Carneiro (2000), a polpa de açaí, como é denominada comercialmente, passava somente por um processo de despulpamento mecânico e posterior congelamento, o que encarecia o produto vendido fora do seu principal estado produtor, o Pará. Um dos principais fatores responsáveis pela perecibilidade do açaí era e é ainda a grande carga microbiana presente no fruto. Além disso, outras variáveis que estão sendo levadas em consideração são a manipulação, o transporte e a água utilizada no processo de extração. Como muitas vezes não se conhecia exatamente a procedência, nem como era realizado o processo de despulpamento do fruto, tornava-se ainda mais difícil garantir a qualidade do produto.

No entanto, a produção anual de frutos se mantém por volta de 160 mil toneladas, mas é esperado sensível aumento quando as áreas de cultivo e de manejo apresentarem níveis satisfatórios de produtividade, estimados em 8 toneladas por hectare. Do total colhido, cerca de 20% é consumido como alimento básico pelas famílias no local de produção (EMBRAPA, 2005).

Esta importância econômica, juntamente com os valores nutricionais da polpa do açaí (Tabela 1), vêm incentivando diversos pesquisadores a explorarem cada vez mais as características desta fruta. Entretanto, nas pesquisas publicadas até o momento, ainda não há relatos de como reduzir a contaminação e elevar o tempo de vida de prateleira dos produtos sem alterar as características originais da fruta, ou seja, sem utilizar tratamentos térmicos.

Tabela 1– Teores nutricionais da polpa do açaí (base úmida). Fonte: NOGUEIRA et al. (1995).

Componentes	%
Proteína	2,37
Gordura	5,96
Cálcio	0,05
Fósforo	0,033
Ferro	0,0009
Vitamina A	Traços
Vitamina B1	Traços

2.1.3. CONTAMINAÇÃO DO AÇAÍ

De acordo com Nogueira et al. (1995), a polpa do açaí é altamente suscetível à deterioração microbiana e físico-química, uma vez que possui atividade de água elevada e

contém nutrientes que podem atuar como meio de cultura para muitos microrganismos.

Segundo Alexandre et al. (2004), a alta carga microbiana e a degradação enzimática são responsáveis pelas alterações de cor e pelo aparecimento do sabor azedo, tornando o tempo máximo de conservação do açaí de 12 horas, mesmo sob refrigeração. Atualmente, a conservação do açaí é feita pelo processo de congelamento, o que eleva significativamente o custo do produto.

Neste contexto, cabe ressaltar que só na capital do Estado do Pará, o número estimado de estabelecimentos que beneficiam o açaí chega a 3000 durante o pico de safra. No entanto, na maioria dos estabelecimentos paraenses, a produção artesanal não atende aos quesitos necessários para garantir a sanidade e qualidade do produto (EMBRAPA, 2005).

Os frutos do açaí perdem a sua qualidade gradativamente após a colheita. Desta forma, a contaminação do açaí está diretamente relacionada aos procedimentos de colheita e à própria carga microbiana natural contida na fruta, a qual é elevada nos estabelecimentos de produção e comercialização deste produto regional (NOGUEIRA et al., 1995; MELO et al., 2009)

Antes da comercialização, o açaí passa por diversas etapas de processamento, onde os cuidados e precauções relacionados à contaminação são essenciais para se evitar ou ao menos minimizar o processo de degradação do fruto. Por exemplo, a etapa de debulha deve ser feita sobre lonas ou plásticos, ou ainda diretamente nas caixas de plástico, evitando o contato direto dos frutos com o solo ou com qualquer outro contaminante como: combustíveis ou produtos químicos. Nessa operação, é feita a seleção visual e a eliminação de frutos atacados por insetos, doenças ou animais e daqueles contaminados por material fecal de aves (EMBRAPA, 2005).

Na etapa de pós-colheita, a preservação dos frutos do açaizeiro pode ser prolongada mantendo-os em ambientes com temperatura em torno de 10°C (EMBRAPA, 2005).

Sendo os frutos de açaizeiro muito perecíveis, precisam ser despulpados no tempo máximo de 24 horas, após a colheita, quando estocados sob temperatura ambiente. O processo de degradação é acelerado, principalmente, pela temperatura elevada nas áreas de produção e comercialização, o que torna a proteção contra radiação solar direta um fator importante para evitar a perda excessiva de água, prejudicial a despulpa, pois provoca a diminuição do

rendimento e o açaí obtido apresentará cor inadequada, com restrições da aceitabilidade quando da comercialização (EMBRAPA, 2005).

Na linha de produção de um processo industrial, as frutas são lavadas em água clorada (aproximadamente 8 a 12 ppm de cloro livre) com o objetivo de serem retiradas terra e outras impurezas aderidas ao produto, diminuindo os problemas relacionados com a contaminação microbiana (EMBRAPA/SEBRAE, 1997; DOWNES, 1995).

Na etapa de transporte, o horário matutino (temperatura amena) é indicado, visto que altas temperaturas propiciam o aumento da transpiração, gerando perda de aparência, textura e peso dos frutos. Esta perda de peso é provocada pelo processo de transpiração, em consequência do déficit de pressão de vapor (DPV) existente entre os tecidos internos das frutas e o ambiente externo (KLUGE et al., 1999). O transporte refrigerado é uma condição fundamental para prolongar a vida útil do produto minimamente processado, pois retarda o crescimento da maioria dos microrganismos, sendo também eficaz na redução da atividade enzimática que degrada a qualidade das frutas (CENCI, 2010).

Na região Amazônica, onde o meio de transporte mais utilizado é o fluvial, após a descarga, a embarcação utilizada para o transporte de frutos de açaizeiro, é limpa, como medida preventiva à propagação de microrganismos ou pragas, evitando danos aos próximos lotes a serem transportados.

Entretanto, além das preocupações de contaminação durante estas etapas de produção, atenção deve ser dispensada durante as pesquisas para o tempo de vida de prateleira e para a contaminação dos produtos derivados desta fruta para que sejam comercializados adequadamente (sem riscos de contaminação).

2.1.3.1. Contaminação por coliformes

A contaminação proveniente de microrganismos do grupo coliforme é uma das mais preocupantes para a indústria de alimentos.

Os coliformes são microrganismos divididos em dois grandes grupos: coliformes totais e coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*).

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que, segundo a 2ª. Edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (BRENNER &

FARMER III, 2005), inclui 44 gêneros e 176 espécies. No grupo dos coliformes totais incluem-se as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. De acordo com Silva et al. (2007), mais de 20 espécies se encaixam nessa definição, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrintestinal de humanos e outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras).

O grupo dos coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 45,5°C, com produção de gás. Esta capacidade de fermentar a lactose pode ser verificada pela formação de gás e/ou ácido, nos meios de cultivo contendo lactose.

Podemos destacar como exemplo clássico dos coliformes, a bactéria *Escherichia coli*.

Escherichia coli

Segundo Silva et al. (2007), a *E. coli* (Figura 4) é incluída tanto no grupo dos coliformes totais quanto nos coliformes termotolerantes. Seu habitat natural é o trato intestinal de animais de sangue quente, embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais.

A *Escherichia coli* é formada por seis elementos químicos essenciais: enxofre (0,3%), fósforo (0,6%), nitrogênio (3,0%), carbono (12,1%), hidrogênio (9,9%) e oxigênio (73,7%). Tais elementos não são encontrados isolados, pois seus átomos agrupam-se formando moléculas, tais como a água (70%), proteínas (15%), RNA (6,0%), açúcares (3,0%), gorduras (2,0%), DNA (1,0%), sais inorgânicos (1,0%) e outros (2,0%) (BIOMANIA, 2009).

A água, os sais, o oxigênio e o gás carbônico são substâncias inorgânicas que se caracterizam pela pequena complexidade e pela baixa quantidade de energia que possuem. As substâncias orgânicas, tais como proteínas, açúcares, gorduras e ácidos nucleicos, geralmente são complexas e ricas em energia.

A distribuição de ânions e de cátions dentro e fora da célula estabelece uma diferença de cargas elétricas nas duas faces da membrana plasmática. Na face externa, a quantidade de partículas com carga positiva é maior que a de partículas com cargas negativas, e o inverso se observa na face interna. A membrana se assemelha, portanto, a uma *pilha elétrica*: tem uma

face positiva e uma face negativa (BIOMANIA, 2009).

Entretanto, quanto à estrutura da membrana, a *Escherichia coli* é classificada como uma bactéria Gram-negativa, ou seja, ela exibe somente uma fina camada de peptidoglicano (2 ~ 3nm) entre a membrana citoplasmática e a membrana externa (Figura 5) (MURRAY, 1965).

De acordo com Fox (2009), no envoltório da célula Gram-negativa, a lipoproteína de Braun que conecta a membrana externa à parede celular está covalentemente ligada ao delgado peptidoglicano. Assim como outras membranas, a membrana externa contém proteínas e fosfolípidios. Diferentemente de outras membranas, esta contém moléculas adicionais (lipopolissacarídeos).

O lipopolissacarídeo é importante para a bactéria uma vez que ajuda a prover uma barreira de permeabilidade à substâncias hidrofóbicas. O lipopolissacarídeo consiste em três regiões: um antígeno O, uma parte central e uma região interna de lipídio A. A parte central contém alguns açúcares, como heptoses e cetodeoxioctanato, sendo este último não encontrado em outro lugar na natureza, e lipídio A contém ácidos graxos β -hidroxílicos (incomuns na natureza). A molécula exibe atividade endotóxica. Porinas na membrana externa ajuda a formar canais que permitem a passagem de nutrientes de baixo peso molecular e hidrófilos (tais como açúcares) através da membrana externa (FOX, 2009).

Figura 4. Micrografia eletrônica da *Escherichia coli*. Fonte: www.cbs.dtu.dk/.../MScourse/Lekt.17.04.2001.html.

Figura 5. As estruturas componentes do envoltório de célula Gram-negativa.

Fonte: pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chapter_4_bp.htm.

O peptidoglicano é uma única macromolécula de forma sacular, rica em ligações cruzadas que cerca a membrana celular bacteriana conferindo rigidez. Possui elevado peso molecular (bilhões) em comparação com proteínas, cujo peso molecular é na ordem de milhões. Peptidoglicano consiste em um esqueleto de glicano (polissacarídeo) que consiste em ácido N-acetil murâmico e N-acetil glicosamina com cadeias laterais de peptídeos contendo aminoácidos D- e L- e às vezes ácido diaminopimélico. As cadeias laterais fazem ligações cruzadas por pontes peptídicas. Essas pontes variam em estrutura entre espécies bacterianas. Ácido murâmico, ácidos D-amino e ácido diaminopimélico não são sintetizados por mamíferos. PG é encontrado em todas as eubactérias exceto *Clamídia* e *Micoplasma*. Para termos uma idéia, na Figura 6 é apresentada a estrutura do peptidoglicano de *E. coli*.

De acordo com Habert et al. (2006), os polissacarídeos apresentam massa molar variando de 10^3 a 10^6 Da e tamanho entre 2 e 10 nm, enquanto o tamanho das células bacterianas varia de 300 a 10^4 nm.

Figura 6. Estrutura do peptidoglicano de *E. coli*. Fonte: pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chapter_4_bp.htm.

Cabe ressaltar que existem várias linhagens de *E. coli* e, portanto, algumas características como o comprimento e a largura da estrutura das espécies podem variar bastante. De acordo com os estudos apresentados por Osiro et al. (1998), as *E. coli* BRL, por exemplo, apresentaram comprimento variando entre 1,6 e 7,6µm, enquanto a largura variou entre 0,8µm e 1,6µm.

Indicador de contaminação

Em 1982, na Austrália e, em 1985, nos Estados Unidos, a *E. coli* foi introduzida como indicador da contaminação da água por material fecal. No entanto, a premissa de que altos números de *E. coli*, coliformes termotolerantes, coliformes totais ou enterobactérias em alimentos estão correlacionados com contaminação fecal já não é válida, por três razões fundamentais (SILVA et al., 2007).

1. *E. coli*, coliformes termotolerantes, coliformes totais ou enterobactérias não são habitantes obrigatórios do trato intestinal de animais de sangue quente, podendo ser encontrados em reservatórios ambientais;
2. Esses organismos são comuns nos ambientes de manufatura de alimentos, podendo se tornar parte da microbiota residente (principalmente se as condições de limpeza são inadequadas);
3. Várias cepas de *E. coli*, coliformes ou enterobactérias podem crescer em alimentos

refrigerados.

Com base nesses fatos, a FAO (*Food and Agricultural Organization*) e a OMS (Organização Mundial da Saúde) concluíram que não é possível avaliar a segurança (inocuidade) de alimentos em função dos níveis de *E. coli*, coliformes termotolerantes, coliformes totais ou enterobactérias. Um alto índice desses microrganismos pode estar, em certas circunstâncias, relacionado com uma maior probabilidade de presença de patógenos entéricos, porém, frequentemente não está. Da mesma forma, sua ausência nem sempre significa que os produtos estejam livres de bactérias entéricas patogênicas. As principais aplicações desses microrganismos como indicadores, na verdade são:

a.) Enterobactérias e coliformes – indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação porque são facilmente inativados pelos sanitizantes e capazes de colonizar vários nichos das plantas de processamento, quando a sanitização é falha.

b.) Coliformes – indicadores de falha de processo ou de contaminação pós processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico.

c.) *E. coli* – indicador de contaminação fecal em alimentos “in natura”, mas não em alimentos processados.

2.1.4. PRESENÇA DE POLIFENÓIS NO AÇAÍ

Os polifenóis são compostos caracterizados pela presença de anéis aromáticos (fenóis) ligados a grupos hidroxilas, que compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos encontrados nos vegetais, sendo subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química de cada substância (ARTS; HOLLMAN, 2005; FALLER; FIALHO, 2009).

Uma das estruturas polifenólicas mais importantes corresponde aos flavonóides, estrutura química constituída de dois anéis aromáticos que são ligados por uma cadeia de três átomos de carbono, que formam um heterociclo oxigenado, subdivididos nas seguintes classes: antocianinas, flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavononas (VOLP et al., 2008).

Como mencionado no Capítulo 1, o açaí é uma excelente fonte de antocianinas, pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas e brilhantes de frutas, flores, órgãos de reserva e folhas, nas quais são acumuladas nos vacúolos das células epidérmicas,

sub epidérmicas e no mesófilo (MARTINS, 2004). Estas cores variam do vermelho alaranjado (ex. morango) ao roxo (ex. açaí e uva) passando pelo vermelho vivo (ex. cereja vermelha e jabolão).

A estrutura básica das antocianinas é formada pelo cátion 2-fenilbenzopirílium (flavílium):

Figura 7. Estrutura básica de uma antocianina. Adaptado da Fonte: SUN et al. (2009).

O núcleo flavílio da antocianina é caracterizado por uma estrutura de ressonância responsável pela forte reatividade e os seus grupos funcionais adjacentes influenciam a sua estabilidade (ALBARICI et al., 2006).

De acordo com Bobbio e Bobbio (2003), as antocianinas são obtidas facilmente por extração a frio com metanol ou etanol fracamente acidificado com ácido clorídrico. Algumas das antocianinas são lábeis e se decompõem em presença de ácidos minerais e, neste caso, a extração deve ser feita com solventes acidificados com ácidos acético ou cítrico.

Segundo Martins (2004), as antocianinas fazem parte de um grupo de pigmentos hidrossolúveis visíveis ao olho humano (Figura 8). Quimicamente, consistem de flavonóides (antocianidinas) glicosilados e em muitos casos de grupo(s) acil. Os radicais de açúcar são representados por unidades de glucose (mais comum) ou de outros monossacarídeos. O açúcar aumenta a estabilidade e solubilidade da antocianina.

Figura 8. Foto ilustrativa da presença de pigmentos (antocianinas) na bebida à base de açai microfiltrada.

As antocianinas apresentam uma absorvância intensa na região compreendida entre comprimentos de onda de 465 a 550 nm, (Banda I) e uma absorbância muito menos intensa na região entre 270 e 280 nm (Banda II), sendo os espectros bastante característicos para a identificação desses pigmentos, quando puros. A posição dos picos varia consideravelmente com a mudança do solvente e do pH das soluções. O aumento da oxidação no anel B (Figura 7) desloca o máximo de absorbância da Banda I para comprimentos de onda maiores. A adição de cloreto de alumínio também tem efeito batocrômico nas antocianinas contendo hidroxilas vicinais (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Em relação as suas propriedades químicas, as antocianinas são anfóteras e a pH baixos, quando colocadas em campo elétrico migram para o cátodo. Em diferentes pH esses pigmentos se encontram em diferentes formas e apresentam cores diversas. Em meio ácido as antocianinas se encontram na forma de sais de oxônio e são geralmente de cor vermelha brilhante. Com o aumento do pH das soluções, as antocianinas passam a ter uma estrutura quinoidal, púrpura, e em meio alcalino a cor muda para azul (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Cabe ressaltar que estes equilíbrios podem ser afetados por luz, calor e outros fatores, razão pela qual nem sempre é possível se determinar quais as estruturas existentes em determinado pH.

Neste contexto, diversos pesquisadores vêm quantificando o conteúdo de antocianinas presentes nos frutos do açazeiro, no entanto, os valores encontrados variam entre as pesquisas realizadas.

Iaderoza et al. (1992) verificaram que o conteúdo de antocianinas nos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*) é de 336 mg /100 g e dos frutos do palmitero (*E. edulis*) é de

1.347 mg /100 g. Este estudo indica que os frutos do palmitero apresentam uma concentração em antocianinas quatro vezes superior aos frutos de açazeiro do norte do país.

Bobbio et al. (2000) encontraram teor de antocianina de 50 ± 5 mg por 100g de frutos manual e cuidadosamente descascados. Os autores afirmaram que é possível a separação da casca do fruto sem danos significativos ao mesmo, uma vez que a retirada da casca é facilitada pela pouca aderência à polpa. Eles afirmaram que a quantidade de casca representou 19% do peso do fruto, e portanto, o teor de antocianinas totais no caso do fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea*) correspondeu a 263mg/100g casca.

Gallori et al. (2004) investigaram a composição polifenólica da espécie *Euterpe oleracea* Mart. por HPLC-DAD-UV-vis e HPLC-MS, confirmando-se a presença de cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo como principais compostos antociânicos. Estes autores relataram que a quantidade total de antocianinas foi de 0,5mg/g de polpa seca e de outros flavonóides foi de 3,5mg/g de polpa seca. Pacheco-Palencia et al. (2007) também verificaram através do método HPLC, $729 \pm 3,4$ mg/L de concentração inicial de antocianinas e observaram que as antocianinas predominantes na polpa de açaí foram: cianidina-3-glicosídeo ($75 \pm 4,8$ mg/L) e cianidina-3-rutinosídeo ($202 \pm 5,8$ mg/L).

de Rosso et al. (2008) determinaram a concentração de antocianina do açaí pelo método HPLC-PDA-MS/MS. Os autores observaram a predominância da cianidina-3-glicosídeo e da cianidina-3-rutinosídeo, verificando-se 282-303 mg/100g de antocianinas totais na polpa de açaí.

Recentemente, Pacheco-Palencia e Talcott (2009), através de análises conduzidas pelo método de HPLC ESI MSⁿ, observaram que dentre os componentes polifenólicos presentes nos frutos das espécies *Euterpe oleracea* e *E. Precatoria*, as antocianinas se destacaram, apresentando as seguintes concentrações 22147 ± 23 mg/kg e $3,458 \pm 16$ mg/kg, respectivamente.

Outros métodos de identificação e quantificação da concentração da antocianina vêm sendo pesquisados. Kuskoski et al. (2006), utilizando o método da diferença de pH, verificaram que o teor de antocianinas totais na polpa de açaí é de 22,8mg/100g de peso de matéria fresca. No entanto, baseando-se no mesmo método, Albarici et al. (2007) encontraram o valor de 92,8mg/100g de polpa de açaí liofilizada.

Este interesse pela quantificação da antocianina dos frutos de açaí deve-se, dentre outros fatores, à busca pela comprovação dos diversos efeitos benéficos à saúde, visto que as ações fisiológicas exercidas pelos polifenóis já foram relacionadas à prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, entre outras, principalmente em função da elevada capacidade antioxidante (HOLLMAN; KATAN, 1999).

De acordo com Coisson et al. (2005), as principais bioatividades das antocianinas são suas atividades antioxidantes e anti-radicalares. Outras pesquisas (WANG et al., 1997 e DA SILVA, 2002) também reconheceram as mesmas propriedades vasotônicas, vaso protetoras, aumentando a resistência dos capilares sanguíneos, anti-trômbicas, ao impedir a agregação de plaquetas e antineoplásicos, podendo estar correlacionada ao poder antioxidante, encontrado nos flavonóides.

Segundo Rogez (2000), as antocianinas são antioxidantes e anti-radical livre, retardam o envelhecimento, prolongam a vida das células, aumentam as defesas imunitárias, propiciam uma melhor circulação sanguínea, protegem o organismo contra o acúmulo de lipídeos nas artérias. Possuem a capacidade de adiar as perdas de visão, e diminuem os efeitos da doença de Alzheimer.

Pozo-Insfran et al. (2004) afirmaram que as antocianinas são uma alternativa viável para a substituição de corantes sintéticos devido a seu grande número de conjugações, cores atrativas e sua solubilidade em água, o que permite sua incorporação em uma grande variedade de produtos alimentícios.

2.2. POLPAS E SUCOS DE FRUTAS

A polpa e o suco são dois produtos obtidos a partir da fruta com grande importância para a indústria de alimentos. Entretanto, o processamento de ambos os produtos possui peculiaridades interessantes.

A polpa pode ser definida como um produto obtido pelo esmagamento da parte carnosa comestível da fruta (despolpamento) por processos tecnológicos adequados (EMBRAPA/SEBRAE, 1997).

Após a extração da polpa, esta pode ser envasada a quente, ou com a utilização de conservantes, ou ainda congelada. A operação de congelamento deve ser realizada no menor

espaço de tempo possível, a fim de se manter a qualidade do produto final. Entretanto, é importante ressaltar que a polpa deve ser mantida congelada até o momento do seu consumo. A temperatura recomendada para seu armazenamento, em câmaras frigoríficas, varia de -18°C a -25°C. *Freezers* domésticos também podem ser utilizados, porém como a temperatura interna deste equipamento atinge somente a faixa de -8°C a -10°C, estes produtos terão um tempo de vida de prateleira menor (EMBRAPA/SEBRAE, 1997).

Para comercialização, as polpas não devem conter resíduos de cascas ou sementes e devem apresentar cor, aroma e sabor característicos (EMBRAPA/SEBRAE, 1997).

Após a obtenção da polpa, o processamento de suco de frutas basicamente é realizado através de etapas de inativação enzimática, prensagem, refino ou clarificação, desaeração, pasteurização, formulação, envase e armazenamento (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Os sucos de frutas são os derivados mais importantes de várias frutas, sendo bem aceitos por seu sabor e por suas propriedades nutritivas (SANTIN, 2004).

Segundo as literaturas (EMBRAPA/SEBRAE, 1997; ASHURST, 1998), o suco de fruta é o líquido límpido ou turvo extraído da fruta, através de processo mecânico adequado, não fermentado, de cor, sabor e aroma característicos da fruta do qual ele é extraído.

Atualmente, a aplicação de membranas no processamento de polpas de frutas brasileiras não está sendo orientada simplesmente para a obtenção de sucos clarificados, pois o mercado nacional requer principalmente sucos polposos. A reconstituição de sucos por reincorporação da fração retida pasteurizada é possível e foi demonstrada em suco de laranja (Pallet et al., 2005).

Para compreender a importância do suco de frutas para a indústria de alimentos, um indivíduo ingere cerca de 700 litros de líquidos por ano, sendo que 150 litros são de água, enquanto os 550 litros restantes correspondem a bebidas como sucos de frutas e bebidas lácteas, chás gelados, água mineral, bebidas isotônicas e refrigerantes (DE SÁ e CAIXETA FILHO, 2002).

Só no Brasil, o consumo de bebidas cresce cerca de 40% durante o verão, o que tem um impacto direto no setor de suco de frutas. O consumo anual *per capita* de sucos de frutas no Brasil é da ordem de 12 litros/hab/ano, na Europa, em média, consomem-se 24 litros/hab/ano,

na Holanda, consomem-se 26,5 litros *per capita* por ano, nos Estados Unidos, consomem-se 28 litros/hab/ano, enquanto na Áustria, consomem-se 34 litros/hab/ano (de SÁ; CAIXETA FILHO, 2002).

Mesmo com todo esse consumo, existem diversas preocupações como, por exemplo, a turbidez e os sedimentos dos sucos. De acordo com Lea (1995) e Borges (1998), dependendo do tipo e exigências do mercado consumidor, a obtenção de sucos de frutas clarificados e totalmente isentos de depósitos se torna necessária. Além da preocupação com as características sensoriais e estéticas, atenção é dispensada à qualidade microbiológica dos sucos, pois ela também é causadora de alterações na cor e sabor.

Cabe ressaltar que a turbidez e sedimentos dos sucos ocorrem devido à presença de materiais insolúveis como fragmentos celulares provenientes diretamente do tecido polposos, pectinas, amidos, polimerização de fenóis ou componentes não perfeitamente dissolvidos (SANTIN, 2004).

Os processos de conservação de derivados de frutas mais aplicados atualmente utilizam temperaturas elevadas que comprometem as características originais das frutas. Porém, processos como a microfiltração e a ultrafiltração, estão sendo vastamente pesquisados como alternativa de tratamento não-térmico, aplicado à retenção de microrganismos e à clarificação de sucos de frutas.

2.3. PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO

A microfiltração teve origem na Alemanha pouco antes da I Guerra Mundial e era utilizada nos laboratórios em escala reduzida (ZEMAN; ZYDNEY, 1996; MULDER, 2000), sendo considerada como um processo de separação por membranas em que a força motriz é a diferença de pressão através da membrana e os poros da mesma.

Embora os processos de separação com membranas (PSM) como diálise e microfiltração já fossem conhecidos e utilizados em pequena escala, desde 1930, eles não evoluíram para uma escala industrial mais sólida devido, principalmente, aos baixos fluxos permeados resultantes das elevadas espessuras das membranas disponíveis (HABERT et al., 2006).

De acordo com Queiroz (2004), a microfiltração é um processo que utiliza o gradiente

de pressão como força motriz, junto a uma superfície permeável (membrana) que visa a separação de partículas. Neste caso, a membrana está sujeita a um gradiente de pressão para conduzir o solvente e as pequenas espécies através de seus poros, enquanto as moléculas maiores ficam retidas. Assim, uma vazão de alimentação é dividida em duas, a vazão do concentrado que será enriquecida de macromoléculas retidas e a vazão de permeado que será deficiente ou isenta de macromoléculas.

Na Figura 9 são apresentadas as principais características dos processos de separação com membrana (microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa) que utilizam a pressão como força motriz.

No mecanismo de filtração realizado por exclusão física de partículas com o tamanho maior do que a porosidade das membranas, não ocorre passagem de partículas com tamanho maior do que os poros. Na prática, entretanto, partículas com tamanho muito menor do que os poros são retidas nas membranas com grande eficiência devido à torta de filtro (*cake layer*) (PELEGRIN, 2004).

Figura 9. Principais características dos processos que utilizam diferença de pressão como força motriz. Adaptado da Fonte: HABERT et al. (2006).

De acordo com a literatura (CHERYAN, 1998), a faixa de tamanho de partículas que caracteriza a microfiltração está projetada para reter partículas na faixa de “micron”, ou seja, partículas suspensas na faixa de $0,10 \mu m$ até aproximadamente $5 \mu m$ (partículas maiores do que $5-10 \mu m$ são melhor separadas utilizando-se métodos convencionais de filtração de torta).

Porém, para Madaeni e Yeganeh (2003), a microfiltração é geralmente definida como a filtração de uma suspensão contendo colóides ou finas partículas com dimensões lineares que variam de aproximadamente 0,02 à 10µm.

Segundo Habert et al. (2006), a microfiltração é um processo de separação que utiliza membranas micro-porosas com poros na faixa entre 0,1 e 10µm (100 e 10.000 nm), sendo, portanto, indicado para a retenção de materiais em suspensão e emulsão. Desta forma, os maiores mercados da microfiltração são: esterilização de líquidos e gases; aplicações na medicina; aplicações na biotecnologia e na purificação de fluidos.

Na Tabela 2 são apresentadas as principais espécies retidas nos diferentes processos de filtração com membranas, incluindo o processo de microfiltração, bem como, as dimensões características dessas espécies.

Tabela 2 – Espécies retidas nos processos de OI, NF, UF e MF.

Espécie	Massa molar (Da)	Tamanho (nm)	Processos Aplicáveis			
			OI	NF	UF	MF
Leveduras e fungos		$10^3 - 10^4$				X
Células bacterianas		$300 - 10^4$			X	X
Colóides		$100 - 10^3$			X	X
Vírus		30 – 300			X	X
Proteínas	$10^4 - 10^6$	2 – 10			X	
Polissacarídeos	$10^3 - 10^6$	2 – 10		X	X	
Enzimas	$10^3 - 10^6$	2 – 5		X	X	
Açúcares simples	200 – 500	0,8 – 1,0	X	X		
Íons orgânicos	100 – 500	0,4 – 0,8	X	X		
Íons inorgânicos	10 – 100	0,2 – 0,4	X			

2.3.1. MICROFILTRAÇÃO TANGENCIAL E PERPENDICULAR

Existem dois métodos de microfiltração muito utilizados em processos industriais, a microfiltração tangencial e a perpendicular. A microfiltração tangencial (Figura 10) é um processo de filtração, no qual a solução ou suspensão escoam paralelamente à superfície da membrana enquanto o permeado é transportado transversalmente à mesma (ZEMAN; ZYDNEY, 1996).

Figura 10. Esquema da microfiltração tangencial. Adaptado da Fonte: www.spectrapor.com/filtration/Edge.html.

O escoamento paralelo à membrana limita o acúmulo do material retido sobre a mesma, tornando possível uma operação do sistema em condições de regime estabelecido de transferência de massa (Figura 11). Isto significa dizer que o fluxo de permeado pode permanecer constante com o tempo, mas em um valor menor do que o obtido com o solvente puro, na mesma pressão de operação, uma vez que o aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana provoca uma resistência adicional à transferência de massa do solvente.

Figura 11. Fluxo permeado de solvente puro e de solução em filtração tangencial em função do tempo de filtração. Adaptada da Fonte: HABERT et al., 2006.

Para Hunt et al. (1987), Ripperger (1988) e Pillay & Buckley (1992), na MFT, o fluxo tangencial gera forças de cisalhamento e ou turbulências ao longo do meio filtrante limitando a espessura da camada de substâncias retidas na superfície da membrana. Segundo estes autores, no fluxo de filtrado em regime permanente, a espessura desta camada permanece

constante.

No processo de microfiltração tangencial, a vazão do permeado é influenciada por um grande número de parâmetros como, por exemplo, velocidade tangencial, pressão transmembrana, resistência hidráulica da membrana, resistência da camada gel-polarizada, distribuição das partículas em suspensão, forma das partículas, comportamento químico da aglutinação das partículas na superfície, dentre outros (FERREIRA, 2003).

No entanto, na microfiltração perpendicular (Figura 12), a vazão da alimentação ocorre perpendicularmente à superfície da membrana e as partículas concentradas se acumulam nesta, formando uma camada de filtrado sólido. A espessura desta camada aumenta com o tempo e a taxa de permeabilidade decresce. Eventualmente, o filtro da membrana com esta camada causa uma baixa taxa de filtração, promovendo tanto a limpeza deste quanto sua troca, tornando o método pouco econômico. Este tipo de incrustação pode ser reduzido com a microfiltração tangencial (SCOTT, 1995; QUEIROZ, 2004).

Figura 12. Esquema da microfiltração perpendicular. Adaptado da Fonte:
www.spectrapor.com/filtration/Edge.html.

Portanto, recomenda-se a microfiltração tangencial para líquido com alta concentração de sólidos, enquanto a microfiltração perpendicular é indicada para líquidos com pequeno volume de concentrado. Esta diferença ocorre, uma vez que na microfiltração perpendicular, o fluxo chega diretamente na membrana, facilitando a geração de incrustações (QUEIROZ, 2004).

Segundo Frenander e Jonsson (1996) e Woodside et al. (1998), a microfiltração tangencial pode conduzir eficiências de separação de sólido/líquido relativamente altas,

comparada a outros métodos (como por exemplo, centrifugação, sedimentação, flotação, etc.), particularmente com suspensões de células microbianas.

O processo tangencial é mais complexo que o perpendicular, pois requer considerações de três processos distintos de fluxos: a solução de alimentação; o permeado e o concentrado. Já o processo perpendicular tem apenas os fluxos de alimentação e o permeado, cada um com a mesma vazão mássica (ZEMAN; ZYDNEY, 1996). Além disso, ao contrário da filtração convencional perpendicular (“dead-end”), a filtração tangencial e a microfiltração tangencial (MFT), normalmente levam em consideração uma operação de estado permanente (CASTILHO; MEDRONHO, 2002).

No processo de microfiltração tangencial, a alimentação é bombeada sem interrupção através de uma membrana com uma velocidade e pressão a ser determinada segundo as necessidades de cada processo. Uma baixa velocidade de alimentação evita uma rápida formação da camada polarizada e proporciona um controle da incrustação do módulo (QUEIROZ, 2004).

Na filtração tangencial, a maioria das partículas depositadas é arrastada para fora da unidade pela ação da velocidade tangencial. Mas muitas técnicas têm sido adotadas para se evitar que as partículas se depositem nas membranas; como o uso de abrasivos, auxiliares de filtração e coagulantes. Utilizam-se também, retro-lavagens periódicas, frequências de ultrassom, fluxos pulsados, podendo remover partículas já localizadas nas membranas ou na sua superfície (VIDAL, 2001).

2.4. MEMBRANA

Segundo Hwang e Kammermeyer (1975) apud Araki (2008), uma membrana consiste em “uma região de descontinuidade interposta entre duas fases”. No entanto, de acordo com Habert et al. (2006), uma membrana é uma barreira que separa duas fases e que restringe total ou parcialmente o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nas fases.

A utilização de membrana tem por objetivo principal realizar a separação de substâncias de diferentes propriedades (tamanho, forma, difusividade, etc). Devido a esta relevância, a membrana torna-se a ferramenta mais importante do processo de filtração, uma vez que a retenção das partículas e microrganismos ocorrerá nela, devendo assim possuir boa resistência mecânica, porém espessura fina que permita vazão de permeação elevada. Essas

duas exigências contraditórias são resolvidas através da construção de membranas com estruturas assimétricas, como por exemplo, as membranas ‘composites’. Estas membranas são construídas a partir da superposição de várias camadas diferenciadas por seu estado físico e apresentam boa resistência aos agentes químicos ($1 < \text{pH} < 14$), aos solventes, aos oxidantes, a fortes pressões e a altas temperaturas (MOULIN, 1987).

Importante ressaltar que as membranas de microfiltração são normalmente avaliadas através de testes de retenção microbiana. Dependendo do tamanho do poro da membrana, o microrganismo apropriado é selecionado (Tabela 3) e cresce no apropriado meio de cultura para uma concentração que resultaria em uma cobertura de células do tipo monocamada na superfície da membrana. Isto porque é assumido primeiramente que a peneiração, e posteriormente a adsorção, são provavelmente os mecanismos pelos quais estas partículas são rejeitadas pela membrana (CHERYAN, 1998).

Tabela 3 – Microrganismos utilizados para testes de retenção em membranas de microfiltração. Adaptada da Fonte: Cheryan (1998)

Tamanho do poro (μ)	Organism	Meio de cultura
0,1	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	Meio de Hayflick
0,2	<i>Pseudomonas diminuta</i>	Caldo lactose salino
0,45	<i>Serratia marcescens</i>	Agar Peptonado de Wilson
0,8	<i>Bacillus subtilis</i> ou <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrato de Glicose de Triptona
1,2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Extrato de Glicose de Triptona

2.4.1. MATÉRIA-PRIMA E MORFOLOGIA DE MEMBRANAS

De acordo com Cheryan (1998), as membranas são manufaturadas a partir de uma variedade de materiais, sendo classificadas quanto à sua morfologia, estrutura, natureza e configuração.

As membranas sintéticas comerciais são produzidas a partir de duas classes distintas de material: os materiais orgânicos, em sua grande maioria polímeros, e os inorgânicos, como metais e cerâmicos (HABERT et al., 2006).

Os polímeros são materiais obtidos por síntese (polimerização de monômeros) ou por extração de produtos naturais. Os polímeros mais utilizados na fabricação de membranas são os polímeros orgânicos.

Os sistemas poliméricos são formados de macromoléculas com significativas forças

intermoleculares que garantem coesão, facilidade de formar filmes autosuportáveis e boas propriedades mecânicas. As cadeias macromoleculares são compostas da junção covalente de “n” unidades constitutivas (“meros”) que conferem a sua identidade química e sua flexibilidade (capacidade de deformação e elasticidade) (HABERT et al., 2006).

A ligação metálica que mantém os átomos numa estrutura de rede, envolta em uma nuvem de elétrons livres, é responsável pelas principais propriedades características dos metais, como altas condutividades, plasticidade e resistência mecânica (HABERT, 2006).

Na fabricação de membranas metálicas, metais de transição como Paládio, Prata, Tungstênio e Molibdênio são empregados puros ou em ligas com Níquel, Radio e outros.

Membranas densas de Paládio e Prata são utilizadas na absorção de moléculas pequenas de hidrogênio e oxigênio, respectivamente (HABERT, 2006). Este tipo de membrana metálica permite apenas um baixo fluxo de hidrogênio, como resultado da espessura exigida para a durabilidade mecânica (RANGEL, 1997).

Segundo Yang et al. (1998), dentre os materiais para produção de membranas micro-porosas destacam-se os cerâmicos, devido à sua estabilidade química, dimensional, alta durabilidade e resistência à alta temperatura e pressão.

As membranas cerâmicas fazem parte da classe tradicional de materiais inorgânicos e representam uma opção que permite aumentar limites de operação a temperaturas mais elevadas (acima de 150°C) e em meios quimicamente mais agressivos. Esta categoria é representada por materiais como alumina, zircônio e sílica.

De acordo com a literatura (HABERT, 2006), acredita-se que os materiais cerâmicos pouco participam do processo de transporte das moléculas permeantes. Sua importância maior reside no fato que permitem a fabricação de estruturas micro-porosas bem variadas com um bom controle de distribuição de tamanho de poros, caracterizadas por resistências térmicas e químicas elevadas e baixa plasticidade (são duros e quebradiços).

Comercialmente, os tubos cerâmicos porosos para microfiltração são formados por duas partes: um substrato e uma membrana, ambos porosos, mas com finalidades distintas. O substrato proporciona resistência mecânica em uso, apresenta porosidade na faixa de 30 a 40%, poros de 1 a 3 µm de diâmetro e espessura de parede em torno de 2 mm (YANG et al.,

1998; JOSCELYNE; TRÄGÅRGH, 2000; BIESHEUVEL; VERWIJ, 1999). Já a membrana é depositada sobre a parede interna do tubo (substrato) e deve apresentar poros na faixa de 0,1 a 0,8 μm (YANG et al., 1998; JOSCELYNE; TRÄGÅRGH, 2000). Este conjunto, substrato-membrana deve resultar em uma constante de permeabilidade da ordem de 10^{-16} m^2 . Ainda segundo a literatura, para uma alta eficiência durante a microfiltração, os valores de fluxo devem estar na faixa de 15 a 90 ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$) e o coeficiente de rejeição deve ser maior que 99% (YANG et al., 1998). Este coeficiente indica a capacidade do filtro na redução do teor de impurezas da emulsão.

De maneira geral, as membranas podem ser classificadas em duas grandes categorias morfológicas: densa, ou seja, estrutura que não apresenta poros e o mecanismo de transporte dos componentes envolve uma etapa de dissolução e difusão através do material que constitui a membrana; porosa, quando o transporte dos permeantes ocorre preferencialmente em uma fase fluida contínua (convecção ou difusão), que preenche os poros da membrana (HABERT et al., 2006).

2.4.2. MANUFATURA DE ESTRUTURAS MICRO-POROSAS

Existem diversas técnicas de manufatura das membranas porosas, tais como: sol-gel (YANG et al., 1998) e colagem de barbotina (GU; MENG, 1999). Contudo, os tubos porosos podem ser fabricados por colagem de suspensões com alta concentração de sólidos, ou por extrusão (BIESHEUVEL; VERWIJ, 1999), ou ainda através da prensagem isostática (FORTULAN et al., 2006).

Importante ressaltar que o processo de prensagem isostática possui um desempenho excelente, pois possibilita a fabricação de multicamadas, homogeneidade em cada camada, transição bem definida entre camadas e enorme flexibilidade. O emprego de duas camadas oferece à membrana maior vida útil pré-limpeza e maior flexibilidade para o emprego em catálise (quando esta for requerida), devido à baixa resistência ao fluxo que esta opção apresenta (alumina sem incorporação de fase vítrea na efetivação dos mecanismos de sinterização para assegurar a inércia química da membrana) (FORTULAN et al., 2006).

A seleção de aditivos, para a geração de poros, é outro passo muito importante na manufatura de estruturas micro porosas. Os componentes formadores de poros mais conhecidos incluem: amido, grafite, sacarose, naftaleno, farinha de trigo, dentre outros.

O uso de substâncias inorgânicas que sofrem transformação de fase acompanhada de redução volumétrica durante a queima também pode ser adotado para a fabricação de cerâmicas porosas (YANG et al., 1998; ROSA et al., 2006).

Segundo Cheryan (1998), uma membrana típica de microfiltração possui tamanho de poros entre 0,1 a 10 μ m e a sua principal função é atuar como uma barreira seletiva, permitindo a passagem de determinados componentes e retendo outros componentes de uma mistura.

Membranas também podem fisicamente ou quimicamente modificar as espécies permeáveis (como com troca de íons ou membranas biofuncionais), conduzir corrente elétrica, impedir a permeação (por exemplo, em empacotamento ou aplicações de recobrimento), ou regular a taxa de permeação (como em tecnologia de liberação controlada).

2.4.3. ATIVIDADE QUÍMICA NA MEMBRANA

O uso das membranas tem diversas aplicabilidades e a retenção de microrganismos é uma das mais importantes. Porém, para se obter retenção de 99% de bactérias, as membranas mais utilizadas são as de baixa porosidade (entre 0,2 e 0,5 μ m), como mostram as pesquisas de Kolega et al. (1991); Suchecka et al. (2003) e Haneda (2006).

Atualmente, as pesquisas têm sido direcionadas para o uso de membrana com porosidade maior até que o tamanho das próprias bactérias, mas isso depende da interação química entre os microrganismos e os elementos da superfície seletiva da membrana.

Para aprimorar a retenção de bactérias em membranas com poros maiores que 0,6 μ m, pesquisas estão investindo na impregnação de material bactericida, como é o caso da ação da prata no trabalho de Haneda et al. (2006).

2.4.3.1. USO DA PRATA

A prata vem sendo utilizada durante séculos como agente bactericida.

Na antiga civilização grega, a realeza utilizava cálices de prata para beber e sua água era estocada e mantida em barris de prata para purificá-la. Conforme os exploradores atravessavam o Oeste do Continente Americano, eles guardavam água potável desinfetada, colocando-se moedas de prata nos seus barris de água e leite (ANGIOLLETO, 2003).

Em 1919, Alfred Searle escreveu em seu livro “O uso de colóides na saúde e na doença” que “A aplicação de prata coloidal em seres humanos, em grande número de casos, tem apresentado resultados positivos surpreendentes. Para uso interno, oral ou hipodérmico, tem a vantagem de ser rapidamente fatal aos parasitas sem qualquer ação tóxica na pessoa...”.

Na Alemanha, em 1929, Dr. G. Krausel conseguiu tornar prático o uso de íons metálicos, tais como prata e cobre, para ação bactericida. Desde então, muitos avanços tecnológicos ocorreram nesta área (SALVATORE, 2005).

Em 1960, a Nasa desenvolveu um ionizador eletrolítico de prata para purificar a água potável consumida pelos astronautas durante a Missão Apolo.

Atualmente, a prata é utilizada em tratamentos médicos de pacientes com queimaduras, a fim de prevenir infecções, de recém-nascidos, para evitar a cegueira, na fabricação de cosméticos isentos de bactérias, em filtros de água potável e na obturação de dentes, auxiliando na prevenção de um reaparecimento de cáries.

A prata também é utilizada como algicida e como bactericida em vários sistemas de purificação de água de hospitais e até mesmo na desinfecção da água de piscina com propriedades bactericidas, na qual pequenas concentrações de prata ou mesmo de sais de prata matam quaisquer bactérias, uma vez que afetam quimicamente as membranas celulares bacterianas, causando a lise das mesmas (RESEARCH ON THE BENEFITS OF SILVER, 2005).

Pesquisas biomédicas feitas na Universidade de Washington em St. Louis, Missouri/Estados Unidos, mostraram que nenhum organismo patogênico, seja micróbio, vírus ou fungo, pode viver mais que alguns minutos na presença, mesmo de traços, de prata metálica.

Segundo Percival et al. (2005), ao contrário dos antibióticos, a prata metálica consegue matar os microrganismos impossibilitando-os de desenvolverem uma linhagem resistente a ela. Desta forma, agentes anti-sépticos são levados em consideração para o tratamento de gordura localizada e feridas infeccionadas, pois eles tem uma menor propensão para induzir resistência bacteriana do que os antibióticos. Eles também afirmaram que um grande número de produtos medicinais contém prata, principalmente devido a suas atividades antimicrobianas e baixa toxicidade às células humanas.

2.4.3.2. MODO DE AÇÃO DA PRATA

De acordo com Morones et al. (2005); Matsumura et al. (2003) e Gupta et al. (1998), o efeito bactericida dos íons de prata em microrganismos é bem conhecido, porém, o mecanismo bactericida é somente parcialmente compreendido. E o que tem sido proposto é que prata iônica interage fortemente com grupos tíois de enzimas vitais e inativa-os.

Evidências experimentais sugerem que o DNA perde a sua habilidade de replicação uma vez que a bactéria tenha sido tratada com íons de prata. Outros estudos têm mostrado evidência de mudanças estruturais na membrana celular assim como a formação de pequenos grânulos de elétron-denso formados por prata e enxofre (FENG et al., 2000).

Chappell e Greville (1954) descobriram que baixas concentrações de prata (Ag^+) sucumbiam a força motriz do próton na membrana bacteriana, e isto foi reforçado nos trabalhos de Mitchell (de 1961 e 1966).

De acordo com Russel e Hugo (1994); Hostynek et al. (1993) e Kaur et al. (1985), em bactérias, íons de prata reagem com resíduos de aminoácidos nucleofílicos nas proteínas e atacam grupos como: sulfidríla, amino, imidazol, fosfato e carboxílico de membranas ou de enzimas proteolíticas que acarretam na desnaturação protéica.

A prata também é conhecida por inibir algumas enzimas oxidativas, tal como a desidrogenase da fermentação alcoólica, por inibir a síntese de succinato pelas vesículas da membrana e a cadeia respiratória de *E. coli*, assim como causa o efluxo metabólico e interfere na replicação do DNA (PERCIVAL et al., 2005). E também tem sido vista associada à parede celular, citoplasma e membrana celular.

Segundo Gupta et al. (1998), cloretos apresentam 3 níveis de efeito na prata disponível. Em ambientes externos, a prata (Ag^+) liga-se fortemente à superfície da célula bacteriana com efeitos tóxicos, freqüentemente inibindo o transporte da cadeia respiratória da bactéria (BRAGG; RAINNIE, 1974).

De acordo Russel e Hugo (1994), a prata é ativa contra bactérias, fungos e patógenos virais em concentrações de 10^{-9} até 10^{-6} mol/L.

Segundo Heinig (1986), os íons de prata, em baixas dosagens, atuam na atividade celular pela ação oligo-dinâmica:

Segundo este autor, o radical S – Ag influi na multiplicação bacteriana de forma constante e permanente. Ele explicou que a prata no seu estado atômico tem a capacidade de absorver oxigênio e agir como um catalisador, provocando oxidação. O oxigênio atômico (nascente) absorvido na superfície dos íons de prata em solução irá reagir com os grupos sulfidrilas (– S – H) adjacentes à superfície da bactéria ou do vírus para remover os átomos de hidrogênio (como água), fazendo os átomos de enxofre formarem uma barreira R – S – S – R, bloqueando a respiração e causando a morte da bactéria.

Micro-cristais de prata tem a tendência de rapidamente demarcar o oxigênio nascente (com uma energia sujeitante de somente 40kcal/mol) e estas espécies facilmente oxidam bactérias e vírus, resultando numa completa desintegração (HEINIG, 1986).

De acordo com Salvatore (2005), dependendo da quantidade de íons de prata, da condição do meio onde estão aplicados e dos tipos de colônias de microrganismos, pode-se fazer o produto atuar não só na eliminação microbiana, mas também na manutenção de uma atividade de “hibernação” destas colônias, vedando suas atividades proliferativas.

Salvatore (2005) explicou que há dois tipos de ações da prata do ponto de vista microbiológico:

1º) Devido à liberação do íon de prata na água ou no ar (ambiente úmido), ocorre a ação catalítica do íon de prata destruindo a membrana plasmática das bactérias, pela diferença de potencial (eletropotência) entre a parte interna e externa das células.

2º) Outra ação deve-se ao íon de prata no ambiente úmido (água ou ar) penetrar na membrana plasmática da célula bacteriana, destruindo o citoplasma da célula.

2.4.4. VANTAGENS DO USO DA FILTRAÇÃO COM MEMBRANAS

Durante muitos anos de pesquisa foram descobertos diversos benefícios e vantagens do uso da filtração com membranas.

Segundo Skelton (2000), as vantagens do uso de sistemas de membranas nos processos de clarificação de vinagre, vinho e salmouras de pickles, e na recuperação de cerveja nos fundos de tanques (que pode acrescentar até aproximadamente 5% do lote) incluem:

- Qualidade consistente de permeado/concentrado com intervenção mínima;
- Baixa manutenção com capacidade de limpeza no local e resistência química;
- Otimização do diâmetro do tubo, especialmente onde diâmetro maior é necessário para soluções mais viscosas;
- Baixa pressão transmembrana (membranas poliméricas);
- Resistência à temperatura (membranas cerâmicas); e
- Longo tempo de vida da membrana.

Segundo a literatura (GIBSON, 1986; VAN DER HORST & HANEMAAIJER, 1990), a aplicação da microfiltração tangencial na produção de vinho tem algumas vantagens tais como:

- Facilidade de estabilização a frio pela remoção de colóides que melhora a completa cristalização de um excesso de bitartarato de potássio;
- Remoção de produtos metabólicos de alto peso molecular (lacase, β -glucano e compostos fenólicos de alto peso molecular) encontrados em uvas infectadas pelo fungo *Botrytis cinerea*;
- Recuperação de suco de uva ou vinho das borras.

2.4.5. APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DO USO DE MEMBRANAS

Desde a introdução da microfiltração, muitas aplicações estão sendo investigadas. A pesquisa na indústria de alimentos foi e está especialmente concentrada às aplicações na indústria leiteira e de bebidas.

Segundo Van Der Horst e Hanemaaijer (1990), há uma década já se esperava que, dentro de 10 anos, a microfiltração tangencial se tornasse uma técnica de filtração estabelecida. Com o avanço das pesquisas relacionadas às aplicações do processo de microfiltração tangencial na indústria alimentícia, inicialmente, pôde-se incorporar a microfiltração à produção de vinho e vinagre, e atualmente, está sendo direcionada à produção de cerveja, gelatina, suco e até mesmo, em escala de planta piloto para, por exemplo,

processamento de soro, ovos e salmoura.

Duas décadas atrás, Finnigan (1988) e Le (1987) afirmaram que para a microfiltração tangencial de cerveja há duas possibilidades de aplicações:

- Clarificação da cerveja verde dos tanques de acondicionamento a frio sem adição de clarificantes protéicos (*finings*);
- Recuperação da cerveja sedimentada no fundo do tanque, sem a adição de filtros auxiliares.

De acordo com Skelton (2000), sistemas de membranas vêm sendo a muitos anos utilizados em diferentes campos da produção alimentícia. Na indústria leiteira, onde o permeado é de interesse, os sistemas de membrana são capazes de aumentar o rendimento do produto (fabricação de queijo) e os fluxos de líquido concentrado agregam valor ao produto (separação do concentrado de proteína do soro de 35 – 75% sólidos da lactose).

O processo de microfiltração tangencial já está sendo aplicado comercialmente na indústria leiteira para remover bactérias e esporos a fim de estender o tempo de vida de prateleira do leite pasteurizado (MALMBERG; HOLM, 1988; VAN DER HORST & HANEMAAIJER 1990).

Brans et al. (2004) afirmaram que as principais aplicações da microfiltração na indústria de laticínios são: remoção de bactérias e células somáticas, remoção de gordura do soro e enriquecimento micelar do leite para fabricação de queijos.

Para Terre et al. (1987), a microfiltração tangencial também pode ser utilizada para remover parte das proteínas do soro, objetivando-se produzir concentrados de caseína para diversas aplicações.

Nesta época, onde grande ênfase está sendo direcionada aos produtos naturais, pode-se citar a importância da qualidade dos sucos concentrados de frutas e de vegetais. No processo de produção dos sucos concentrados de vegetais, onde a evaporação é aplicada, altas temperaturas podem danificar as fibras, provocando perdas nutricionais do produto.

Segundo Van Der Horst e Hanemaaijer (1990), a separação/concentração das fibras pela microfiltração tangencial e subsequente concentração do permeado da microfiltração pela

osmose reversa pode render um concentrado com maior capacidade de ligação da água por causa do tratamento calorífico brando. Além disso, o processo pode ser mais econômico do que a evaporação porque as necessidades de energia são menores.

Contudo, na indústria de suco de frutas e de xarope, onde o permeado ao invés de ser o retido torna-se o produto, membranas de ultrafiltração são amplamente usadas para clarificar sucos de maçã, pêra, laranja, uva, cassis e abacaxi pela remoção de impurezas tais como leveduras, bolores, bactérias, pirógenos, colóides e sólidos (SKELTON, 2000). Neste caso, a remoção simultânea de proteínas, polifenóis, taninos e polissacarídeos contribui para a estabilidade do suco final, embora ainda permitindo suficiente transferência de cor.

De acordo com Habert et al. (2006) a clarificação de vinhos, cervejas e sucos vem se constituindo em um outro grande campo de aplicação da microfiltração, na qual a vantagem é que o processo, além de ser eficiente, não altera as propriedades organolépticas desses produtos.

Nas cervejarias, a clarificação da cerveja pode ser desenvolvida com um menor tempo de processamento, trocando-se os filtros convencionais de profundidade pela microfiltração (DONHAUSER et al., 1988; VAN DER HORST & HANEMAAIJER, 1990). Além disso, o produto retido da microfiltração tangencial pode ser comercializado e/ou reaproveitado como, por exemplo, alimento para animais e adubo, evitando-se problemas com a eliminação dos resíduos.

2.5. FENÔMENOS DE ADSORÇÃO E POLARIZAÇÃO SUPERFICIAL

De acordo com Lee e Wu (2008), nos sistemas de microfiltração, a deposição de partículas e o *fouling* (impregnação irreversível) são fatores críticos que influenciam a eficiência de separação.

Van Der Horst e Hanemaaijer (1990) afirmaram que a aplicação bem sucedida da microfiltração tangencial tem ficado limitada à substituição da filtração convencional. Porém, para outras aplicações, o sucesso está sendo adiado por problemas como *fouling* e complexas propriedades de separação.

Ushikubo et al. (2007) afirmaram que o *fouling* é um dos maiores problemas do uso de membranas para a clarificação de sucos, uma vez que ele causa o declínio do fluxo de

permeado. Para estes autores, o *fouling* é responsável pela variação do fluxo, comparando-o ao fluxo de água, uma vez que ele causa a retro-difusão de solutos em direção ao fluxo de alimentação. A concentração de soluto aumenta na interface até uma camada de partículas depositadas ser construída na superfície da membrana e assim, sendo conhecida como camada gel polarizada ou camada polarizada ou ainda, *cake layer*.

A camada gel polarizada é considerada uma camada dinâmica, ou seja, modifica as condições de operação, tais como: velocidade tangencial, pressão transmembrana ou concentração de solução de alimentação, sendo possível recuperar os fluxos.

Segundo Habert et al. (2006), o *fouling* inicia com a adsorção ou adesão de macromoléculas, colóides e/ou bactérias na superfície da membrana. Este fenômeno ocorre principalmente quando sólidos aderem-se nos poros da membrana ou eles são adsorvidos na superfície da mesma. Ele está relacionado com as características da membrana, com as interações soluto-soluto e soluto-membrana e é irreversível, ou seja, a recuperação do valor de fluxo prévio é possível somente com limpeza química (CHERYAN, 1998) ou térmica da membrana (HANEDA, 2006).

Ao contrário da crença comum de que o aspecto mais importante no *fouling* de membranas é a adsorção/aderência de solutos na superfície da membrana, conclui-se que, embora isto possa ser verdade para a ultrafiltração, na microfiltração tangencial, a morfologia da membrana desempenha um papel mais importante nas incrustações, juntamente com os parâmetros fluido-dinâmicos. E assim, para controlar tais incrustações na membrana é necessário o desenvolvimento de membranas com poros de alta densidade, poros estreitos e uma morfologia de distribuição assimétrica (VAN DER HORST & HANEMAAIJER, 1990).

De acordo com Van Der Horst e Hanemaaijer (1990), a principal causa de problemas de *fouling* durante a microfiltração tangencial é o estreitamento e bloqueio dos poros causados pelas partículas e solutos aderidos à superfície da membrana, o que gera um efeito negativo considerável tanto no fluxo quanto nas características de retenção. Portanto, a morfologia da membrana se torna um fator dominante para o processo de microfiltração. Os autores explicaram que primeiramente, a lisura da superfície da membrana, exposta ao líquido processado, determina a efetividade do fluxo tangencial na superfície promovida para aumentar o transporte de partículas e solutos retidos, e conseqüentemente, a taxa de deposição da *cake-layer*. Posteriormente, a morfologia de poro interno tem um considerável efeito no

bloqueio de poros. Os poros deveriam ser estruturados de tal forma que as partículas que são capazes de permear a camada superficial de uma membrana não estarão presas em uma estrutura. Isto implica dizer que em termos de controle de *fouling*, membranas assimétricas e membranas simétricas de poro reto constituem o melhor conjunto de operação em módulo de fluxo tangencial.

O problema de *fouling* na membrana, encontrado com o uso da microfiltração tangencial na indústria alimentícia, pode ser atribuído a três diferentes mecanismos:

- Adsorção de solutos (proteínas, colóides, gordura) e adesão de bactérias na superfície da membrana e paredes dos poros;
- Polarização de concentração e subsequente formação da *cake-layer*;
- Bloqueio dos poros.

Condições de operação, tais como: pressão transmembrana e velocidade tangencial são elementos fundamentais para o processo de microfiltração.

Segundo Ushikubo et al. (2007), o aumento da pressão transmembrana pode conduzir a um efeito positivo no fluxo, já que ele é a força motriz que conduz o permeado em direção à membrana. Porém, na pesquisa de Jiraratananon e Chanachai (1996), visualizou-se um efeito negativo no fluxo transmembrana, visto que a resistência devido ao *fouling* e a resistência devido à camada polarizada foram maiores em pressão ascendente no processamento de maracujá. Este fato não foi semelhante aos verificados por Vaillant et al. (1999), no qual o melhor fluxo foi obtido quando a pressão transmembrana aplicada era menor.

Outro comportamento do fluxo em função da pressão transmembrana foi observado por Vladislavjevic et al. (2003), no qual eles observaram que durante o processo de microfiltração tangencial com suco de maçã, o fluxo transmembrana aumentou com a pressão até um limite, e depois, diminuiu com o aumento contínuo da pressão.

De acordo com Girard e Fukumoto (2000), a velocidade tangencial está relacionada à ação de limpeza na superfície da membrana, uma vez que pode aumentar o fluxo de permeado pela ação de cisalhamento.

Segundo Lee e Wu (2008), alta velocidade tangencial, alta pressão transmembrana e baixa concentração de partículas conduzem a um alto fluxo de permeado.

Segundo Van Der Horst e Hanemaaijer (1990), no processo de adesão/adsorção, existem importantes forças atuantes que podem ser divididas em: forças de curto alcance (interações hidrofóbicas, ligações químicas, interações dipolo-dipolo, interações de dipolo induzido, interações tipo íon-dipolo e pontes de hidrogênio); e forças de longo alcance (forças de London-van der Waals, forças de atração/repulsão de dupla camada elétrica, forças de repulsão estérica e colmatação).

Um dos aspectos de aumento de adesão é a concentração da aderência. Através da elevação da concentração de uma aderência próxima à superfície da membrana, a chance de adesão aumentará. Níveis altos de concentração na superfície da membrana podem levar à cristalização, por exemplo, de sais ou levar à adsorção de proteínas/colóides seguida de formação de uma *cake layer*.

A *cake layer* é responsável pelo aumento da resistência à transferência de massa. Consequentemente, durante a microfiltração tangencial, o fenômeno de concentração de polarização tem que ser reduzido pela otimização das dinâmicas do fluido do sistema de membrana (projeto do módulo e condições do processo). Neste caso, a idéia geral é aumentar o cisalhamento e a turbulência na superfície da membrana, a fim de melhorar o coeficiente de transferência de massa (k). O aprimoramento da taxa de fluxo é a técnica mais frequentemente utilizada, seguida pelo uso de fornecedores de turbulência no canal da corrente de alimentação.

Van Der Horst e Hanemaaijer (1990) ressaltaram alguns métodos testados por outros autores para elevar o coeficiente de transferência de massa, podendo-se citar: o uso de um tubo interno de rotação para causar vórtices de Taylor, aplicação de um fluxo pulsátil e aumento da temperatura e redução da viscosidade.

2.5.1. AFINIDADE DE SOLUTOS MACROMOLECULARES E BACTÉRIAS ÀS SUPERFÍCIES

Em uma teoria de DLVO adaptada, a interação entre a atração London-van der Waals e a repulsão de dupla camada elétrica são combinadas, predizendo o comportamento de adesão macromolecular solutos/partículas em superfícies. Na prática, esta teoria não é adequada para explicar todo o fenômeno (*fouling*), pois somente interações eletrostáticas são consideradas.

Outra razão é que bactérias são consideradas como partículas coloidais revestidas com biopolímeros. Naturalmente há desvios desta aproximação, por exemplo, as partículas não sendo suaves, não rígidas, tendo uma composição de superfície complexa (fímbria, pili) e/ou apresentação de atividade metabólica (excreção de polissacarídeos). Além disso, os efeitos de impedimento estérico e hidratação não são levados em consideração.

A termodinâmica é outra teoria que pode prever a afinidade de um soluto em uma solução para uma superfície de membrana pelas propriedades de superfície medidas de todas as fases envolvidas. Este método é baseado na idéia que há uma relação entre a energia superficial relativa do material da membrana e a adesão de microrganismos ou macromoléculas. O *fouling* de material na membrana causado, por exemplo, pelas proteínas do leite é frequentemente explicado pela afinidade de proteínas hidrofóbicas em uma solução hidrofílica (água) pela membrana hidrofóbica.

O desenvolvimento de membranas hidrofílicas não-interativas deveria reduzir os problemas em uma grande proporção. Entretanto, membranas poliméricas hidrofílicas comerciais de microfiltração não fornecem um melhor perfil de *fouling* se comparadas aos tipos de membranas hidrofóbicas. Isto também sugere que o material da membrana não é o fator mais importante envolvido no processo de *fouling* de membranas de microfiltração. O material da membrana pode contar com o efeito da hidrofobicidade para ter maior importância para membranas de ultrafiltração do que para membranas de microfiltração. A adsorção de uma monocamada de proteínas, por exemplo, terá um menor efeito no tamanho de poro de membranas de microfiltração do que ela terá no tamanho de poro de membranas de ultrafiltração (HANEMAAIJER; ROBBERTSEN, 1989).

2.6. MODELO DE RESISTÊNCIA

A deposição de partículas na superfície ou nos poros da membrana é normalmente considerada um dos principais fatores responsáveis pelo declínio do fluxo de permeado ao longo do processo de microfiltração.

De acordo com Zeman e Zydney (1996), três distintos mecanismos têm sido utilizados para explicar o declínio do fluxo permeado: bloqueio de poro, constrição de poro e formação da camada polarizada (*cake*).

Segundo Scott (1995); Cheryan (1998) e Lim & Bai (2003), a polarização de

concentração e a incrustação causam a queda no valor do fluxo de permeado em relação ao valor obtido com o solvente puro. Assim, ambas podem ser modeladas para representar resistências adicionais à transferência de massa através da membrana.

Em geral, estes fenômenos de polarização de concentração e incrustação ocorrem gradativamente ao longo do processo de microfiltração até que o fluido atinja um possível estado estacionário (fluxo constante). Esta cinética pode ser visualizada na Figura 13.

Figura 13. Variação esquemática no fluxo permeado com o tempo de operação ocasionada por polarização de concentração e incrustação. Operação em escoamento tangencial. Adaptada da Fonte: HABERT et al., 2006.

O modelo das resistências em série descreve este fluxo de permeado através dos poros quando a pressão controla o fenômeno baseado no modelo de Hagen-Poiseuille (eq. 2).

$$J = \frac{\varepsilon \cdot d_p^2 \cdot \Delta P}{32 \cdot \Delta X \cdot \mu} \quad (2)$$

em que: ε é a porosidade (μm); d_p é o diâmetro dos poros (m); ΔP é a pressão aplicada (Pa ou bar); ΔX é espessura da membrana (m) e μ é a viscosidade do solvente ($\text{N s} / \text{m}^2$ ou Pa s ou kg/m.s).

De acordo com a Lei de Darcy (CHERYAN, 1998; LIM & BAI, 2003), o fluxo de permeado de água pura (solvente puro) através de uma membrana limpa pode ser descrito por:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu R_m} \quad (3)$$

em que: J é o fluxo de permeado ($\text{m}^3/\text{m}^2.\text{s}$ ou $\text{L}/\text{h.m}^2$); ΔP é a pressão transmembrana aplicada (Pa ou bar); μ é a viscosidade dinâmica do permeado ($\text{N s} / \text{m}^2$ ou Pa s) e R_m é a resistência hidráulica da membrana limpa (m^{-1}).

O modelo de resistência considera que o fluxo de permeado tem que vencer a resistência da própria membrana e uma resistência adicional devido à concentração de polarização e conseqüente *fouling* da membrana (HABERT et al., 2006). Isto indica que para filtração de suspensões, o fluxo de permeação será sempre menor do que o fluxo dado pela equação 3 (LIM & BAI, 2003).

De acordo com Lim e Bai (2003), o declínio do fluxo observado ao longo do processo de microfiltração é um resultado do aumento da resistência da membrana ao fluxo de permeado que pode ser produzido por *fouling* da membrana ou deposição de partículas sobre a superfície da membrana ou nos poros da mesma.

Segundo Zeman e Zydney (1996) e Wiesner et al. (1992), os mecanismos de *fouling* normalmente incluem três modelos: bloqueio de poro, concentração de polarização e formação da *cake*. No entanto, Bai e Leow (2002) afirmaram que no processo de microfiltração, o *fouling* por concentração de polarização (constrição do poro) pode ser desprezado devido ao grande tamanho das partículas retidas. Portanto, o fluxo de permeado através de uma unidade de microfiltração de tratamento de suspensões, pode ser expresso por:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_p + R_c)} \quad (4)$$

em que: J é o fluxo de permeado ($\text{m}^3/\text{m}^2.\text{s}$ ou $\text{L}/\text{h.m}^2$); ΔP é a pressão transmembrana aplicada (Pa ou bar); μ é a viscosidade dinâmica do fluido ($\text{N s} / \text{m}^2$ ou Pa s); R_m é a resistência ao transporte através da membrana (m^{-1}); R_p é a resistência adicional devido ao bloqueio físico de poros (m^{-1}) e R_c é a resistência adicional devido à formação da camada polarizada (*cake layer*) (m^{-1}).

No entanto, a soma de R_m , R_p e R_c , citadas na eq. 4, corresponde à resistência total ao movimento de permeado, como se observa na eq. 5:

$$R_T = R_m + R_p + R_c \quad (5)$$

em que:

R_T é a resistência total ao movimento de permeado (m^{-1}); R_m é a resistência ao transporte através da membrana (m^{-1}); R_p é a resistência adicional devido ao bloqueio físico de poros (m^{-1}) e R_c é a resistência adicional devido à formação da camada polarizada (*cake layer*) (m^{-1}).

Para a microfiltração em pressão transmembrana constante, o fluxo de permeado inicial, J_0 , dependerá principalmente de R_m quando R_p e R_c são inicialmente zero. Com o procedimento de operação de microfiltração, o bloqueio do poro e a formação da *cake* causam um aumento de R_p e R_c , e modificam a importância relativa de R_m , R_p e R_c na eq. 4. Desta forma, o comportamento do *fouling* do processo de microfiltração pode modificar de uma resistência intrínseca da membrana para um processo de resistência devido ao bloqueio de poro ou de uma resistência devido à formação da *cake* (LIM & BAI, 2003).

De acordo com Wiesner et al. (1992), os fluxos de permeado para cada um destes três estágios do comportamento de *fouling* podem ser expressos de forma linearizada como:

$$\text{Resistência intrínseca da membrana: } \frac{1}{J} = \frac{1}{J_0} + K_m t \quad (6)$$

$$\text{Resistência devido ao bloqueio do poro: } \ln J = -K_p t + \ln J_0 \quad (7)$$

$$\text{Resistência devido à formação da } cake: \frac{1}{J^2} = \frac{1}{J_0^2} + K_c t \quad (8)$$

em que: J é o fluxo de permeado ($m^3/m^2.s$ ou $L/h.m^2$); J_0 é o fluxo de permeado inicial ($m^3/m^2.s$ ou $L/h.m^2$); K_m é um parâmetro do sistema relativo à resistência da membrana; K_p é um parâmetro do sistema relativo à resistência devido ao bloqueio de poro; K_c parâmetro do sistema relativo à resistência devido à formação da camada polarizada e t é o tempo de filtração (s ou h).

Outros modelos revelam que os parâmetros K_m , K_p e K_c estão diretamente relacionados a diferentes grandezas, tais como: concentração da solução, densidade inicial dos poros e área frontal da membrana (ZEMAN e ZYDNEY, 1996).

Habert et al. (2006) apresentaram o esquema de uma membrana micro-porosa, onde são demonstradas as diversas resistências à transferência de massa de um processo de separação por membranas. Este esquema pode ser visualizado na Figura 14.

Figura 14. Resistências à transferência de massa em processo de separação por membrana, provocadas por incrustações e polarização de concentração, sendo R_a a resistência adicional devido ao fenômeno de adsorção, R_m resistência ao transporte através da membrana, R_p resistência adicional devido ao bloqueio físico de poros, R_g resistência adicional devido à formação de uma camada gel sobre a membrana e R_c resistência adicional devido ao fenômeno de polarização de concentração. Adaptada da Fonte: HABERT et al., 2006.

Materiais e Métodos

Neste capítulo, Materiais e Métodos, apresenta-se a metodologia experimental utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

No organograma da Figura 15 são apresentadas as atividades desenvolvidas neste trabalho, no qual do item 1 ao 6, a metodologia corresponde à fase experimental, e do item 7 ao 10 à fase de caracterização e análise do concentrado (bebida à base de açaí contaminado) e dos permeados (amostras de filtrado coletadas à partir do processo de microfiltração).

Figura 15. Organograma da metodologia utilizada neste trabalho.

3.1. METODOLOGIA

A metodologia observada no organograma da Figura 15 encontra-se detalhada, do item 3.1.1. ao 3.1.11.

3.1.1. OBTENÇÃO DAS MEMBRANAS COMERCIAIS

Duas estruturas cerâmicas tubulares micro-porosas de α -alumina (Al_2O_3), uma com $0,8\mu\text{m}$ (Figura 16a) e outra com $1,2\mu\text{m}$ (Figura 16b) de tamanho médio de poro, comprimento do tubo de 0,25m, diâmetro interno de 0,006m, foram selecionadas para a realização deste trabalho. As duas membranas comerciais da ANDRITZ GROUP (Áustria) foram estrategicamente selecionadas com o objetivo de quantificar a redução de microrganismos e verificar retenção de sólidos suspensos da bebida à base de açaí no processo de microfiltração tangencial. Para alcançar este objetivo foi necessário analisar o comportamento de fluxo e retenção de bactérias e sólidos suspensos nas diferentes estruturas cerâmicas.

Vale ressaltar que as membranas micro-porosas com tamanhos de poros de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$ ainda não foram incorporadas ao processamento de bebidas, uma vez que não há trabalhos que atestem o uso destes tamanhos de poro para reter bactérias, esporos e sólidos suspensos. Isto quer dizer que a retenção de bactérias através do processo de microfiltração tangencial vem sendo pesquisada com membranas comerciais de tamanho de poro abaixo de $0,3\mu\text{m}$, o que resulta em fluxo transmembrana baixo, inviabilizando a aplicação na indústria de alimentos.

Figura 16. Foto das membranas tubulares (comerciais) com tamanho médio de poro de $0,8\mu\text{m}$ (a) e $1,2\mu\text{m}$ (b).

A membrana comercial de $0,8\mu\text{m}$ foi selecionada para se obter dados de uma retenção essencialmente física devido à proximidade de sua porosidade com o tamanho das bactérias *E. coli* ($0,8\mu\text{m}$) (LEHNINGER, 1993). Entretanto, para analisar a retenção de bactérias proporcionada por interações químicas (principalmente a ação bactericida da prata), optou-se

trabalhar com uma membrana de tamanho de poro maior que o tamanho da bactéria, como foi o caso da membrana de 1,2 μ m.

3.1.2. IMPREGNAÇÃO DE PRATA (AG) NA MEMBRANA DE 1,2 μ m

A princípio, a impregnação de material bactericida (prata) só foi realizada na membrana de 1,2 μ m devido ao tamanho do poro, ou seja, como o tamanho do poro desta membrana é maior que o tamanho da bactéria, alguns microrganismos não seriam retidos, o que reduziria a eficiência de retenção bacteriana nesta membrana.

Desta forma, para ampliar o poder de retenção bacteriana sem reduzir o tamanho do poro da membrana, optou-se pela impregnação de um material bactericida (Ag^+), seguindo-se a metodologia desenvolvida por Haneda (2006) e citada nas literaturas (HANEDA et al. 2006; DEL COLLE et al., 2008).

A técnica de impregnação química via solução de precursor foi desenvolvida para formação de filmes finos em tubos micro-porosos e membranas tubulares. Três etapas compõem a realização da impregnação: obtenção do precursor, método de impregnação e tratamento térmico.

3.1.2.1. OBTENÇÃO DO PRECURSOR

A obtenção do precursor foi feita através da adaptação do método de Pechini, eliminando-se a etapa de polimerização que consiste na adição de poliálcoois à solução de ácido cítrico, por reação de poliesterificação, a qual resulta na formação de uma solução polimérica. Portanto, sintetizou-se apenas uma solução de citrato metálico, conforme observada na Figura 17 (DEL COLLE et al., 2008).

Figura17 – Reação química do preparo de citrato metálico.

A síntese do citrato de prata foi preparada em três razões molares, 3:1, 3:2 e 3:3 de

ácido cítrico para nitrato de prata. Estas proporções foram preparadas para selecionar qual razão molar apresentaria maior quantidade de prata na membrana, após a impregnação. Esta seleção foi realizada com um detector de energia dispersiva de raio-X que auxiliou no mapeamento de regiões das membranas impregnadas com as diferentes concentrações de citrato de prata, indicando a porcentagem de prata (Ag) em cada estrutura cerâmica.

O citrato de prata na proporção 3:1 foi preparado, dissolvendo-se 0,1008 mol (19,3665g) de ácido cítrico em 250mL de água destilada, sob agitação mecânica constante e aquecimento (60°C à 80 °C). Após completa dissolução do ácido cítrico, foram adicionados 0,0336 mol (5,7076g) de nitrato de prata.

Para a segunda proporção (3:2 de ácido cítrico para nitrato de prata), seguiu-se a mesma metodologia, porém mantendo-se a proporção do ácido cítrico e alterando-se a quantidade do nitrato de prata, diluindo-se 0,1008 mol (19,3665g) de ácido cítrico anidro em água destilada, sob agitação mecânica e posteriormente, adicionando-se 0,0672mol (11,4152g) de nitrato de prata. Para evitar a precipitação do nitrato de prata, aqueceu-se a solução até 80 °C.

Para preparar o citrato de prata na razão molar de 3:3 de ácido cítrico para nitrato de prata, diluiu-se 0,1008 mol (19,3665g) de ácido cítrico anidro em água destilada, sob agitação mecânica e, adicionou-se 0,1008mol (17,1227g) de nitrato de prata. O aquecimento da solução até 80°C também foi realizado nesta preparação.

Cabe ressaltar que as três soluções de citrato de prata foram aferidas após o resfriamento da solução com o auxílio de balão volumétrico de 250 mL e com água destilada para repor a água evaporada durante a preparação.

3.1.2.2. MÉTODO DE IMPREGNAÇÃO

A membrana comercial de 1,2µm foi impregnada por capilaridade, introduzindo-se a estrutura micro-porosa em uma proveta contendo de 5 a 10 mL da solução de citrato de prata; de modo que ela ficasse em contato com a solução por aproximadamente 14h. A absorção gradual da solução precursora pelos tubos porosos através de capilaridade proporcionou um espalhamento mais homogêneo da solução na estrutura cerâmica dos tubos.

Para verificar a completa adsorção da solução de citrato de prata na membrana, um papel indicador de pH foi colocado na extremidade oposta da membrana que estava em

contato com a solução e ao verificar a alteração da cor no papel indicador, a membrana foi transferida para a próxima etapa.

3.1.2.3. TRATAMENTO TÉRMICO

Após a impregnação da membrana com a solução precursora de prata, o material foi calcinado em forno tubular vertical (MAITEC, INTI – Fornos e equipamentos termoelétricos, São Carlos/SP) e tratado termicamente em diferentes temperaturas entre 100 e 600 °C, com tempos variáveis e com taxa de aquecimento de 10 °C/min sob atmosfera inerte de N₂ (para não oxidar a prata presente), sendo resfriado até 30 °C a uma taxa de 10 °C/min.

Com o objetivo de eliminar a matéria orgânica presente na solução e transformá-la no metal de interesse (prata), os patamares seguidos durante o tratamento térmico foram de 100°C/1h, 200°C/1h, 300°C/2hs e 600°C/1h. Antes de iniciar o processo de queima, conectou-se uma bomba de vácuo (marca WEG, modelo NBR 7094) no forno, para retirar o oxigênio e introduzir o nitrogênio para manter a atmosfera inerte.

Após a calcinação, a membrana impregnada com prata metálica foi mantida em embalagem à vácuo dentro de dissecador até o início do processo de microfiltração. Esta etapa foi desenvolvida para evitar a oxidação da prata que é visualizada na Figura 18.

Figura 18. Membrana comercial de 1,2µm após o processo de impregnação de prata.

3.1.3. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Todos os experimentos foram realizados utilizando-se polpas de açaí (médio), de mesmo lote e proveniente da Indústria Brasileira Amazonfrutas polpas de frutas da Amazônia Ltda, Santa Bárbara, Pará/Brasil. Este produto foi fornecido na forma de barras congeladas de 1kg (-18°C) pela Damazônica distribuidora – Gramani Produtos Alimentícios Ltda, São Carlos/SP.

De acordo com a Instrução Normativa nº1 de 07/Janeiro/2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a polpa de açaí médio é aquela extraída com adição de água e filtração, apresentando de 11 a 14% de sólidos totais e uma aparência densa (BRASIL, 2000).

As polpas armazenadas em *freezer* (-18°C) foram descongeladas antes dos testes, seguindo-se as normas da ISO 6887-4 (2003), na qual se recomenda descongelar a amostra sob refrigeração (0 a 4°C) por não mais de 24 horas, na embalagem original. Alternativamente, na ausência de espaço físico no refrigerador, as recomendações do *Compendium* (MIDURA & BRYANT, 2001) foram seguidas, utilizando-se temperaturas mais elevadas, porém não superiores a 40°C e por não mais do que 15 minutos. Neste caso, foi realizada a agitação freqüente da amostra, para facilitar o descongelamento.

Após o descongelamento, a polpa foi passada em uma peneira de aço inox com tamanho de poro de 0,5mm e posteriormente, diluída em água destilada. Este procedimento visava à retenção dos sólidos suspensos causadores de entupimento da válvula do manômetro. A proporção seguida na diluição foi de 1kg de polpa de açaí para 5L de água destilada.

Cabe ressaltar que não foi utilizado nenhum tratamento enzimático para aumentar a eficiência do processo de microfiltração através da redução da viscosidade da solução. Neste trabalho, optou-se pelo estudo do processo de retenção de microrganismos e sólidos suspensos de uma bebida à base de açaí por uma membrana comercial de 1,2µm. Este tamanho de poro da membrana cerâmica foi utilizado na expectativa de reduzir o fenômeno de polarização com um valor sustentável do fluxo de permeado, sem utilizar o clássico tratamento enzimático realizado em processos de microfiltração, que utilizam membranas poliméricas de menor tamanho de poro (USHIKUBO et al., 2007; SANTIN, 2004; BRASIL et al., 1996).

3.1.4. INOCULAÇÃO DE MICRORGANISMOS NA BEBIDA À BASE DE AÇAÍ

Para analisar e comparar a retenção de microrganismos nas duas estruturas cerâmicas micro-porosas (de 0,8µm e 1,2µm), a bebida à base de açaí deveria apresentar um número de células de *E. coli* CCT 0549 numa concentração inicial apropriada para os experimentos. Portanto, a padronização dos testes foi realizada, inoculando-se 10^7 células de *Escherichia coli* CCT 0549 em todas as bebidas à base de açaí preparadas no início dos testes.

Para estabelecer a quantidade de células a ser inoculada na bebida à base de açaí, foi realizado um levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549, em caldo nutriente (marca Acumedia), sob agitação em *shaker* e na temperatura de 37°C.

Vale mencionar que a cepa da *E. coli* CCT 0549 foi gentilmente cedida pela pesquisadora Dra. Eloisa Pozzi do Laboratório de Processos Biológicos, da Universidade de

São Paulo/ São Carlos, e os testes para obtenção da curva de crescimento desta bactéria (*E. coli* CCT 0549) contaram com o fundamental apoio da pesquisadora Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi do Departamento de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/Araraquara. Estes testes podem ser visualizados no Apêndice A.

A inoculação foi realizada com a *E. coli* CCT 0549 na fase estacionária para que as células incubadas na bebida à base de açaí não se multiplicassem ao longo do experimento. Este processo de inoculação envolveu as seguintes etapas: preparo do caldo nutriente, enriquecimento da cultura pura de *E. coli* (overnight) e contaminação da bebida à base de açaí com a *E. coli* CCT 0549.

3.1.4.1. PREPARO DO CALDO NUTRIENTE

Em um frasco de Durhan, pesou-se 1,2g do caldo nutriente (marca Acumedia), adicionou-se 300 mL de água destilada e, em seguida, homogeneizou-se. Foram distribuídos 5 mL do caldo nutriente em 4 tubos de ensaio e, posteriormente, os tubos de ensaio e 250mL de caldo nutriente do frasco de Durhan foram autoclavados a 121°C por 15 minutos para realizar a esterilização.

3.1.4.2. ENRIQUECIMENTO DA CULTURA PURA DE *E. COLI* CCT 0549

Como a cultura pura da *E. coli* CCT 0549 era mantida em glicerol a -18°C até poucos minutos antes da inoculação, quando inserida em uma grande quantidade de nutriente, poderia não se adaptar ao novo meio ou mesmo apresentar um crescimento muito lento. Portanto, em duplicata, 0,5 mL da cultura pura foi inoculado em tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo nutriente e, posteriormente, incubados a 37°C durante 14 horas (overnight).

Após o enriquecimento da cultura, o volume total de 5,5 mL foi adicionado aos 250 mL de caldo nutriente contidos no frasco de Durhan e homogeneizados. Este frasco foi colocado em um agitador tipo *shaker* (TE-410 da TECNAL), com agitação de 110rpm, a 37°C por 8 horas para crescimento bacteriano.

3.1.4.3. CONTAMINAÇÃO DA BEBIDA À BASE DE AÇAÍ COM A *E. COLI* CCT 0549

O levantamento da curva de crescimento da *E. coli*, apresentado na Figura 3' do Apêndice A, mostrou que na 8ª hora de incubação, a bactéria encontrava-se na fase

estacionária e, então, a cultura enriquecida poderia ser inoculada na bebida à base de açaí e, posteriormente, serem homogeneizadas com auxílio de um bastão de vidro.

3.1.5. PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO TANGENCIAL

Inicialmente, o concentrado (bebida à base de açaí) foi colocado no tanque de alimentação e circulado na unidade de microfiltração tangencial (Figura 19).

No transcorrer do processo, os permeados foram coletados a cada 5 minutos em béqueres e colocados em uma balança eletrônica (BEL Engineering, Monza, Italy) para pesar e monitorar a massa de permeado durante os testes. Neste contexto, cabe ressaltar que a coleta dos permeados para contagem de microrganismos (que está detalhada no item 3.1.7.) foi realizada em frascos esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Devido ao alto risco de contaminação, os testes experimentais realizados para monitoramento do fluxo transmembrana não foram os mesmos programados para coletar amostras para análise microbiológica. Porém, os parâmetros fluido-dinâmicos foram mantidos, assim como todas as bebidas à base de açaí foram preparadas na mesma proporção de diluição da polpa de açaí e água destilada.

Figura 19. Foto ilustrativa da unidade de microfiltração tangencial.

Todos os testes foram realizados variando-se a pressão transmembrana (2, 3 e 4 bar) em

base contínua sem interrupção do processo, ou seja, após o final de cada intervalo de 60 minutos, a pressão era alterada. Entretanto, durante os experimentos com a bebida à base de açaí contaminado, o intervalo de tempo para variação da pressão transmembrana foi de 40 minutos.

Com o controle de rotação da bomba, a velocidade média do fluido ($\bar{v}$) foi alterada, e conseqüentemente, o número de Reynolds ($Re = \rho \bar{v} D / \mu$). O número de Reynolds foi mantido constante e a pressão transmembrana foi controlada através de válvulas. Os experimentos foram conduzidos em uma faixa de escoamento turbulento com número de Reynolds igual a 2400, 3200 e 3600 para as membranas de 0,8 e 1,2 μm .

3.1.5.1. UNIDADE DE MICROFILTRAÇÃO TANGENCIAL

O diagrama esquemático da Figura 20 descreve a bancada experimental de microfiltração tangencial utilizada neste trabalho.

Figura 20. Diagrama esquemático da unidade de microfiltração tangencial constituída por: tanque de alimentação (TA); bomba de deslocação positiva (BDP); medidor de fluxo (MF); manômetro (MA); módulo para instalação da membrana (MO); sistema de refrigeração (SR); tanque de refrigeração (TR); bomba centrífuga (BC); inversor de frequência (IF) e controlador de temperatura (CT).

A bancada de filtração foi confeccionada com aço inox AISI 304 e é composta de um tanque de alimentação (10L) constituído de uma parede dupla e fornecido pela empresa BCI

INOX – Brasil, bomba de deslocação positiva de fluxo e pressão da NETZSCH Ltda – Brasil, medidor de escoamento de fluxo, módulo para instalação da estrutura filtrante, inversor de frequência (DIGIFLOW Instruments, São Paulo – Brasil) para controlar a rotação da bomba, sistema eletrônico com termopar para controlar a temperatura, SALCAS Ltda / Brasil, um manômetro (0×10^5 – 10×10^5 Pa ou 0-10 bar) da Indústria ASTA Instrumentos, São Paulo – Brasil, um sistema de refrigeração associado à uma bomba centrífuga (Indústria WEG – Brasil) utilizados para promover a circulação de água refrigerada dentro da parede dupla do reservatório de alimentação com o objetivo de controlar a temperatura da mistura.

3.1.6. PROCESSO DE LIMPEZA

Após o término de cada experimento, o sistema era enxaguado com água filtrada na tentativa de remover o máximo da camada polarizada depositada na membrana. Porém, esta limpeza somente com água não era suficiente para recuperar o fluxo transmembrana inicial e, tão pouco limpar completamente os componentes da bancada de filtração. Portanto, a membrana e os aparatos da bancada eram limpos separadamente.

Todos os componentes de aço inox da bancada eram lavados manualmente com detergente neutro, água e escova, e posteriormente, imersos em solução bactericida por 1 hora e enxaguados com água em ebulição (100°C) para descontaminação.

A limpeza da membrana era realizada em duas etapas, uma limpeza química e uma limpeza térmica. Na limpeza química, a membrana era imersa (por 8 horas) em uma solução aquosa de detergente neutro e depois, enxaguada 5 vezes com água destilada. Este enxágüe era realizado, colocando-se a membrana em uma proveta e a cada 30 minutos durante 2 horas, era feita a troca da água destilada. O tratamento térmico realizado após a limpeza química tinha o objetivo eliminar a matéria orgânica aderida aos poros da membrana e conseqüentemente, recuperar o fluxo transmembrana inicial (HANEDA, 2006).

A limpeza térmica foi realizada em um forno tubular vertical (FLYEVEVER FE 50 RP), com taxa de aquecimento 10°C/min, seguindo-se os patamares: 100°C/1h, 200°C/1h, 300°C/2hs e 600°C/1h.

3.1.7. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Antes de iniciar o processo de microfiltração, realizou-se a primeira coleta de 1mL da

bebida à base de açaí contaminada para contagem de *E. coli* (UFC/mL). Vale mencionar que ao final de cada experimento, coletou-se 1mL da bebida à base de açaí, armazenada no tanque de alimentação, para contagem de *E. coli*, a fim de verificar se a concentração de bactérias manteve-se constante ao longo do processo de microfiltração tangencial.

A redução de bactérias ao longo do processo foi realizada coletando-se os seguintes permeados para contagem de *E. coli*: de 5 a 6min. - 2bar; de 40 a 41min. - 2 bar; de 5 a 6min. - 3bar; de 40 a 41min. - 3 bar; de 5 a 6min. - 4bar e de 40 a 41min. - 4 bar.

3.1.7.1. CONTAGEM DE *ESCHERICHIA COLI*

A contagem de *E. coli* (UFC/mL) foi realizada utilizando-se o método de plaqueamento em placas Petrifilm ECTM (6404®), com incubação à $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas, seguindo-se o procedimento da A.O.A.C. 991.14 & 998.08 (A.O.A.C., 2005).

Cabe ressaltar que a Placa Petrifilm ECTM é um sistema pronto de meio de cultura que contém os nutrientes do ágar vermelho violeta bile (VRBA), um agente gelificante solúvel em água, um indicador de atividade glicuronidásica (5-bromo-4cloro-3-indolil- β -D-glicuronídeo) e um indicador tetrazólico para facilitar a enumeração das colônias. Na interpretação dos resultados, conta-se as colônias azuis ou vermelhos-azuladas com gás, como *E. coli*, após incubação à 37°C por 24 ou 48 horas. (Figura 21).

Figura 21. Ilustração da placa Petrifilm ECTM para contagem de *E. coli*.

3.1.8. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE AÇAÍ E PERMEADO

Uma análise elementar foi realizada para verificar a composição química de metais da polpa de açaí, utilizando-se um Espectrômetro de Rápida Absorção Atômica Sequencial (Fast

Sequential Atomic Absorption Spectrometer), modelo AA240FS, fabricado pela VARIAN, Indústria de Instrumentos Científicos e Produtos à Vácuo, Palo Alto, Califórnia.

Outras propriedades da polpa de açaí, tais como: densidade, calor específico, difusividade térmica e condutividade térmica foram analisadas com metodologias específicas. A densidade foi determinada pelo método de deslocação de fluidos em picnômetro, seguindo-se a norma nº 985,19 da AOAC (WILLIAMS, 1990). A medida foi realizada à temperatura de 40°C.

A análise do calor específico (c_p) foi realizada com a adaptação da metodologia da literatura (HWANG; HAYAKAWA, 1979). A taxa de temperatura utilizada foi de 10°C a 80°C.

Uma adaptação da metodologia apresentada por Dickerson (1965) foi desenvolvida para analisar a difusividade térmica (α), à taxa de temperatura de 10°C a 80°C. A condutividade térmica (k) foi obtida após o conhecimento das propriedades, seguindo-se a relação: $k = \rho \cdot \alpha \cdot c_p$.

Amostras do concentrado e do permeado também foram observadas em Microscópio Ótico (Evolution QE Monochrome, Media Cybernetics, Bethesda, Estados Unidos) para analisar a presença de bactérias, glóbulos de gordura e sólidos suspensos. Com esta análise, verificou-se a diferença qualitativa entre o concentrado e o permeado.

3.1.9. CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA E FORMAÇÃO DA CAMADA POLARIZADA

A camada polarizada sob a superfície da membrana e a morfologia da mesma foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura. As imagens das análises de MEV foram obtidas em uma equipamento LEO com um detector Oxford, operando-se com um campo de elétrons de 20kV. As amostras foram recobertas com 2nm de ouro em um *sputter coater coated Balsers*, modelo SDC 050 e mantidas em dissecador até o momento da análise. Paralelamente, uma análise de EDX foi desenvolvida em um equipamento EDX Link Analytical, modelo QX 2000, unido a um microscópio eletrônico, usando-se um campo de elétron de 20kV e uma distância de 25mm do canhão para a amostra.

3.1.10. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS E ANTOCIANINA

Amostras do concentrado e permeado coletadas durante o processo de microfiltração

foram utilizadas para determinar o conteúdo de polifenóis totais e de antocianina (cianidina-3-glicosídeo), por espectrofotometria, seguindo as metodologias de George et al. (2005) e Lee (2005), respectivamente.

3.1.10.1. ANÁLISE DE POLIFENÓIS TOTAIS

Para quantificar o conteúdo de polifenóis totais foi construída uma curva de calibração à partir de diluições da solução padrão de ácido gálico. Esta solução foi preparada na proporção de 0,5g de ácido gálico para 100mL de água destilada e, posteriormente diluída em balões volumétricos de 10mL. Na Tabela 4 são apresentadas as diluições da solução de ácido gálico e a média das 3 leituras de absorbância realizadas a 760nm para a construção da curva de calibração que apresentou coeficiente de correlação linear igual a 0,993.

Tabela 4 – Diluições da solução padrão de ácido gálico para construção da curva de calibração.

Diluições	Diluições (mL de sol. ác. gálico:mL de água destilada)	Concentração de ácido gálico (mg/mL)	Média das 3 leituras de absorbância a 760nm
1	0,2/9,8	0,0996	1,078
2	0,15/9,85	0,0747	0,665
3	0,1/9,90	0,0498	0,342
4	0,075/9,925	0,0374	0,198
5	0,05/9,95	0,0249	0,107

Em balões volumétricos de 10mL pipetou-se 0,5mL das amostras de concentrado e permeado, completando o volume com água destilada. Em seguida, adicionou-se 0,5mL das amostras diluídas em tubos de ensaio de 10mL e posteriormente, adicionou-se 2,5mL de reagente de Folin-Ciocalteu [2/10], deixando as soluções em repouso por dois minutos a temperatura ambiente. Após este período, adicionou-se 2,0mL da solução de carbonato de cálcio [75g/L] e agitou-se a solução com agitador tipo vortex, modelo AP56 da marca Phoenix. Estas soluções foram deixadas em repouso em banho de água a 50°C e depois esfriadas rapidamente em banho de gelo. As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 760nm no espectrofotômetro visível, modelo SP22 da marca Biospectro (com leitura na faixa de 325nm a 1000nm).

3.1.10.2. ANÁLISE DE ANTOCIANINA MONOMÉRICA (CIANIDINA-3-GLICOSÍDEO)

O método de pH diferencial já vem sendo aplicado na quantificação da cianidina-3-glicosídeo em diversas pesquisas (LEE, 2005; ALBARICI et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2008; SADILOVA et al., 2009), e leva em consideração as transformações estruturais das

antocianinas em função do pH.

De acordo com Teixeira et al. (2008) a análise de antocianinas pelo método de pH diferencial consiste em efetuar leitura espectrofotométrica do extrato em tampão pH 1,0 e pH 4,5, baseando-se na sensibilidade destes compostos ao pH. Elevando-se o pH para 4,5 estabelece-se condição em que as antocianinas praticamente não apresentam coloração, apresentando menor absorção de energia. Por outro lado, abaixando-se o pH para em torno de 1,0, os pigmentos exibem coloração intensa. A diferença de absorbância observada espectrofotometricamente possibilita, por diferença direta, estimar a fração real de antocianina presente (FULEKI, FRANCIS, 1968).

Segundo Albarici et al. (2006), o pH do meio tem efeito sobre a forma química, a cor e a estabilidade das antocianinas, uma vez que elas assumem diferentes estruturas em função do pH. A estrutura básica da antocianina na forma do cátion flavílio (AH^+) de cor vermelha predomina a pH inferior a 3,0. À medida que o pH aumenta, o cátion perde um próton e sofre uma hidratação, formando um pseudobase ou carbinol (B) incolor em pH menor que 6,0, enquanto em pH entre 12 e 13, o carbinol se transforma por tautomerismo numa chalcona (C) amarelo pálida. Aumentando o pH acima de 6,0, o cátion flavílio perde prótons, formando primeiro a base quinoidal (A) de cor púrpura claro que em seguida, em pHs acima de 9,0 perde outro próton, formando uma base ionizada de cor azul escuro (AKWIE, 2000).

Neste trabalho, as amostras de concentrado foram filtradas em papel de filtro com o objetivo de reter os sólidos suspensos e evitar interferência na hora da leitura espectrofotométrica. Em dois balões volumétricos de 50mL foram pipetados 10mL da amostra, porém, um balão foi completado com a solução tampão de cloreto de potássio KCl (0,025M) com pH 1,0 e, o outro balão com a solução tampão de acetato de sódio $CH_3CO_2Na \cdot 3H_2O$ (0,4M) com pH 4,5. Logo após esta diluição, os balões volumétricos foram encapados com papel alumínio para retardar a degradação das amostras. Estas amostras ficaram estocadas durante 30 minutos, na ausência da luz para atingir o equilíbrio da reação e, posteriormente, cada amostra foi analisada em um espectrofotômetro visível (modelo SP22 da marca Biospectro). As leituras de absorbância das amostras diluídas nas duas soluções tampão (KCl de pH 1,0 e $CH_3CO_2Na \cdot 3H_2O$ de pH 4,5) foram realizadas no comprimento de onda de 520nm e 700nm., em uma cela de vidro. A água destilada foi utilizada como branco. O fator de diluição das amostras foi de $FD = 30$.

Como a diferença dos valores de absortividade em pH 1,0 e pH 4,5 é diretamente proporcional à concentração de antocianinas, para o cálculo do conteúdo total de antocianina monomérica (expressa como cianidina-3-glicosídeo) foi utilizada a equação 9.

$$\text{Pigmento antocianina (cianidina-3-glicosídeo, mg/L)} = \frac{A.MW.DF.10^3}{\epsilon.1} \quad (9)$$

em que: $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4,5}$; $MW = 449,2 \text{ g/mol}$ (peso molecular da cianidina-3-glicosídeo); DF = fator de diluição; $\epsilon = 26900 \text{ L/mol.cm}$ (absortividade molar da cianidina-3-glicosídeo) e 10^3 = fator de conversão de g para mg.

Segundo Albarici, Freitas e Pessoa (2009) apud Giust e Wrolstad (2001), a diferença dos valores de absortividade em pH 1,0 e pH 4,5 é diretamente proporcional à concentração de antocianinas com o cálculo baseado na cianidina-3-glicosídeo, antocianina predominante na amostra, com massa molar de 449,2g/mol e absortividade molar de 26.900.

3.1.11. ANÁLISE DA RETENÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS

A análise quantitativa da retenção de sólidos suspensos das amostras do permeado e concentrado foi realizada com o medidor de tamanho de partículas APS-100 (Matec Applied Science, Northborough, USA), baseando-se na Espectroscopia de atenuação acústica.

Quando o som passa através de uma suspensão ou colóides, ele sofre uma atenuação. O nível desta atenuação está relacionado com a distribuição do tamanho de partículas da suspensão. O APS-100 mede com muita precisão esta atenuação acústica no intervalo de 1-100 MHz de frequência. Visto que, o som viaja por todos os meios materiais, medições de atenuação acústica do APS podem ser feitas em amostras de alta concentração e/ou opacas. No entanto, a sedimentação de partículas não é um problema, já que as amostras podem ser mexidas ou bombeadas durante a medição.

A base de todos os procedimentos de caracterização ultra-sônica é a medida física do coeficiente de atenuação das ondas ultra-sônicas e a velocidade da fase como funções da frequência (CHALLIS et al., 2005). O APS-100 mede pontualmente a atenuação acústica (dB/cm) versus a frequência do som (de 1 à 100 MHz) de dispersões coloidais. Estas medidas são normalmente aplicadas à Espectroscopia de Atenuação Acústica (WU et al., 2006).

O software do APS-100 extrai dados de uma matriz contendo parâmetros

(propriedades) da partícula e do solvente para calcular o tamanho das partículas em suspensão a partir da atenuação acústica. O programa necessita de dados como: velocidade do som, coeficiente de expansão térmica, capacidade térmica, razão da capacidade térmica, compressibilidade isotérmica, densidade, condutividade térmica, rigidez ao cisalhamento e coeficiente de atenuação. Observando-se a Figura 22 é possível visualizar todas estas propriedades físico-químicas das partículas e do solvente contidas na matriz do software do APS-100.

Figura 22. Matriz de dados do APS-100.

Vários tipos de interações podem ocorrer entre o sólido disperso e o solvente, as quais resultam no desenvolvimento das cargas superficiais (MARCOS e GOUVÊA, 2002). A separação de carga existente nas interfaces partículas-solvente origina uma série de fenômenos dinâmicos associados com as partículas dispersas e são conhecidos como *efeitos eletrocinéticos*. Classicamente, há cerca de quatro efeitos distintos que dependem da maneira pela qual o movimento das partículas é induzido: *eletroforese*, *eletroosmose*, *potencial de escoamento* e *potencial de sedimentação* (também conhecido como efeito Dorn). O potencial termodinâmico para fenômenos eletrocinéticos não é a própria carga, mas a rede de carga na

interface entre o líquido que está hidrodinamicamente ligado à superfície da partícula e o volume de solvente do fluido (DUKHIN et al., 2000).

Além dos fenômenos eletrocinéticos, há outros efeitos fundamentais nos sistemas dispersos chamados de eletro-acústicos. Quando um campo elétrico alternado é aplicado a uma suspensão coloidal, as partículas deslocam-se em função da polaridade do campo e da carga elétrica associada à superfície ativa do material. Como existe uma diferença de densidade entre as partículas e líquidos, este movimento oscilatório das partículas resulta no desenvolvimento de propagação das ondas acústicas no líquido. Este efeito é chamado de ASE (Amplitude Sônica Eletrocinética) e, quando medido, oferece informação indireta sobre o valor da carga superficial (HUNTER, 1998).

Uma vez que a forma e outras propriedades das partículas podem variar, a definição matemática da distribuição do tamanho de partículas e sua determinação prática podem ser complexas. Uma aproximação padrão é definida na ISO 9276-1 (British Standards Institute 1998), chamada de teoria do diâmetro esférico equivalente, em que o tamanho da partícula é definido como o diâmetro de uma esfera tendo as mesmas propriedades físicas da partícula.

Resultados e Discussão

Neste Capítulo são apresentados resultados de parâmetros fluidodinâmicos que influenciaram o processo de microfiltração tangencial, tais como: fluxo transmembrana, número de Reynolds e pressão transmembrana. O processo foi estudado com membranas comerciais de 0,8 μ m e 1,2 μ m, em diversas condições de operação, investigando-se a retenção de microrganismos (*E. coli* CCT 0549) de uma bebida à base de açaí contaminada com *E. coli* CCT 0549. No entanto, a membrana de 1,2 μ m também foi estudada com a impregnação de prata (material bactericida).

Resultados da retenção de microrganismos nas duas estruturas cerâmicas micro-porosas, da influência da impregnação de prata e o estudo do fenômeno de polarização sobre a superfície das membranas também fazem parte da discussão desenvolvida nesta pesquisa. Para melhor compreensão, cada uma destas análises está sendo discutida separadamente ao longo deste capítulo.

4.1. ANÁLISE DO FLUXO TRANSMEMBRANA

Neste item observa-se a análise do fluxo transmembrana das duas estruturas cerâmicas micro-porosas (0,8 μ m e 1,2 μ m) em função de três parâmetros: tempo de filtração (minutos), pressão transmembrana (bar) e o regime de escoamento - número de Reynolds. Além disso, uma análise do fluxo de permeado normalizado em função do tempo foi realizada.

4.1.1. FLUXO TRANSMEMBRANA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE FILTRAÇÃO

Nos gráficos das Figuras 23a, 23b e 23c pode-se observar o comportamento do fluxo transmembrana da bebida à base de açaí em função do tempo de filtração e de quatro pressões transmembrana (1, 2, 3 e 4bar), durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se uma membrana comercial de 1,2 μ m e em regime de escoamento turbulento com $Re = 3600$,

$Re = 3200$ e $Re = 2400$, respectivamente. Na Figura 23d visualiza-se os resultados das Figuras 23a, 23b e 23c agrupados para uma mesma escala do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) em função do tempo (minutos).

Figura 23. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função do tempo de filtração (minutos), obtido com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 3600$ (a), $Re = 3200$ (b) e $Re = 2400$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 23a, 23b e 23c) numa única escala (d).

Na Figura 23a, na pressão transmembrana de 1 bar (primeira pressão estabelecida) observa-se uma redução brusca do fluxo permeado nos primeiros 12 minutos de processamento, seguida por uma estabilização. Neste regime de escoamento, com maior valor de Reynolds, $Re = 3600$ (Figura 23a), o fluxo inicial a 1 bar foi de aproximadamente $275 L/h.m^2$, enquanto a estabilização deste fluxo manteve-se próximo aos $40 L/h.m^2$.

Cabe ressaltar que mesmo aplicando continuamente pressões transmembrana mais elevadas (2, 3 e 4 bar), os fluxos de permeado não superaram o fluxo a 1 bar, e mantiveram-se praticamente constantes (em aproximadamente $25 L/h.m^2$) durante a maior parte do tempo de processamento (Figura 23a).

De acordo com Marshall e Daufin (1995), este comportamento de declínio do fluxo de permeado, observado principalmente nas Figuras 23a e 23b, pode ser dividido em três etapas. O estágio I ocorre nos primeiros minutos e caracteriza-se por uma rápida diminuição do fluxo devido à polarização da concentração, o estágio II é a etapa intermediária e é conhecida como incrustação, enquanto o estágio III apresenta um lento declínio do fluxo, determinado pela consolidação da incrustação.

Segundo Habert (2006), o aumento da pressão deve ocasionar um aumento de fluxo permeado, o que se observa para pressões mais baixas. No entanto, o aumento de fluxo permeado provoca uma maior concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana, o que tende a provocar uma queda no fluxo permeado. Assim, a partir de um certo valor de pressão, um aumento adicional desta corresponde a um aumento equivalente na resistência ao transporte do solvente, devido à polarização de concentração.

Neste contexto, pode-se dizer que o fluxo permeado constante (nos 60 minutos de experimento) observado a partir da segunda pressão com $Re = 3600$ (Figura 23a), $Re = 3200$ (Figura 23b) e $Re = 2400$ (Figura 23c), indica que a camada polarizada formou-se sobre a superfície da membrana, atingindo-se o fluxo limite nos primeiros minutos iniciais do processamento da bebida à base de açaí.

Nos dois maiores valores para o regime de escoamento, $Re = 3600$ (Figura 23a) e $Re = 3200$ (Figura 23b), a redução do fluxo permeado ocorreu em ordem crescente de aplicação da pressão transmembrana, ou seja, o primeiro maior valor do fluxo permeado foi observado a 1 bar ($J = 275 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3600$ e $J = 80 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3200$), enquanto o segundo maior valor foi apresentado a 2 bar ($J = 50 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3600$ e $J = 30 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3200$), o terceiro maior valor do fluxo foi apresentado a 3 bar ($J = 37 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3600$ e $J = 20 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3200$) e finalmente, o quarto maior valor foi apresentado a 4 bar ($J = 25 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3600$ e $J = 20 \text{ L/h.m}^2$ para $Re = 3200$).

Entretanto, no menor regime de escoamento de $Re = 2400$ (Figura 23c), esta sequência de declínio do fluxo permeado em função das pressões transmembrana aplicadas não foi a mesma apresentada em $Re = 3600$ (Figura 23a) e $Re = 3200$ (Figura 23b). Tal diferença pode ser atribuída à condição de transição do valor de Reynolds ($Re = 2400$) do regime laminar para o fluxo turbulento.

Comparando-se os três regimes de escoamento ($Re = 3600$, $Re = 3200$ e $Re = 2400$) na

Figura 23d, observa-se que os menores valores de fluxo transmembrana foram observados em $Re = 2400$. Provavelmente, neste último caso (Figura 23c), as condições de transferência de massa na superfície da membrana foram alteradas com a redução do transporte convectivo e outros efeitos de compressibilidade da camada polarizada (MENG et al., 2005) e bloqueio irreversível dos poros. Estes efeitos alteraram o fluxo transmembrana, como se observa na Figura 23c, cujos fluxos de permeado a 3 bar foram maiores do que a 2 bar e 4 bar.

Ushikubo et al. (2007) mencionaram em sua pesquisa que em membranas de microfiltração com poros grandes, mais partículas menores do que o tamanho dos poros são adsorvidas ou conduzidas em direção à superfície. Dependendo das condições de operação aplicadas, o fluxo permeado pode aumentar com a pressão transmembrana. Uma vez que a pressão transmembrana é a força motriz do processo, seu aumento conduz à uma taxa de fluxo permeado maior através do poro da membrana. Por outro lado, os autores explicam que a pressão transmembrana causa uma compactação da camada de partículas depositada na superfície da membrana, o que resulta em *fouling* e, conseqüentemente, contribui para a diminuição do fluxo permeado.

Comparando-se os resultados apresentados nas Figuras 23a, 23b e 23c, pode-se enfatizar que há uma relação direta entre o regime de escoamento (número de Reynolds) e o fluxo transmembrana (J), pois o aumento no valor de Reynolds causou um aumento no fluxo transmembrana, ou seja, o maior fluxo transmembrana foi apresentado em maior Reynolds. Este comportamento pode ser bem visualizado na Figura 23d.

Neste contexto, uma análise do comportamento do fluxo transmembrana em função do tempo de filtração, utilizando-se a membrana de $1,2\ \mu\text{m}$, também foi realizada em regimes de escoamento mais elevados do que os apresentados na Figura 23.

Nos gráficos das Figuras 24a, 24b e 24c observa-se o comportamento do fluxo transmembrana da bebida à base de açaí em função do tempo de filtração e de quatro pressões transmembrana (1, 2, 3 e 4 bar), durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se a membrana comercial de $1,2\ \mu\text{m}$, em regime de escoamento turbulento para $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$, respectivamente.

Os comportamentos dos fluxos de permeado em função do tempo de filtração nos três regimes de escoamento das Figuras 24a, 24b e 24c, podem ser visualizados, numa mesma escala, na Figura 24d.

Na Figura 24a, em regime turbulento de $Re = 60000$, na pressão transmembrana de 1 bar (primeira pressão estabelecida), observa-se uma redução brusca do fluxo permeado nos primeiros 10 minutos de processamento, seguida por uma estabilização. Comportamento semelhante foi observado anteriormente na Figura 23a, no entanto, no maior regime de escoamento, $Re = 60000$ (Figura 24a), o fluxo inicial a 1 bar foi de aproximadamente 400 L/h.m^2 e a estabilização deste fluxo foi próximo aos 11 L/h.m^2 , enquanto em $Re = 3600$ (Figura 23a), o fluxo inicial a 1 bar foi de aproximadamente 275 L/h.m^2 e a estabilização foi próximo aos 40 L/h.m^2 .

Portanto, o valor do fluxo de permeado na estabilização foi menor em $Re = 60000$ do que em $Re = 3600$. Isto indica que quanto maior o regime de escoamento, maior será a compactação de partículas na superfície da membrana ao longo do tempo de processamento, gerando menor fluxo estacionário, contudo maior fluxo inicial.

Observa-se nas Figuras 24a, 24b e 24c que mesmo aplicando continuamente pressões transmembrana mais elevadas (2, 3 e 4 bar), os fluxos transmembrana não superaram o valor do fluxo a 1 bar e mantiveram-se constantes em aproximadamente 17 L/h.m^2 em $Re = 60000$, 30 L/h.m^2 em $Re = 40000$ e 40 L/h.m^2 em $Re = 20000$ durante praticamente os 60 minutos do processamento. Comportamento semelhante foi visualizado anteriormente nas Figuras 23a ($Re = 3600$), 23b ($Re = 3200$) e 23c ($Re = 2400$), porém com fluxos transmembrana menores.

Este fluxo de permeado praticamente constante, com declínio lento desde o início do experimento, observado nas maiores pressões (3 e 4 bar) aplicadas durante os regimes de escoamento com $Re = 60000$ (Figura 24a), $Re = 40000$ (Figura 24b) e $Re = 20000$ (Figura 24c), indica a consolidação da camada polarizada sobre a superfície da membrana.

Nota-se uma semelhança entre o comportamento de declínio do fluxo transmembrana apresentado em $Re = 60000$ (Figura 24a) e em $Re = 40000$ (Figura 24b), no entanto, a estabilização dos fluxos de permeado, nas quatro diferentes pressões transmembrana, ocorreu em escalas diferentes.

Comparando-se as Figuras 24a, 24b e 24c, observa-se que o valor do fluxo inicial em $Re = 60000$ é maior do que em $Re = 40000$ e $Re = 20000$, porém o maior valor da estabilização do fluxo, após 60 minutos de processamento, é observado em $Re = 20000$, seguido do $Re = 40000$ e finalmente $Re = 60000$.

Estes valores de estabilização do fluxo de permeado são inversamente proporcionais aos números de Reynolds aplicados, ou seja, na Figura 24d, em $Re = 20000$, observa-se uma estabilização do fluxo acima de 45 L/h.m^2 , enquanto em $Re = 40000$, este valor reduziu para 25 L/h.m^2 e em $Re = 60000$, a estabilização ocorreu em valores abaixo de 25 L/h.m^2 .

Enquanto em $Re = 60000$ (Figura 24a), $Re = 40000$ (Figura 24b) e $Re = 20000$ (Figura 24c) os valores de estabilização do fluxo de permeado foram inversamente proporcionais aos números de Reynolds, nas Figuras 23a, 23b e 23c, não houve diferença entre a estabilização dos fluxos em $Re = 3600$ (Figura 23a) e $Re = 3200$ (Figura 23b), porém o valor da estabilização do fluxo em $Re = 2400$ (Figura 23c) foi o menor.

Figura 24. Gráfico do fluxo transmembrana (L/h.m^2) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 24a, 24b e 24c) numa única escala (d).

Outro aspecto importante a ser observado na Figura 24b ($Re = 40000$) é que quanto maior a pressão transmembrana aplicada, menor foi o valor de estabilização do fluxo de permeado, no entanto, em $Re = 60000$ (Figura 24a) e $Re = 20000$ (Figura 24c),

independentemente da pressão transmembrana, os fluxos se estabilizaram em valores muito próximos.

Na Figura 24c observa-se um comportamento diferente do fluxo de permeado em função do tempo de filtração ($Re = 20000$), ou seja, não houve uma queda brusca nos primeiros minutos de processamento, nem diferença significativa entre as estabilizações dos fluxos nas quatro pressões transmembrana aplicadas.

Uma repetição do processo de microfiltração tangencial, utilizando-se a membrana comercial de $1,2\mu m$, em regime de escoamento turbulento de $Re = 60000$ (Figura 25a) e $Re = 40000$ (Figura 25b) foi realizada.

Nos gráficos das Figuras 25a e 25b observa-se o comportamento do fluxo transmembrana da bebida à base de açaí em função do tempo de filtração e de três pressões transmembrana (1, 2 e 3 bar). Durante este segundo processo de microfiltração tangencial, utilizou-se a membrana comercial de $1,2\mu m$, em regime de escoamento turbulento com $Re = 60000$ e $Re = 40000$, respectivamente. A Figura 25c é a junção dos dois gráficos (Figuras 25a e 25b) numa única escala.

Nas Figuras 24a e 24b, os maiores fluxos iniciais foram observados a 1 bar, no entanto, na Figura 25a, o maior fluxo inicial foi apresentado a 2 bar e o último maior fluxo inicial foi a 1 bar e, na Figura 25b, o maior valor de fluxo inicial foi a 3 bar, seguido de 2 bar e depois 1 bar.

Em $Re = 60000$ (Figura 25a) observou-se uma queda brusca do fluxo nos primeiros 15 minutos de filtração a 2 bar, no entanto, nas pressões de 3 bar e 1 bar, o declínio do fluxo de permeado foi gradual. A estabilização do fluxo de permeado nas três pressões transmembrana ocorreu próximo de 90 L/h.m^2 .

Na Figura 25b ($Re = 40000$), o fluxo transmembrana foi diminuindo gradativamente e estabilizou-se somente após 25 minutos de processamento, no entanto, o valor de estabilização do fluxo foi próximo de 105 L/h.m^2 a 2 e 3 bar, enquanto a 1 bar o fluxo estacionário foi de aproximadamente 67 L/h.m^2 .

Observa-se na Figura 25c que reduzir o regime escoamento, de $Re = 60000$ para $Re = 40000$, nas pressões (2 e 3 bar), ocasionou um aumento no valor do fluxo de permeado inicial

e estacionário. No entanto, na pressão de 1bar, o valor do fluxo de permeado reduziu ainda mais com a variação do número de Reynolds.

O comportamento de aumento do fluxo de permeado após a redução do regime de escoamento foi anteriormente visualizado na Figura 24d.

Figura 25. Gráfico do fluxo transmembrana (L/h.m²) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos), obtido com a membrana comercial de 1,2µm em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a) e $Re = 40000$ (b). Uniformização dos fluxos transmembrana em função do tempo nos dois regimes de escoamento (Figuras 25a e 25b) numa mesma escala (c).

Observa-se na Figura 25b que o maior fluxo transmembrana inicial foi de aproximadamente 145 L/h.m² a 3bar, seguido de 140 L/h.m² a 2 bar e 93 L/h.m² a 1bar. Portanto, pode-se dizer que ao contrário do que foi visualizado nos gráficos das Figuras 23 e 24, na Figura 25b, o aumento da pressão transmembrana proporcionou um aumento do fluxo transmembrana, indicando a formação de uma camada polarizada reversível ao longo do processamento da bebida à base de açaí, em regime de escoamento turbulento com $Re = 40000$. Esta mesma situação foi visualizada em regime de escoamento de $Re = 60000$ (Figura 25a) ao elevar a pressão transmembrana de 1 bar para 2 bar.

No entanto, esta formação reversível da camada polarizada não foi visualizada em regime de escoamento de $Re = 60000$ (Figura 25a), quando a pressão foi alterada de 2 bar para 3 bar. Na Figura 25a, o primeiro fluxo transmembrana inicial (aproximadamente 160 L/h.m^2) foi visualizado a 2 bar, o segundo fluxo transmembrana inicial (aproximadamente 130 L/h.m^2) foi apresentado a 3 bar e o terceiro fluxo transmembrana inicial (aproximadamente 125 L/h.m^2) foi observado a 1 bar.

No caso da Figura 25a, pode-se dizer que houve a formação de uma camada polarizada reversível a 1 bar (primeira pressão estabelecida) que pôde ser reduzida ao elevar a pressão para 2 bar. Porém, durante a filtração da bebida à base de açaí a 2 bar, formou-se uma camada polarizada que não foi reduzida com o aumento da pressão para 3 bar, ou seja, mesmo aplicando-se uma pressão mais elevada, a camada polarizada não reduziu.

Portanto, observa-se que números de Reynolds mais elevados ($Re = 40000$ e $Re = 60000$) promoveram comportamentos diferentes nos fluxos transmembrana.

Comparando-se os dois experimentos (Figura 24 e 25), nota-se que ocorreu uma diminuição do fluxo de permeado do primeiro (Figura 24) para o segundo experimento (Figura 25) com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$, nos dois maiores regimes de escoamento ($Re = 60000$ e $Re = 40000$). No entanto, observa-se que a estabilização do valor do fluxo de permeado foi maior no experimento de repetição (Figura 25) do que no processamento inicial (Figura 24). Este comportamento indica que mesmo limpando a membrana química e termicamente após cada experimento, o desempenho de filtração desta estrutura cerâmica micro-porosa modificou-se ao longo de seu tempo de uso.

As mesmas condições de operação, tais como número de Reynolds, pressão transmembrana e tempo de filtração, foram seguidas para realizar a microfiltração da bebida à base de açaí com a membrana de $0,8\mu\text{m}$.

Nos gráficos das Figuras 26a, 26b e 26c observa-se o comportamento do fluxo transmembrana da bebida à base de açaí em função do tempo e de quatro pressões transmembrana (1, 2, 3 e 4bar), durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se uma membrana comercial de $0,8\mu\text{m}$ e em regime de escoamento turbulento de $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$, respectivamente. A união destes três gráficos (Figura 26a, 26b e 26c), numa mesma escala, pode ser visualizada na Figura 26d.

Semelhanças e diferenças no comportamento do fluxo transmembrana em função do tempo de filtração puderam ser visualizadas durante o processo de microfiltração tangencial ao reduzir o tamanho de poro da membrana de 1,2 μ m para 0,8 μ m.

Assim como já visto nas Figuras 23d e Figura 24d, o fluxo transmembrana inicial da Figura 26d, também foi proporcional ao regime de escoamento, ou seja, quanto maior o número de Reynolds, maior o fluxo inicial.

Na Figura 24d, os valores de estabilização do fluxo de permeado foram inversamente proporcionais aos números de Reynolds ($Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 200000$), porém na Figura 23d não houve diferença entre a estabilização dos fluxos em $Re = 3600$ e $Re = 3200$, mas o valor da estabilização do fluxo em $Re = 2400$ foi menor. No caso da membrana de 0,8 μ m, observa-se na Figura 26d que a estabilização do fluxo em $Re = 40000$ foi maior do que em $Re = 20000$ e $Re = 60000$.

Outra semelhança observada com as Figuras 23 e 24 é a redução brusca do fluxo de permeado a 1 bar (primeira pressão transmembrana aplicada) nos primeiros 10 minutos de filtração, seguida de uma estabilização, em regime de escoamento $Re = 60000$ (Figura 26a).

Na Figura 26d observa-se que a redução do fluxo permeado ocorreu em diferentes seqüências em função da pressão transmembrana, ou seja, no regime de escoamento de $Re = 60000$, o fluxo estacionário foi maior a 2bar (80 L/h.m²), seguido de 3bar e 4bar (60 L/h.m²), e finalmente 1 bar (30 L/h.m²). Em $Re = 40000$, o fluxo estacionário nas quatro pressões foi próximo de 70 L/h.m², enquanto em $Re = 20000$, este fluxo foi de aproximadamente 35 L/h.m², também independente da pressão transmembrana aplicada.

Figura 26. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função do tempo (minutos) obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c). Uniformização dos fluxos x tempo nos três regimes de escoamento (Figuras 26a, 26b e 26c) numa única escala (d).

Assim como na Figura 24c, na Figura 26c ($Re = 20000$) não se observou queda brusca nos primeiros minutos de processamento e não há uma diferença significativa entre as estabilizações dos fluxos nas quatro pressões transmembrana aplicadas.

4.1.2. Fluxo transmembrana em função da pressão transmembrana

A análise do fluxo transmembrana também pode ser realizada em função da pressão transmembrana. Portanto, realizou-se uma comparação entre os fluxos transmembrana em função da pressão transmembrana apresentados pelas membranas de $0,8$ e $1,2\mu m$, em regimes de escoamento de $Re = 20000$, $Re = 40000$ e $Re = 60000$.

Nas Figuras 27a, 27b e 27c visualiza-se o fluxo transmembrana da bebida à base de açaí em função das pressões transmembrana (1, 2, 3 e 4 bar), durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se uma membrana comercial de $0,8\mu m$, em regimes de escoamento

turbulento com $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$, respectivamente. Entretanto, nas Figuras 28a, 28b e 28c observa-se o fluxo transmembrana em função das pressões transmembrana (1, 2, 3 e 4bar), utilizando-se uma membrana comercial de $1,2\mu m$, sob os mesmos regimes de escoamento de $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$, respectivamente.

Nota-se nas Figuras 27a e 27c uma relação direta entre o aumento da pressão com o aumento no fluxo de permeado, ou seja, ao elevar a pressão de 1bar para 2 bar, em $Re = 60000$, o fluxo transmembrana também aumentou. O mesmo comportamento do fluxo transmembrana pôde ser visto em $Re = 20000$, alterando-se a pressão de 1bar para 2bar e depois para 3bar.

Comparando-se os gráficos da Figura 27 (membrana comercial de $0,8\mu m$) com os da Figura 28 (membrana de $1,2\mu m$), observa-se esse aumento do fluxo transmembrana ao elevar a pressão, na Figura 28a ($Re = 60000$), de 1bar para 2bar e na Figura 28 c ($Re = 20000$), de 2bar para 3 bar.

Figura 27. Gráfico do fluxo transmembrana ($L/h.m^2$) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 28. Gráfico do fluxo transmembrana (L/h.m²) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de 1,2μm em escoamento turbulento com Re = 60000 (a), Re = 40000 (b) e Re = 20000 (c).

Em regime de escoamento de Re = 40000, ambas as membranas (0,8 μm e 1,2 μm) apresentaram o mesmo comportamento do fluxo de permeado em função da pressão transmembrana. Nas Figuras 27b e 28b, a pressão transmembrana foi inversamente proporcional ao fluxo de permeado, ou seja, um aumento na pressão, não causou um aumento no fluxo.

No menor regime de escoamento (Re = 20000), a alteração do tamanho do poro da membrana, de 0,8μm para 1,2 μm, gerou diferentes comportamentos do fluxo de permeado em função da pressão transmembrana. Na Figura 27c observa-se que o fluxo de permeado elevou diretamente com o aumento da pressão, enquanto na Figura 28c (membrana de 1,2 μm), o fluxo de permeado elevou apenas com o aumento da pressão de 2 bar para 3 bar.

4.1.3. Fluxo de permeado normalizado em função do tempo de filtração

Neste item consta uma análise do fluxo de permeado normalizado das estruturas cerâmicas micro-porosas (de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$) em função do tempo de filtração, baseando-se na comparação de três modelos de comportamento de *fouling* apresentada por Zeman e Zydney (1996).

Zeman e Zydney (1996) compararam os três modelos existentes de comportamento de *fouling*: bloqueio de poro, constrição do poro e formação da torta de filtração, como pode ser visualizado na Figura 29. Segundo os autores, os três modelos apresentam um declínio quase linear em um curto intervalo de tempo, no entanto, o declínio mais acentuado é observado no modelo de formação da torta de filtração (*cake*). O comportamento oposto é visualizado em longos intervalos de tempo, onde o fluxo mais baixo é obtido com o modelo de bloqueio de poro. Em maiores intervalos de tempo, o fluxo dado pelo modelo de bloqueio de poro diminui exponencialmente com o tempo.

Baseando-se na Figura 29 (ZEMAN e ZYDNEY, 1996), buscou-se analisar o comportamento de *fouling* apresentado pelas membranas comerciais, de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$, ao longo do tempo de filtração da bebida à base de açaí em função das pressões transmembrana aplicadas.

Figura 29. Comparação entre os modelos de bloqueio de poro, constrição de poro e formação da camada polarizada (*cake*) através do fluxo de permeado normalizado em função do tempo adimensional.

Adaptado da Fonte: ZEMAN e ZYDNEY (1996).

Nas Figuras 30a (membrana comercial de $0,8\mu\text{m}$) e 31a (membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$), a 1 bar, pode-se dizer que houve um bloqueio dos poros ao longo do tempo de

filtração, enquanto, uma constrição dos poros foi observada nas Figuras 30b e 31b, na mesma pressão. Esse modelo de constrição de poro também foi observado na membrana de $1,2\mu\text{m}$ a 2 bar em $Re = 60000$ (Figura 31a), seguido de um comportamento de formação da torta de filtração a 3 bar e 4 bar.

Neste contexto, os comportamentos do fluxo normalizado em função do tempo de filtração, nas pressões transmembrana de 2bar, 3bar e 4bar, das Figuras 30a ($Re = 60000$), 30b ($Re = 40000$) e 31b($Re = 40000$), indicam que houve a formação da torta de filtração (*cake*). E assim como nestes casos, nas Figuras 30c e 31c, nas quatro pressões testadas, também houve uma formação da *cake* desde o início da filtração. Isto indica que quanto mais turbulento é o escoamento, melhor se observa as etapas do fenômeno de compactação das partículas sobre a superfície da membrana, incluindo-se o bloqueio dos poros e a formação da torta de filtração.

Figura 30. Gráfico do fluxo de permeado normalizado (J/J_0) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $0,8\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 31. Gráfico do fluxo de permeado normalizado (J/J_0) com a bebida à base de açaí em função da pressão transmembrana, obtido com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Nota-se que as duas membranas comerciais apresentaram comportamento de *fouling* muito semelhante nos três regimes de escoamento e também nas quatro pressões transmembrana.

4.1.4. Fluxo de permeado linearizado em função do tempo de filtração

Além desta análise de fluxo de permeado normalizado em função do tempo de filtração apresentada por Zeman e Zydney (1996), os mecanismos de *fouling* podem ser determinados ajustando-se os vários modelos típicos de *fouling* aos resultados experimentais de microfiltração, como apresentado no trabalho de Lim e Bai (2003).

Lim e Bai (2003) consideram desprezível o *fouling* por constrição de poro devido ao grande tamanho das partículas retidas na membrana, ou seja, no processo de microfiltração, o *fouling* predominantemente é causado por um bloqueio de poro e/ou pela formação da *cake*.

Portanto, este ajuste nos dados experimentais do fluxo de permeado foi realizado, considerando-se o modelo de bloqueio de poro ($\ln J = -K_p t + \ln J_0$) e o modelo de formação da *cake* ($\frac{1}{J^2} = \frac{1}{J_0^2} + K_c t$).

Segundo Lim e Bai (2003), em geral, a microfiltração resulta de um processo inicial limitado pela membrana, depois passa a ser limitado pelo bloqueio dos poros, e conseqüentemente limitado pela formação da torta de filtração. Isto implica dizer que num estágio inicial, a resistência devido ao bloqueio dos poros e a resistência devido à formação da torta de filtração são pequenas, e por isso a resistência da membrana limpa (R_m) pode exercer uma influência significativa no fluxo de permeado. Desta forma, o fluxo permeado pode ser descrito por um modelo limitado pela membrana. Entretanto, devido à alta carga de sólidos, a microfiltração limitada pela membrana se mantém apenas por um curto intervalo de tempo (de 5 a 15 minutos ou menos).

Os ajustes no modelo de bloqueio de poro foram realizados calculando-se o logaritmo natural dos dados experimentais de fluxo ($\ln J$) em função do tempo de filtração, obtidos para a membrana de 0,8 μm (Figura 32) e 1,2 μm (Figura 33). Enquanto, o ajuste no modelo da formação da torta de filtração foi calculado dividindo-se 1 pelo quadrado do fluxo experimental ($1/J^2$) apresentado pelas membranas de 0,8 μm (Figura 34) e 1,2 μm (Figura 35) em função do tempo de filtração.

As linhas vermelhas nos gráficos representam o ajuste para correlação linear do modelo de bloqueio de poro ($\ln J$) (Figura 32 – membrana de 0,8 μm e Figura 33 – membrana de 1,2 μm) e formação da torta de filtração ($1/J^2$) (Figura 34 – membrana de 0,8 μm e Figura 35 – membrana de 1,2 μm) em função do tempo de filtração.

Figura 32. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de bloqueio de poro para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 33. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de bloqueio de poro para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 34. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de formação da *cake* para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 35. Determinação dos mecanismos de *fouling* através de ajuste do modelo de formação da *cake* para os dados experimentais obtidos com a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Para identificar em qual dos dois modelos os dados experimentais obtiveram correlação mais apropriada, realizou-se uma comparação entre os índices de ajuste para correlação linear (Tabela 5) correspondentes aos dois modelos (bloqueio de poro e formação da *cake*) apresentados pelas estruturas micro-porosas durante o processo de microfiltração e em regimes de escoamento com $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$.

Na Tabela 5 observa-se que ambas as membranas comerciais (tamanho médio de poro de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$) apresentaram índices de ajuste do modelo de bloqueio de poro e do modelo de formação da torta de filtração muito semelhantes, ou seja, as maiores médias de ajuste (%) foram apresentadas em $Re = 40000$, em seguida valores intermediários foram apresentados a $Re = 60000$, e conseqüentemente as menores médias a $Re = 20000$.

Nota-se que as membranas micro-porosas em regime de escoamento de $Re = 20000$

apresentaram a menor diferença entre as médias de ajuste do modelo de bloqueio de poro e do modelo de formação da torta de filtração, podendo ser considerada insuficiente para classificar o comportamento de *fouling*. Isto permite afirmar que neste regime de escoamento ($Re = 20000$), pode estar ocorrendo uma transição do *fouling* causado por bloqueio de poro para uma redução de fluxo causada pela formação da torta de filtração. Este mesmo comportamento ocorreu na membrana de $0,8\mu m$ em $Re = 40000$.

Situação inversa foi visualizada em $Re = 60000$, no qual as maiores diferenças entre as médias de ajuste do modelo de bloqueio de poro e do modelo de formação da torta de filtração foram observadas, podendo ser afirmado que o *fouling* foi causado predominantemente pela formação da camada de filtração para as duas estruturas micro-porosas.

Tabela 5 – Índices de ajuste para correlação linear (%) dos modelos de bloqueio de poro e formação da torta de filtração para as membranas de $0,8\mu m$ e $1,2\mu m$ nas condições de escoamento de $Re = 60000$, $Re = 40000$ e $Re = 20000$ e nas pressões transmembrana de 1 a 4 bar.

	Membrana de 0,8μm		Membrana de 1,2μm		
	Índice de ajuste para correlação linear (R ² = %)		Índice de ajuste para correlação linear (R ² = %)		
Pressão transmembrana	Modelo de bloqueio de poro	Modelo de formação da torta de filtração	Modelo de bloqueio de poro	Modelo de formação da torta de filtração	
1bar	75	86	76	97	Re = 60000
2bar	95	99	84	95	
3bar	93	96	89	92	
4bar	94	95	85	88	
Média	88,75	94	83,50	93	
1bar	89	96	85	95	Re = 40000
2bar	98	98	94	97	
3bar	93	94	93	96	
4bar	85	85	97	98	
Média	91,25	93,25	92,25	96,50	
1bar	95	95	92	93	Re = 20000
2bar	68	70	94	96	
3bar	68	70	85	86	
4bar	72	72	86	86	
Média	75,75	76,75	89,25	90,25	

4.2. ANÁLISE DE RESISTÊNCIA

Segundo Zeman e Zydney (1996), as diferenças entre os modelos de *fouling* tornam-se muito mais aparentes na análise da resistência relativa (R/R_m) em função do tempo de filtração, como se pode visualizar na Figura 36.

Figura 36. Comparação entre os modelos de bloqueio de poro, constricção de poro e formação da camada polarizada (*cake*) através da resistência relativa (R/R_m) em função do tempo adimensional. Adaptado da Fonte: ZEMAN e ZYDNEY (1996).

A análise de Zeman e Zydney (1996) relata que os modelos, bloqueio do poro e constricção de poro, estabelecem que a resistência relativa aumenta à medida que se eleva o tempo com uma inclinação crescente (convexa), enquanto o modelo de formação da camada polarizada estabelece que o gráfico de R/R_m versus tempo seja côncavo (Figura 36).

Nas Figuras 37 e 38 observa-se o comportamento da resistência relativa (R/R_m) em função do tempo de filtração dos resultados experimentais obtidos neste trabalho, respectivamente com a membrana comercial de 0,8 μ m e 1,2 μ m, nos regimes de escoamento de $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Comparando-se os gráficos de resistência relativa (R/R_m) versus tempo nas Figuras 37 e 38 observam-se tendências semelhantes de comportamento para todas as condições experimentais. Por outro lado, nenhum resultado das Figuras 37 e 38 apresentaram uma tendência típica de bloqueio de poro (convexa), como na Figura 36. Na maioria dos resultados dos gráficos das Figuras 37 e 38 prevalece o modelo de formação da *cake*, com tendência linear de crescimento. Em particular, na Figura 37c observa-se uma exceção à tendência linear na condição experimental de 1 bar, a qual é melhor caracterizada pelo modelo de constricção

de poro (convexa). Esta tendência convexa também foi observada na Figura 38b ($Re = 40000$) nas condições de 3 e 4 bar.

Resultados muito semelhantes foram obtidos por Arora et al. (2009) no estudo do fracionamento da vinhaça utilizando o processo de ultrafiltração, no qual o modelo de resistência em série auxiliou na avaliação dos componentes de resistência responsáveis pelo *fouling* e prognóstico do declínio do fluxo total em função do tempo de filtração. Os autores observaram que R/R_m aumentou durante os 30 minutos iniciais, atingindo um valor constante após este intervalo e associaram este fator às propriedades hidrofílicas das membranas de celulose utilizadas na ultrafiltração.

Figura 37. Gráfico da resistência adimensional (R/R_m) com a bebida à base de açaí em função do tempo de filtração, obtido com a membrana comercial de $0,8\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

Figura 38. Gráfico da resistência adimensional (R/R_m) com a bebida à base de açaí em função do tempo de filtração, obtido com a membrana comercial de $1,2\mu m$ em escoamento turbulento com $Re = 60000$ (a), $Re = 40000$ (b) e $Re = 20000$ (c).

4.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Na primeira etapa deste trabalho foram realizados os testes experimentais de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada com o objetivo de analisar a retenção de microrganismos nas membranas comerciais de $0,8$ e $1,2\mu m$ (sem a impregnação das nanopartículas de prata).

Posteriormente, a membrana de $1,2\mu m$ foi impregnada com nanopartículas de prata e utilizada no processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada com *E. coli*, visando à retenção destes microrganismos.

Na Figura 39 observa-se a porcentagem de retenção ou redução de microrganismos em função de três diferentes pressões transmembrana (2, 3 e 4 bar) e regimes de escoamento ($Re = 20000$, $Re = 40000$ e $Re = 60000$) aplicados durante o processo de microfiltração tangencial

da bebida à base de açaí contaminada, com concentração inicial de 2×10^7 UFC/mL, utilizando-se uma membrana de $1,2\mu\text{m}$ sem impregnação de prata. Na Figura 39 visualiza-se que os maiores índices de retenção foram apresentados no menor regime de escoamento ($Re = 20000$), entre 99,50 e 99,98%, enquanto os menores índices corresponderam ao maior regime de escoamento ($Re = 60000$), entre 96,00 e 99,85%. No regime de escoamento intermediário ($Re = 40000$), os índices de retenção de microrganismos ficaram entre 98,50 e 99,70%.

Figura 39. Porcentagem de retenção de microrganismos (*E. coli*) durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada, utilizando-se a membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ sem a impregnação da prata.

No menor regime de escoamento ($Re = 20000$) observou-se (Figura 39) que na pressão de 2 bar, no início do processo, a retenção foi de 99,50%, aumentando para 99,90% a 2 bar no fim do processo, ou seja, após 40 minutos de filtração. Posteriormente, mesmo elevando-se a pressão para 3 bar, nos primeiros 5 minutos do processo, observou-se a maior retenção (99,98%), porém no fim do processamento a 3 bar, notou-se que a porcentagem de retenção reduziu. Este mesmo comportamento de redução de microrganismos no início e no final do processamento também foi verificado a 4 bar.

Este comportamento de redução, no menor regime de escoamento ($Re = 20000$), ocorreu porque no início da aplicação da primeira pressão transmembrana (2 bar), provavelmente os poros da membrana estavam desobstruídos, e à medida que a camada polarizada foi se estabilizando, o índice de retenção foi aumentando, mesmo após aplicar a

segunda pressão transmembrana (3 bar). Porém, quando se aplicou a terceira pressão transmembrana (4 bar), algumas partículas da camada polarizada foram transportadas e a retenção de microrganismos diminuiu quando comparada à retenção na pressão de 3bar.

Na Figura 40 observa-se o desempenho de retenção bacteriana de uma membrana de 0,8µm sem impregnação de prata, obtido em porcentagem de retenção de *E. coli* em função de três diferentes pressões transmembrana (2, 3 e 4 bar), aplicados durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada (concentração inicial de 2×10^7 UFC/mL).

De acordo com a Figura 40, o melhor desempenho de retenção de microrganismos (entre 99,95 e 99,99%) foi alcançado pela membrana de 0,8µm quando submetida ao menor regime de escoamento ($Re = 20000$), enquanto os índices intermediários de retenção foram obtidos pela membrana no maior regime de escoamento ($Re = 60000$), apresentando-se entre 99,85 e 99,98%. No regime de escoamento intermediário ($Re = 40000$), a membrana apresentou índices de retenção de microrganismos menores (entre 99,70 e 99,96%).

Figura 40. Porcentagem de retenção de microrganismos (*E. coli*) durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada, utilizando-se a membrana comercial de 0,8µm sem a impregnação da prata.

Segundo a Figura 40, ocorreram oscilações de retenção ao longo do processo de microfiltração quando as pressões transmembrana foram elevadas e até mesmo sob as mesmas no início e no final do processamento. Por exemplo, nota-se que o índice de retenção a 2 bar

no início do processo foi de 99,990% e aumentou para 99,995% no final dos 40 minutos do processamento. Porém, quando se elevou a pressão para 3 bar, o índice de retenção diminuiu para 99,950% no início, mas aumentou para 99,990% no final do processamento à mesma pressão. E quando a terceira pressão transmembrana (4bar) foi aplicada, o índice de retenção reduziu para 99,970% no início e elevou-se para 99,990% no final dos 40 minutos do processamento. O mesmo comportamento de oscilações foi apresentado pela membrana em regime de escoamento intermediário de $Re = 40000$.

Na Figura 40 observa-se que no maior valor de Reynolds ($Re = 60000$), o melhor índice de retenção (99,98%) foi apresentado pela membrana no início do processamento a 2 bar, enquanto com exceção do índice de retenção de 99,85% a 3 bar no final do processamento, nas demais condições todos os índices mantiveram-se em 99,90% de retenção de *E. coli*.

Na Figura 41 pode-se visualizar a porcentagem de retenção dos microrganismos (*E. coli* CCT 0549) das amostras coletadas durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se as membranas comerciais de 0,8 μ m e 1,2 μ m, sem a impregnação de nanopartículas de prata.

Na Figura 41, a membrana de 0,8 μ m apresentou índices de retenção de aproximadamente 99,92%, enquanto a média dos índices de retenção na membrana de 1,2 μ m foi de 99,25%. Mesmo os índices de retenção de microrganismos terem sido acima de 99% para ambas as estruturas, pode-se dizer que a retenção de *E. coli* foi maior na membrana de 0,8 μ m do que na membrana de 1,2 μ m.

Uma vez que a membrana comercial de 1,2 μ m, sem a impregnação de prata, apresentou desempenho de retenção menor do que a membrana de 0,8 μ m, optou-se pela impregnação de nanopartículas de prata na estrutura micro-porosa de 1,2 μ m. O processo de impregnação foi realizado com o objetivo principal de aprimorar a retenção de microrganismos, sem reduzir o tamanho do poro e conseqüentemente, também não diminuir o fluxo transmembrana.

Cabe ressaltar que os testes de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí contaminada foram desenvolvidos com a membrana comercial de 1,2 μ m impregnada com a solução de citrato de prata na proporção 3 mols de ácido cítrico para 3 mols de nitrato de prata. A opção da proporção de 3:3 foi realizada em função da quantidade de nanopartículas de prata observadas nas fotomicrografias das membranas impregnadas com as proporções de

3:1, 3:2 e 3:3. As imagens retiradas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) podem ser visualizadas no item 4.5.

Figura 41. Porcentagem de retenção dos microrganismos (*E. coli* CCT 0549) ao longo do processo de microfiltração, utilizando-se as membranas de 0,8 e 1,2 μ m, sem impregnação de prata, em escoamento turbulento, variando-se as velocidades do escoamento e as pressões transmembrana.

Com o objetivo de garantir uma avaliação confiável da influência da prata no processo de retenção dos microrganismos, foram realizados três testes de microfiltração utilizando a membrana comercial de 1,2 μ m impregnada com prata. Tais processos foram realizados com parâmetros padronizados, ou seja, o número de Reynolds, as pressões transmembrana e a concentração inicial (de $2 \cdot 10^7$ UFC/mL) eram sempre as mesmas para os três testes. O valor de Reynolds, $Re = 20000$, foi selecionado para a realização desta triplicata devido ao melhor desempenho de retenção da membrana comercial de 1,2 μ m não impregnada.

Na Figura 42 apresenta-se a porcentagem de retenção dos microrganismos (*E. coli* CCT 0549) durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se a membrana comercial de 1,2 μ m com e sem a impregnação de nanopartículas de prata.

Na Figura 42, quando comparamos os índices de retenção apresentados pela membrana sem a impregnação de prata com os resultados obtidos pela membrana com impregnação no primeiro e terceiro experimento, não observamos diferença significativa de retenção. No entanto, comparando-se os índices de retenção apresentados pela membrana sem impregnação com os resultados do segundo experimento da membrana de 1,2 μ m impregnada, pode-se dizer

que a prata influenciou positivamente o processo de retenção dos microrganismos, com índices de retenção maiores que 99,99%.

Figura 42. Porcentagem de retenção de bactérias (*E. coli*) obtida pela membrana comercial de 1,2µm sem a impregnação de nanopartículas de prata e com a impregnação de prata (1º experimento; 2º experimento e 3º experimento).

Importante ressaltar que mesmo utilizando a membrana comercial com maior tamanho médio de poro (1,2µm), a retenção para todas as condições foi muito próxima de 100%, indicando a possibilidade de utilização desta estrutura micro-porosa como sistema de esterilização não-térmico para a indústria alimentícia.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS

A morfologia da membrana inorgânica, composta de α -alumina e com 1,2µm de tamanho nominal de poro, foi analisada através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

A fotomicrografia da Figura 43 apresenta a imagem do corte transversal realizado na estrutura cerâmica. Observa-se na Figura 43 a presença de duas regiões: suporte cerâmico e membrana. O suporte cerâmico (Figura 43b) corresponde à região com grandes partículas irregulares de alumina que propiciam resistência física ao tubo cerâmico. A membrana (Figura 43c) é caracterizada por pequenas partículas arredondadas de alumina que correspondem à região de permeabilidade e seletividade da estrutura micro-porosa.

De acordo com Zeman; Zydney (1996) e Cheryan (1998) e observando-se a fotomicrografia da Figura 43, a membrana pode ser classificada como uma micro-estrutura inorgânica anisotrópica (do tipo bicamada), em que o transporte de permeados ocorre preferencialmente em uma fase contínua de fluido que preenche os poros da membrana.

Figura 43. Fotomicrografia da membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$ de tamanho médio de poro, identificando suporte cerâmico e membrana (a); fotomicrografia do suporte cerâmico da estrutura micro-porosa de $1,2\mu\text{m}$ (b) e fotomicrografia da membrana (c)

4.5. ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO DA IMPREGNAÇÃO DE PRATA NA MEMBRANA

O processo de impregnação da prata na estrutura cerâmica passou por etapas descritas anteriormente, no entanto, a mais importante consistiu em especificar qual seria a concentração da solução de citrato de prata ideal para a impregnação, ou seja, escolher dentre

as três concentrações, 3:1, 3:2 ou 3:3 de ácido cítrico para nitrato de prata, qual apresentaria melhor homogeneidade e suficiente quantidade de nanopartículas de prata impregnada nos poros da estrutura micro-porosa.

Para escolher a concentração ideal do citrato de prata, amostras das membranas impregnadas com as três concentrações foram analisadas por MEV e EDX.

Nas Figuras 44a e 44b observam-se imagens de duas regiões da membrana impregnada com a concentração de 3 mols de ácido cítrico para 1 mol de nitrato de prata. Duas análises de EDX foram realizadas, a primeira foi a contagem da prata correspondente a toda a região apresentada na imagem da Figura 44a, enquanto a segunda corresponde à análise de EDX pontual da partícula branca, indicada com o número 1, na imagem da Figura 44b. As Figuras 44c e 44d apresentam a distribuição da alumina e da prata em função da energia (KeV) correspondentes às Figuras 44a e 44b, respectivamente.

O mapeamento por EDX na imagem da Figura 44a não apresentou quantidade significativa de prata (0,54%), enquanto a análise pontual no local indicado com o número 1, na Figura 44b, apresentou 2,8% de prata.

Durante a análise da primeira impregnação (3:1), percebeu-se que realizar o mapeamento por EDX em toda a região da imagem obtida por MEV, ou seja, sem especificar uma área a ser analisada (mapeada), ficava difícil de quantificar a porcentagem de prata presente na amostra. A partir desta observação, determinou-se que as análises das demais concentrações de citrato de prata seriam realizadas com análises pontuais.

A prata quando observada através do Microscópio Eletrônico de Varredura, apresenta cor branca, e portanto, para pontuar uma área a ser mapeada por EDX, durante a análise de microscopia, procurou-se as regiões brancas, onde a probabilidade de encontrar prata fosse maior. Cabe ressaltar que o mapeamento por EDX foi realizado em várias áreas selecionadas nas membranas impregnadas, no entanto, neste tópico foram selecionados dentre diversos, os resultados mais significativos.

Figura 44. Fotomicrografia da membrana de 1,2 μm impregnada com a concentração 3:1 de citrato de prata com aumento de 2300x (a) e 7000x (b) e suas respectivas análises de EDX (c e d).

A Figura 45a corresponde à imagem de uma amostra da membrana impregnada com o citrato de prata na concentração de 3:2. Dentre todos os pontos brancos presentes na Figura 45a, a região circulada foi a que mais se destacou, e assim, foi a área pontuada para realizar o mapeamento por EDX.

O mapeamento por EDX da região selecionada na Figura 45a apresentou 12,15% de prata. Esta quantidade de prata presente na membrana com a concentração de 3:2 (Figura 45) foi aproximadamente 10% maior do que a quantidade apresentada no mapeamento da imagem da Figura 44b (concentração 3:1).

Figura 45. Fotomicrografia da membrana de 1,2 μm impregnada com a concentração 3:2 de citrato de prata com aumento de 300x (a) e sua respectiva análise de EDX (b).

A Figura 46a corresponde à imagem de uma amostra da membrana impregnada com o citrato de prata na concentração de 3:3. Dentre todos os pontos brancos presentes na Figura 46a, a região circulada foi a área pontuada para realizar o mapeamento por EDX.

O mapeamento por EDX da região selecionada na Figura 46a (aumento de 500x) apresentou 37,50% de prata (Figura 46c). Diante desta excelente quantidade, uma região mais específica, selecionada numa área de aumento de 7000x, foi pontuada para o mapeamento por EDX (Figura 46 b) e apresentou 13,79% de prata (Figura 46d).

Cabe ressaltar que de todas as análises de EDX realizadas nas diversas regiões das membranas impregnadas com as concentrações de 3:1, 3:2 e 3:3, somente a membrana impregnada com a maior concentração apresentou quantidade de prata acima de 30%.

Nas demais regiões selecionadas na membrana impregnada com a concentração 3:3, a quantidade de prata variou entre 13,79% e 14,17%. Enquanto na membrana impregnada com a concentração 3:2, a quantidade de prata variou entre 10,68 e 12,15%.

Figura 46. Fotomicrografia da membrana de 1,2 μm impregnada com a concentração 3:3 de citrato de prata com aumento de 500x (a) e 7000x (b) e suas respectivas análises de EDX (c e d).

Uma vez que um dos objetivos deste trabalho era encontrar a concentração do citrato de prata que apresentaria maior quantidade de prata na membrana, optou-se por realizar a investigação da retenção de microrganismos com a membrana impregnada com a concentração 3:3.

4.6. ANÁLISE DA FORMAÇÃO DA CAMADA POLARIZADA

Para analisar a formação da camada polarizada sobre a superfície da membrana, após o processo de microfiltração com a bebida à base de açaí, uma amostra foi retirada da membrana de 1,2 μm e colocada na estufa à temperatura de 35°C para secar. A não utilização de temperatura elevada ocorreu devido à preservação da estrutura celular dos microrganismos.

Após a secagem, a amostra foi levada ao microscópio eletrônico de varredura para observação da camada polarizada, formada após 180 minutos de microfiltração, na qual variou a pressão transmembrana a cada 60 minutos.

As fotomicrografias apresentadas na Figura 47 representam a vista lateral e frontal da

membrana comercial de 1,2 μ m antes e após o processo de microfiltração da bebida à base de açaí. A imagem lateral da estrutura micro-porosa analisada antes da microfiltração apresenta duas diferentes regiões (Figura 47a). A região 1 corresponde ao suporte cerâmico, onde são visualizadas grandes partículas de alumina e grandes poros, enquanto na região 2 encontram-se pequenas partículas uniformes e arredondadas de alumina e pequenos poros que correspondem à camada de membrana.

Durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí, formou-se uma camada polarizada, como se fosse um lençol na superfície da membrana (região 3 na Figura 47b). Esta camada polarizada apresentou aproximadamente 59,6 μ m de espessura.

Figura 47. Fotomicrografias da membrana micro-porosa de 1,2 μ m antes e após o processo de microfiltração da bebida à base de açaí. Imagem lateral da camada do suporte cerâmico e da camada de membrana antes da microfiltração (a); imagem lateral da camada do suporte cerâmico e da camada de membrana após a microfiltração, indicando a camada polarizada sobre a superfície da membrana com aproximadamente 59,59 μ m (b); imagem frontal da membrana antes da microfiltração (c); e imagem frontal da membrana após a microfiltração, indicando a obstrução dos poros causada pela camada polarizada (d).

A vista frontal da membrana limpa (Figura 47c) mostra claramente os poros totalmente desobstruídos, porém ao longo do processo de microfiltração da bebida à base de açaí, estes poros foram preenchidos, formando-se a camada polarizada sob a superfície da membrana, como se observa na Figura 47d.

A bebida à base de açaí é um fluido muito complexo, pois dentre vários outros componentes, ela apresenta grande quantidade de lipídios, fibras e pigmentos que se aglomeram na superfície da membrana, formando uma manta que dificulta distinguir os elementos (Figura 47b e 47d). Isto significa dizer que não é possível observar nitidamente as partículas de fibra, gordura e bactérias.

Entretanto, visando neste trabalho a caracterização da retenção da *E. coli* CCT 0549 na membrana de 1,2µm, tornou-se necessário desenvolver um método capaz de visualizar a bactéria na superfície da estrutura micro-porosa. Portanto, optou-se pela centrifugação da bebida à base de açaí antes do processo de microfiltração para reter as partículas mais grosseiras que promoviam a formação da manta sobre a superfície da membrana.

Cabe ressaltar que mesmo com a centrifugação, elementos macroscópicos, como os glóbulos de gordura não foram separados, mantendo-se algumas características originais da bebida à base de açaí, utilizada nos preliminares processos de microfiltração tangencial.

Nas Figuras 48a e 48b, observam-se fotomicrografias de amostras retiradas da membrana de 1,2µm, utilizada no processo de microfiltração da bebida à base de açaí centrifugada. Observa-se nas Figuras 48a e 48b a presença de uma bactéria do tipo bacilar (*E. coli*) na superfície da membrana.

A imagens das Figuras 48a e 48b correspondem às bactérias, pois a área visualizada corresponde à superfície da membrana, cuja morfologia caracteriza-se por aglomerados de partículas de alumina (Figura 43c) e de tamanho homogêneo, portanto, se a forma visualizada é bacilar, característica da bactéria *E. coli*, pode-se afirmar que a imagem das Figuras 48a e 48b correspondem à bactéria *E. coli* CCT 0549, incubada na bebida à base de açaí processada.

Mesmo com o preliminar processo de centrifugação da bebida à base de açaí, a camada polarizada também foi caracterizada com a formação de uma manta sobre a superfície da membrana. No entanto, quando se ampliava o aumento de certas regiões da amostra (da membrana), era possível observar formas bacilares características da *E. coli*, como se

visualiza na imagem de uma outra região da membrana (MEV), utilizada durante o processo de microfiltração com a bebida à base de açaí centrifugada (Figura 48b).

Sondi e Salopek-Sondi (2004) investigaram o efeito bactericida de diversas concentrações de nanopartículas de prata sobre a bactéria *E. coli*, mantida em meio Luria-Bertani (LB), com o objetivo de avaliar a ação da prata na célula bacteriana. Imagens obtidas por MEV foram apresentadas no trabalho, e podem ser visualizadas na Figura 49.

Comparando-se as imagens da Figura 49 (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004) com as imagens apresentadas na Figura 48a e 48b, nota-se nitidamente a semelhança na morfologia das células da *E. coli*, o que ressalta a confirmação da presença de *E. coli* na superfície da membrana.

A partir da análise das imagens das Figuras 48c e 49b, observam-se semelhanças proporcionadas pela ação das nanopartículas de prata agindo nas células da *E. coli* CCT 0549, utilizadas neste trabalho e a ação das nanopartículas de prata em meio líquido LB, respectivamente. A ação das nanopartículas de prata em meio líquido LB (Figura 49b) é caracterizada por pequenos orifícios causados pela prata na estrutura das células de *E. coli*. Esta mesma característica pode ser visualizada na superfície da membrana (Figura 48c), contendo células da *E. coli* CCT 0549, na qual o maior indício encontra-se identificado com um quadrado no canto direito da Figura 48c.

Figura 48. Fotomicrografia da *E. coli* CCT 0549 na superfície da membrana de 1,2µm, com aumento de 35000x (a), com aumento de 20000x (b) e com aumento de 1000x (c), após o processo de microfiltração da bebida à base de açaí centrifugada.

Figura 49. Micrografias eletrônicas de Varredura de células de *E. coli* “in natura” (a) e células tratadas com 50

$\mu\text{g cm}^{-3}$ de nanopartículas de prata em meio líquido LB por 4 horas (b). Fonte: SONDI e SALOPEK-SONDI (2004)

Morones et al. (2005) também estudaram o efeito bactericida de nanopartículas de prata durante o crescimento de bactérias Gram-negativas, como a *E. coli*, mostrando nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura por transmissão que as nanopartículas de prata conseguem penetrar na membrana citoplasmática da bactéria. E novamente, observando grande semelhança entre as imagens obtidas no presente trabalho (Figuras 48a e 48b) com a imagem (Figura 50) do trabalho de Morones et al. (2005).

Figura 50. Imagem da interação da bactéria, *E. coli*, com as nanopartículas de prata. A imagem inserida no canto esquerdo da bactéria corresponde à uma imagem ampliada de uma região da bactéria. Fonte: MORONES et al., 2005.

A análise de Microscopia ótica da *E. coli* CCT 0549, apresentada no item 4.7, auxiliou na caracterização da retenção de microrganismos na membrana, pois as imagens das partículas observadas por MEV apresentaram morfologia semelhante às características das bactérias (*E. coli* CCT 0549) observadas por Microscopia ótica.

4.7. CARACTERIZAÇÃO QUALITATIVA POR MICROSCOPIA ÓTICA DO PERMEADO E CONCENTRADO

Através da análise qualitativa de Microscopia Ótica, no permeado e no concentrado, foi possível observar as principais diferenças das características estéticas das duas amostras.

Na Figura 51a, observam-se componentes microscópicos do concentrado (bebida à base de açaí), tais como: glóbulos de gordura (marcados com círculos), sólidos particulados (marcados com quadrados) e bactérias (circuladas na Figura 51b).

Como o processo de microfiltração caracteriza-se dentre outros aspectos pela retenção de sólidos em suspensão, inclusive pigmentos (clarificação), observou-se no presente trabalho que mais de 90% do material particulado, microrganismos e até mesmo os pigmentos foram retidos na membrana durante o processo de microfiltração. Esta retenção pode ser sustentada com a imagem do permeado, visualizada na Figura 51c.

Cabe ressaltar que os pontos pretos bem definidos presentes na imagem retirada do permeado (Figura 51c) não são particulados da amostra, mas sim da lente do microscópio, e portanto, o que se observa na amostra de permeado é um fluido límpido e isento de partículas.

Figure 51. Imagem da amostra do concentrado (bebida à base de açaí) (a), Imagem da amostra da bebida à base de açaí contaminada (b) e imagem do permeado (c), obtidas através da Microscopia Ótica.

As diferenças entre permeado e concentrado observadas na Figura 51 podem ser confirmadas observando a Figura 52, na qual se encontram as fotos do permeado (Figura 52a) e concentrado (Figura 52b). Percebe-se claramente que o concentrado (Figura 52b) é um líquido escuro, com muitos sólidos suspensos e aparência turva, enquanto o permeado (Figura 52a) é um líquido de aspecto límpido, sem sólidos suspensos. A cor vermelha do permeado indica a presença de antocianinas. No entanto, a cor marrom do concentrado indica que a bebida à base de açaí após certo tempo de exposição ao ambiente, sofre oxidação. A visualização das linhas no béquer contendo o permeado (Figura 52a) foi possível devido à retenção de sólidos suspensos e outros elementos durante o processo de microfiltração tangencial, indicando que a bebida à base de açaí foi clarificada.

Figure 52. Foto ilustrativa do permeado (a) e do concentrado (bebida à base de açaí) (b).

A Microscopia ótica também foi utilizada como ferramenta para analisar o tamanho e a

morfologia das células de *E. coli* CCT 0549, incubadas na bebida à base de açaí.

Uma imagem das células de *E. coli* CCT 0549 obtidas pela Microscopia Ótica pode ser visualizada na Figura 53. Nota-se que a morfologia das células de bactéria *E. coli* CCT 0549 é bacilar, porém o tamanho das células é variável.

Com o objetivo de descobrir o tamanho médio das células da *E. coli* CCT 0549, incubadas na bebida à base de açaí, numeramos cada bactéria da imagem da Figura 53, e com o auxílio da barra de referência, estimou-se o comprimento e a largura de cada célula. Esta estimativa pode ser visualizada na Tabela 6.

Figura 53. Imagem das células de *E. coli* CCT 0549 incubadas na bebida à base de açaí.

Tabela 6 – Comprimento e largura das bactérias (*E. coli* CCT 0549) presentes na imagem da Figura 53.

Bactéria	Comprimento (μm)	Largura (μm)
1	2,56	1,03
2	3,59	1,03
3	2,05	1,03
4	4,10	1,03
5	3,08	0,77
6	5,13	0,77
7	3,59	0,77
8	4,36	0,51
9	2,31	0,77
Média	3,42	0,86

Observa-se na Tabela 6 que o comprimento médio das células da *E. coli* CCT 0549, incubadas na bebida à base de açaí, foi de 3,42μm, enquanto a largura média correspondeu a

0,86 μ m. Esta análise sustenta ainda mais os índices de retenção (>90%) obtidos durante o processo de microfiltração da bebida à base de açaí, utilizando-se as membranas comerciais de 0,8 e 1,2 μ m, ou seja, o comprimento médio e a largura média das bactérias são maiores ou pelo menos muito próximos da porosidade (tamanho médio dos poros) das estruturas cerâmicas. Por outro lado, o resultado da largura indica a possibilidade de transporte de bactérias pela membrana de 1,2 μ m.

4.8. CONTEÚDO DE ANTOCIANINA CIANIDINA-3-GLICOSÍDEO E POLIFENÓIS

TOTAIS

No processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí, além da retenção de microrganismos, outras partículas em suspensão podem ser barradas na superfície da membrana. Isto indica dizer que a microfiltração também promove a clarificação da bebida à base de açaí. Dentre as partículas presentes na bebida à base de açaí que são barradas pelo processo, os compostos fenólicos e flavonóides podem ser destacados.

Sendo o açaí considerado um alimento nutracêutico, ou seja, riquíssimo em compostos relacionados à prevenção e ao tratamento de doenças, diversos elementos estão presentes na composição do açaí. No entanto, nesta pesquisa, analisou-se apenas o conteúdo de polifenóis totais e o teor total de antocianina monomérica.

Assim como nas pesquisas realizadas por Gallori et al. (2004), Lee et al. (2008) e Pacheco-Palencia (2007), no presente trabalho, o total de antocianinas monoméricas (flavonóides) foi expresso como cianidina-3-glicosídeo.

Na Figura 54 observa-se a concentração de antocianina (cianidina-3-glicosídeo) presente nas amostras de polpa diluída (antes da microfiltração) e amostras de permeado coletadas durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se estruturas microporosas de 0,8 μ m e 1,2 μ m, em $Re = 20000$, $Re = 40000$ e $Re = 60000$.

No menor valor de Reynolds, $Re = 20000$ apresentado na Figura 54, nota-se uma redução do conteúdo de antocianina (cianidina-3-glicosídeo) do concentrado para o permeado de aproximadamente 35,58% na membrana de 0,8 μ m e 15,74% na membrana de 1,2 μ m. Segundo Pacheco- Palencia et al. (2007), isto indica dizer que a concentração inicial (que é a do concentrado) foi afetada pelo processo de microfiltração, provavelmente devido ao

bloqueio físico das antocianinas na superfície da membrana ou à ligação destes compostos aos sólidos insolúveis das paredes celulares.

Esta redução do conteúdo de cianidina-3-glicosídeo, durante o processo de microfiltração, também foi observada em $Re = 40000$ (Figura 54), utilizando-se a membrana de $0,8\mu m$ (redução de 2,92%). No entanto, sob este mesmo regime de escoamento, quando utilizada a membrana de $1,2\mu m$, verificou-se um aumento no teor da cianidina-3-glicosídeo da amostra de concentrado para a amostra de permeado de aproximadamente 33,60%.

Este aumento no conteúdo desta antocianina também foi observado após a microfiltração em $Re = 60000$ (Figura 54), sendo de 62,79% para a membrana de $0,8\mu m$ e de 30,97% para a membrana de $1,2\mu m$. Esta elevação na concentração da cianidina-3-glicosídeo, provavelmente ocorreu devido à liberação de antocianinas presentes nas células da casca do açaí, gerada pela alta turbulência do processo de microfiltração e/ou associada às reações de copigmentação que envolvem a formação de complexos fracos entre os glicosídeos da antocianina e outros componentes incolores, tais como: ácidos fenólicos, flavonóides e derivados de flavonol (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

Figura 54. Análise da concentração de antocianina (cianidina-3-glicosídeo) em amostras de concentrado e permeado coletadas durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se membranas comerciais de $0,8\mu m$ e $1,2\mu m$ em regimes turbulentos de $Re = 20000$, $Re = 40000$ e $Re = 60000$.

De acordo com Boulton (2001), estas reações fazem com que as antocianinas apresentem cores muito mais intensas do que se esperaria de sua concentração real, o que resulta em uma resposta hipercrômica que pode resultar em uma superestimação do teor de antocianinas em ensaios espectrofotométricos.

O comportamento de redução da concentração de antocianina monomérica também é verificado ao longo do processo de microfiltração da bebida à base de açaí em escoamento menos turbulento ($Re = 2400$ e $Re = 3600$).

Na Figura 55 observa-se o comportamento da concentração de antocianina em função do tempo (minutos) do processamento da bebida à base de açaí (suspensão) em regime de escoamento de $Re = 3600$ e $Re = 2400$. Redução da concentração de antocianina é observada ao longo do processo de microfiltração nos dois regimes de escoamento ($Re = 3600$ e $Re = 2400$).

No regime de escoamento de $Re = 3600$ (Figura 55), aos 3 minutos de operação, a concentração de antocianina era de 191,0 mg/L, enquanto aos 35 minutos foi para 89,69 mg/L. Esta redução da concentração de antocianina de aproximadamente 101,0 mg/L (47,12%), no regime de escoamento de $Re = 3600$, indica que estes pigmentos ficaram retidos na superfície da membrana, provavelmente devido à formação da camada polarizada.

Esta redução na concentração da cianidina-3-glicosídeo, durante o processo de microfiltração tangencial da bebida à base de açaí, também foi visualizada no regime de escoamento de $Re = 2400$ (Figura 55). Observou-se redução de 26,8 mg/L dos 3 aos 35 minutos do processamento. Entretanto, a maior redução na concentração de antocianina ocorreu no maior regime de escoamento, $Re = 3600$ (101,0 mg/L).

Figura 55. Gráfico da concentração de antocianina em função do tempo (minutos) durante o processo de microfiltração da suspensão de açaí em regime de escoamento de $Re = 3600$ e $Re = 2400$.

Na Figura 55 visualiza-se que a concentração de antocianina na amostra de concentrado

foi menor do que no primeiro permeado coletado no início do processo (aos 3 minutos de operação), nos regimes de escoamento de $Re = 3600$ e $Re = 2400$. Este fato pode ter ocorrido devido à obstrução de parte das antocianinas ao passar a amostra do concentrado por uma filtração com algodão.

Assim como citado anteriormente, a redução da concentração da cianidina-3-glicosídeo para as amostras de permeado ao longo do processo de microfiltração, em $Re = 2400$ e $Re = 3600$, pode ter ocorrido devido ao bloqueio físico das antocianinas na superfície da membrana ou à ligação destes compostos aos sólidos insolúveis das paredes celulares (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

O processo de microfiltração também promoveu a alteração no conteúdo de outros compostos do açaí, como por exemplo, os compostos fenólicos. Para avaliar a retenção destes outros compostos, analisou-se o conteúdo de polifenóis totais das amostras de concentrado e permeado coletadas ao longo da filtração.

Na Tabela 7 são apresentados os resultados da análise de polifenóis totais das amostras de polpa diluída, permeado e retentado coletadas durante o processo de microfiltração tangencial, utilizando membranas de $0,8\mu m$ e $1,2\mu m$, em $Re = 20000$ e $Re = 60000$.

Na Tabela 7, no menor regime turbulento ($Re = 20000$) ocorreu maior redução do conteúdo de polifenóis totais da polpa diluída para o permeado nas duas estruturas micro-porosas. Na membrana de $0,8\mu m$, a retenção foi de aproximadamente 40,5%, enquanto na membrana de $1,2\mu m$ foi de 34,5%, indicando que a membrana com maior tamanho de poro retém um conteúdo menor de polifenóis totais.

Em $Re = 60000$ (Tabela 7) observou-se baixa retenção de polifenóis totais em ambas as estruturas cerâmicas micro-porosas. No processo de microfiltração, a membrana de $0,8\mu m$ reteve aproximadamente 15,9% dos polifenóis totais da polpa diluída em relação ao permeado. No entanto, a retenção do conteúdo de polifenóis da polpa para o permeado, na membrana de $1,2\mu m$, foi de aproximadamente 11,9%, confirmando que realmente o tamanho do poro da membrana está diretamente relacionado à porcentagem de retenção de polifenóis totais.

Tabela 7 – Análise de polifenóis totais.

concentração mg de ácido gálico/ 100mL da amostra		
Membrana comercial de 0,8µm		
Amostra	Re = 20000	Re = 60000
Polpa diluída	97,32	83,78
Permeado	57,86	70,49
Retentado	95,19	81,14
Membrana comercial de 1,2µm		
Amostra	Re = 20000	Re = 60000
Polpa diluída	92,85	80,28
Permeado	60,85	70,74
Retentado	90,30	77,69

Portanto, pode-se dizer que quanto mais turbulento o regime de escoamento e maior o tamanho do poro da estrutura micro-porosa, menor será a retenção de polifenóis totais.

4.9. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E PROPRIEDADES TÉRMICAS DA POLPA DE AÇAÍ

Para compreender melhor a complexidade da bebida à base de açaí, atenção também foi dispensada às propriedades físico-químicas e térmicas da polpa de açaí.

Na Tabela 8 observa-se a composição química dos metais de uma amostra da polpa de açaí analisada pelo Espectrômetro de Rápida Absorção Atômica Sequencial (Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer), modelo AA240FS, originário da VARIAN, Indústria de Instrumentos Científicos e Produtos à Vácuo, Palo Alto, Califórnia.

Os elementos encontrados em maior quantidade na amostra da polpa de açaí foram cobre (230 mgCuKg^{-1}), manganês ($78,2 \text{ mgMnKg}^{-1}$), zinco ($67,0 \text{ mgZnKg}^{-1}$) e ferro ($56,0 \text{ mgFeKg}^{-1}$), como se observa na Tabela 8. Em menor proporção, a amostra da polpa de açaí apresentou chumbo ($2,0 \text{ mgPbKg}^{-1}$), níquel ($0,8 \text{ mgNiKg}^{-1}$) e cromo ($0,5 \text{ mgCuKg}^{-1}$).

Tabela 8 – Composição química de metais da polpa de açaí (base seca).

Elemento		Amostra
		Polpa de Açaí
Zinco	(mg Zn kg ⁻¹)	67,0
Chumbo	(mg Pb kg ⁻¹)	2,0
Cádmio	(mg Cd kg ⁻¹)	0,06
Níquel	(mg Ni kg ⁻¹)	0,8
Ferro	(mg Fe kg ⁻¹)	56,0
Manganês	(mg Mn kg ⁻¹)	78,2
Cobre	(mg Cu kg ⁻¹)	230,0
Cromo	(mg Cr kg ⁻¹)	0,5

Na Tabela 9 pode-se observar algumas propriedades térmicas e físicas da polpa de açaí,

como por exemplo, densidade (ρ), calor específico (c_p), difusividade térmica (α) e condutividade térmica (k). Estas análises foram realizadas no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) – Campinas/SP, seguindo-se metodologias específicas para cada propriedade e também, auxiliaram na preparação da matriz de dados utilizada no Espectroscópio de Atenuação acústica APS-100, utilizado para analisar o tamanho de partículas existentes na bebida à base de açaí.

Esta matriz utilizada pelo programa computacional do Espectroscópio de Atenuação Acústica APS-100 para analisar o tamanho das partículas, pode ser visualizada no item 3.1.11.

Tabela 9 – Análises térmicas da polpa de açaí.

Análise	Temperatura (40°C)
ρ (kg/m ³).10 ⁻³	0,9993 ± 0,0244
Média ± desvio	
c_p (kcal/kg.°C)	0,9230 ± 0,019
c_p (KJ/kg.°C)	3,865
α (m ² /s).10 ⁷	1,59 ± 0,061
k (W/m.°C)	0,604

4.10. CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DA BEBIDA À BASE DE AÇAÍ

De acordo com a literatura (QUEIROZ; FONTES, 2008), o processo de microfiltração requer um conhecimento particular das características físicas e químicas da solução de alimentação, e uma propriedade fundamental na caracterização física da mistura do fluxo de alimentação é uma medida de resistência no escoamento, ou o comportamento viscoso do fluido.

Os fluidos são geralmente caracterizados pelas análises funcionais da tensão cisalhante em função da taxa de cisalhamento. Dependendo do seu comportamento sob as forças cisalhantes aplicadas, os materiais são classificados como fluidos Newtonianos ou não-Newtonianos. Os fluidos mais complexos, como os sucos de frutas, são, em geral, não-Newtonianos, e sua viscosidade não é constante, mas são dependentes da taxa de cisalhamento. Fluidos não-Newtonianos são frequentemente encontrados em diferentes processos industriais, como a clarificação do suco de frutas e concentração utilizando-se microfiltração e ultrafiltração, separação de microrganismos e purificação de produção de polissacarídeos (CHERYAN, 1998).

A viscosidade pode ser medida com viscosímetros que fornecem diferentes dados da tensão cisalhante como uma função da taxa de cisalhamento. Eles também podem caracterizar o comportamento de um fluido e selecionar um modelo de comportamento reológico.

Um viscosímetro cilíndrico concêntrico rotacional mantém a velocidade rotacional constante em certa taxa de cisalhamento e a tensão cisalhante é calculada à partir da medida do momento linear. Este tipo de viscosímetro é o mais utilizado na indústria de alimentos, pois fornecem a viscosidade aparente dos sucos.

O comportamento reológico do fluido de alimentação (bebida à base de açaí) foi analisado durante o processo de microfiltração e investigado em um reômetro rotacional (Brookfield, Reômetro de base cônica DVIII-Ultra e cilíndrico concêntrico DV-III+).

Cabe ressaltar que os experimentos foram conduzidos à temperatura de 25°C, e as curvas da tensão cisalhante (τ) pela taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) foram adaptadas para o modelo Power-law.

A variação da tensão cisalhante e da taxa de cisalhamento com a suspensão a 25°C está apresentada na Figura 56. Os resultados foram analisados para o modelo Power-law e o melhor índice de confiança (96%) foi observado para o reômetro cilíndrico concêntrico com índice de fluxo, $n = 0,97$, caracterizando-se como um fluido Newtoniano. O valor médio da viscosidade foi de 1,3 mPa.s.

Figura 56. Comportamento reológico da suspensão da bebida à base de açaí. Gráfico da tensão cisalhante (10^{-1} N/m^2) em função da taxa de cisalhamento ($1/\text{s}$).

Na Figura 56 também se observam os resultados obtidos com o reômetro de base cônica. Neste caso, o reômetro aplicado para um pequeno volume de fluido (aproximadamente 1,5 mL) foi provavelmente responsável pela histerese observada no gráfico. Os dados foram analisados para o modelo Power-law e o índice de fluxo, $n = 0,80 < 1,0$, ou seja, não é compatível com fluido Newtoniano ($n = 1,0$). O valor médio da viscosidade foi de 1,9 mPa.s, com índice de confiança menor do que 90%.

4.11. ANÁLISE DE RETENÇÃO DOS SÓLIDOS SUSPENSOS

A retenção dos sólidos suspensos da bebida à base de açaí foi analisada com a técnica de atenuação por ultra-som, tanto em amostras do permeado quanto do concentrado. A atenuação acústica do fluido (bebida à base de açaí – concentrado e permeado) e os tamanhos de partículas do concentrado e do permeado foram analisados por um Espectroscópio de Atenuação Acústica (APS100), originário da MATEC, Northborough, USA.

Na Figura 57 observa-se o gráfico que compara medidas da atenuação acústica (dB/cm) versus a frequência do som (de 1 a 10 MHz) da suspensão de açaí (concentrado), permeado e água. Devido à presença de sólidos suspensos, o concentrado (Figuras 51a e 52b) apresentou maiores valores de atenuação acústica do que a água (fluido padrão). No entanto, devido à ausência de sólidos suspensos, o comportamento do permeado foi idêntico ao da água, ou seja, os valores da atenuação acústica em função da frequência foram aproximadamente os mesmos da água (Figuras 51c e 52a).

Figura 57. Gráfico da atenuação acústica do permeado, concentrado e água (dB/cm) versus frequência (MHz)

Uma análise do tamanho das partículas presentes na bebida à base de açaí foi realizada.

Na Figura 58a observa-se a curva diferencial e a curva cumulativa da distribuição do tamanho de partículas obtida para a suspensão de bebida à base de açaí. Os dados mostram um pico (pontual) de partículas com tamanho de $0,16\mu\text{m}$.

Analisou-se a distribuição do tamanho de partículas numa amostra da bebida à base de açaí centrifugada. A centrifugação foi realizada na tentativa de separar as possíveis partículas em suspensão, que impediam a visualização nítida das bactérias na superfície da membrana. No momento da centrifugação observou-se que algumas partículas não foram separadas da suspensão e, portanto, a análise da distribuição do tamanho de partículas também foi realizada com a bebida à base de açaí centrifugada.

Figura 58. Curvas típicas (diferencial e cumulativa) da distribuição do tamanho de partículas obtidas por espectroscopia de ultra-som para uma amostra da suspensão da bebida à base de açaí (a) e da suspensão da bebida à base de açaí centrifugada (b).

Na Figura 58b é apresentada a curva diferencial e a curva cumulativa da distribuição do tamanho de partículas obtida para a suspensão de bebida à base de açaí centrifugada. Os dados mostraram partículas com tamanho de $1,5\mu\text{m}$.

Na bebida à base de açaí centrifugada registraram-se partículas de tamanho maior do que a bebida à base de açaí não centrifugada. A diferença nos resultados pode ser atribuída à sensibilidade com propriedades físicas na matriz da polpa de açaí e provavelmente a arbitrária forma geométrica das partículas presentes no fluido.

Conclusões

Com base nos resultados apresentados nesta tese, as seguintes conclusões são enunciadas:

- i.) Os resultados experimentais realizados com as membranas comerciais de tamanho nominal de poros de $0,8\mu\text{m}$ e $1,2\mu\text{m}$ apresentaram índices de retenção bacteriana (*E. coli* CCT 0549) de aproximadamente 99%. Estes valores de retenção indicam que o processo de microfiltração tangencial, utilizando-se membranas com tamanhos de poro de $0,8$ e $1,2\mu\text{m}$, é uma boa alternativa não-térmica para a retenção da *E. coli* CCT0549. As análises de retenção bacteriana na estrutura micro-porosa de $1,2\mu\text{m}$, impregnada com prata, indicaram que o material bactericida exerceu influência no processo de retenção na condição experimental de $Re = 20000$, na qual índices de retenção próximos de 99,9% foram visualizados.
- ii.) A partir da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura foi possível visualizar e quantificar o fenômeno de polarização junto à superfície da membrana comercial de $1,2\mu\text{m}$. A formação da camada polarizada (*cake*) sobre a superfície da membrana atuou como barreira física na retenção da *E. coli* CCT 0549, bem como na redução de sólidos suspensos da bebida à base de açaí. A redução de material particulado e a clarificação do filtrado foram confirmadas com análises de Microscopia Óptica e Espectroscopia de Atenuação Acústica.
- iii.) Os parâmetros fluidodinâmicos exerceram grande influência no processo de microfiltração. Os maiores fluxos transmembrana foram obtidos em maiores condições (Reynolds) do regime de escoamento, porém nem sempre quando se elevou a pressão transmembrana, o fluxo transmembrana também aumentou. A análise comparativa dos resultados experimentais com modelos de resistência apresentados por Zeman e Zydney

(1996) contribuíram para avaliar a dinâmica de formação da camada polarizada e verificar que a melhor condição de operação do processo (menor resistência) foi na condição de $Re = 20000$ para a membrana de $0,8\mu m$.

iv.) A concentração de 3 mols de ácido cítrico para 3 mols de nitrato de prata, utilizada na impregnação da estrutura micro porosa, apresentou melhor homogeneidade e quantidade de prata impregnada na membrana.

v.) O tamanho do poro da membrana e o número de Reynolds apresentaram relação direta com a porcentagem de retenção de polifenóis totais, ou seja, a membrana de $1,2\mu m$ apresentou menor retenção (11, 9%) de polifenóis totais em $Re = 60000$. Em Reynolds de aproximadamente 40000, o processo de microfiltração tangencial apresentou aumento na concentração de antocianina (cianidina-3-glicosídeo), porém em escoamento de Re próximos a 20000, observou-se uma redução deste composto.

Estudos futuros

Com os resultados obtidos neste trabalho de doutorado, estudos futuros podem ser sugeridos:

1. Avaliar a eficiência do processo de microfiltração tangencial na retenção de vírus, protozoários e outros microrganismos presentes em bebida à base de açaí, utilizando-se membranas comerciais de tamanho de poro maior que 1,2 μ m.
2. Utilizar uma análise química adaptada para polpa de açaí, para quantificação do percentual de gordura, fibras e pectina para analisar a interferência deste material no processo de microfiltração tangencial. E assim, aprimorar a análise da formação da camada polarizada sobre a superfície da membrana.

Referências Bibliográficas

AKWIE, S. N. L. T. **Cinética de amadurecimento, extração e estabilidade das antocianinas do açaí**. 160f. 2000. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2000.

ALBARICI, T. R.; PESSOA, J. D. C; FORIM, M. R. Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açaí – Estudos espectrofotométricos e cromatográficos. Comunicado Técnico, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, n. 78, ISSN1517-4786. São Carlos, 2006.

ALBARICI, T. R.; VALETA, A. C.; PESSOA, J. D. C. Efeito da temperatura nas antocianinas do açaí. Comunicado Técnico, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, n. 86, ISSN1517-4786. São Carlos, 2007.

ALBARICI, T. R.; DE FREITAS, D. M.; PESSOA, J. D. C. Protocolos de análises para polpa de açaí: um guia prático de consulta. Embrapa Instrumentação Agropecuária, p.52, 2009.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 114 – 119, 2004.

ALICIEO, T. V. R.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; BARROS, S. T. D.; ALVES, J. A. Avaliação do *fouling* na microfiltração de cerveja – estudo das resistências. Membrane ultrafiltration of crude soybean oil. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 29, n. 2, p. 151 – 156, 2007.

ANGIOLLETO, E. **Desenvolvimento de Processo para a Fabricação de Cerâmicas com Propriedades Antimicrobianas**. 2003. 104 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina,

Florianópolis, 2003.

A.O.A.C., Association of Official Analytical Chemists, Métodos Oficiais de Análise, W. Horwitz, 18^a ed., Gaithersburg, Maryland, 2005.

ARAKI, M. S. **Membranas poliméricas aplicadas a degomagem de miscela de óleo de milho em escala laboratorial e piloto**. 2008. 152 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p. 317S – 325S, 2005.

ASHURST, P. R. The chemistry and technology of soft drinks and fruit juices. **Sheffield Academic Press & CRC Press**, USA, p. 258, 1998.

BAI, R. B.; LEOW, H. F. Microfiltration of activated sludge wastewater – the effect of system operation parameters. *Separation and Purification Technology*, n. 29, p. 189. 2002.

BIESHEUVEL, P. M.; VERWIJ, H. Design of ceramic membrane supports: permeability, tensile strength and stress. **Journal Membrane Science**, v. 156. p. 141 – 152. 1999.

BIOMANIA.1999. Disponível em: <<http://biomania.com.br/bio/conteudo.asp?cod=1200#>>. Acesso em: 07 mai. 2009.

BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e Quantificação das Antocianinas do fruto do Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 20, n.3, p. 388 – 390, 2000.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de alimentos**. 3. ed. Editora Varela. p. 219 – 227, 2003.

BORGES, C. P. **Curso Teórico – Prático em Engenharia de Bioprocessos**. Centro Argentino Brasileiro de Biotecnologia (CABB) – Programa de Engenharia Química COPPE / UFRJ. Rio de Janeiro. 1998.

BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanin and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal for Enology and Viticulture*, California, n. 52:2, 2001.

BOVI, M. L. A.; CASTRO, A. Assaí. In: CLAY, J.W., CLEMENT, C.R. (Ed.) **Income generativy forests and conservation in Amazonia**. Rome: FAO, Forestry Paper, 1993. p.58-67.

BRAGG, P. D.; RAINNIE, D. J. The 1993effect of silver ions on the respiratory chain of *E. coli*. **Can J Microbiol**, n. 20, p. 883 - 889, 1974.

BRANS, G.; SCHROËN, C. G. P. H.; VAN DER SMAN R. G. M.; BOOM R. M. Membrane fractionation of milk: State of the art and challenges. **Journal Membrane Science**, n. 243, p. 263 – 272, 2004.

BRASIL, I. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W. Estudo do rendimento do suco de goiaba extraído por tratamento enzimático. In: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 16, n. 1. p. 57 – 61, 1996.

BRASIL, 2000. Instrução Normativa nº 1 de 07/01/2000. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta. Publicado no Diário Oficial da União de 10/01/2000 , Seção 1 , Página 54.

BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2. ed., New York: Springer Science + Business Media Inc. v. 2., 2005.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. ISO 9276-1:1998. Representation of results of particle size analysis - Part 1: Graphical representation, International Organization for Standardization / 01-Jun-1998 / 9 pages, London, 1998.

CALZAVARA, B. B. G. As possibilidades do açaizeiro no estuário amazônico. **Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará**, Belém, n. 5, p. 165 – 230, 1972.

CARNEIRO, F. R. B. D. **Conservação de Polpa de Açaí por Métodos Combinados**. 2000. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CASSANO, A.; CONIDI, C.; TIMPONE, R.; D'AVELLA, M.; DRIOLI, E. A membrane-based process for the clarification and the concentration of the cactus pear juice. **Journal of Food Engineering**, v. 80. p. 914 – 921. 2007.

CASTILHO, L. R.; MEDRONHO, R. A. Cell retention devices for suspended-cell perfusion cultures. **Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology**, Alemanha, v. 74, p. 129-169, 2002.

CAVALCANTE, P. B. Frutas comestíveis da Amazônia. 279 f., 5ª. Ed. Belém: CEJUP, CNPQ: Museu Paraense Emílio Goeldi, Coleção Adolfo Ducke, 1991.

CENCI, S. A. Reduzir perdas com o morango. 2008. Disponível em:

<http://www.frutas.radar-rs.com.br/frutas/morango/reduzir_perdas_com_o_morango.htm>.

Acesso em: 14 de abril de 2010.

CHALLIS, R. E.; POVEY, M. J. W.; MATHER, M. L.; HOLMES, A.K. Ultrasound techniques for characterizing colloidal dispersions, **Reports on progress in physics**, n. 68, p. 1541–1637, 2005.

CHAPPELL, J. B.; GREVILLE, G. D. Effect of silver ions on mitochondrial adenosine triphosphatase. **Nature**, n. 174, p. 930 – 931, 1954.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**, 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1998. p. 527.

CIANCI, F. C.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Clarification and concentration of cashew apple juice by membrane processes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 3, p.597-583. 2005.

COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G. et al. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, Barking, n. 38, p. 893-897, 2005.

DA SILVA, E. M. **Otimização de Métodos de Análise de Antocianinas: Poder Antioxidante e Quantificação Rápida**. 2002. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Pará, Belém, 2002.

DEL COLLE, R.; HANEDA, R. N.; GODINHO JÚNIOR, M; LONGO, E.; FONTES, S. R. Método de impregnação química aplicado em tubos micro-porosos e membranas tubulares para a microfiltração de emulsões e suspensões de bactérias. **Cerâmica**, n. 54, p. 21 – 28. 2008.

DEL POZO, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T. Açai (*Euterpe oelaracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 54. p. 1222 – 1229, 2006.

de ROSSO, V. V.; HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E. C., BOBBIO, F. O., WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A. Z. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 291-299. 2008.

de SÁ, C. D.; CAIXETA FILHO, J. V. A importância do suco de frutas para o consumidor: Um estudo de caso. Qualidade de vida. Universidade de São Paulo, Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, Departamento de Economia, Administração e Sociologia.

Ano 4. n. 33, Fev. 2002.

DICKERSON, R. W. An apparatus for measurements of thermal diffusivity of foods. **Food Technology**, v. 19, n. 5, p. 198 – 204, 1965.

DONHAUSER, S.; WAGNER, D.; WALLA, G., Practical experiences with modern filter systems, **Brauwelt**, Germany, v. 128 (4), p. 108 – 116, 1988.

DOWNES, J. W. Equipos para la extracción y elaboración de zumo de frutas delicadas. In: Ashurst, P. R. ed., Producción y envasado de zumos y bebidas de frutas sin gás, Editora Acirbia, Espana. p. 191 – 213, 1995.

DUFRECHE, J.; PRAT, M.; SCHMITZ, P. Effective hydraulic resistance of the first cake layers at the membrane surface in microfiltration. **Desalination**, v. 145, p. 129 – 131. 2002.

DUKHIN, A. S.; GOETZ, P. J.; WINES, T. H.; SOMASUNDARAN, P. Acoustic and eletroacoustic spectroscopy. **Colloids and Surfaces**, n. 173, pp. 127-158, 2000.

EMBRAPA/SEBRAE. Programa de capacitação tecnológica. Curso de processamento de frutas, CTAA – EMBRAPA, Rio de Janeiro. p. 135. 1997.

EMBRAPA. Sistema de Produção do açaí. Belém, PA. Sistemas de Produção, 04. ISSN 1809-4325. Versão Eletrônica. Dez. 2005.

FABRICIUS, H.; MARX, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açaí) fruits”, **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, n. 56, p. 53-64. 2005.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, n.43(2), pp. 211 – 218, 2009.

FENG, Q. L.; WU, J.; CHEN, G. Q.; CUI, F. Z.; KIM, T. N.; KIM, J. O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal Biomedical Material Research**. n. 52, p. 662 – 668, 2000.

FERREIRA, M. E. Modelagem matemática integral do escoamento laminar quase-permanente em tubos porosos aplicada ao processo de microfiltração. In: IV Congresso Iberoamericano em Ciência e Tecnologia de Membranas, 2003, Florianópolis. Anais do IV Congresso Iberoamericano de Ciência e Tecnologia de Membranas, 2003. p. 692-697.

FINNIGAN, T. J. A. Brewing, Distilling International. (1988), n. 19 (6), p. 33–36.

FORTULAN, C. A.; IKEGAMI, R. A.; PURQUERIO, B. de M.; HANEDA, R. N.; FONTES,

S. R. Manufatura de membranas cerâmicas tubulares. **Revista Minerva**, v. 4, p. 2, 2006.

FOX, A. **Microbiologia e Imunologia on line**. Disponível em: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chapter_4_bp.htm>. Acesso em: 20 mar. 2009.

FRENANDER, U.; JONSSON, A. S. Cell harvesting by cross-flow microfiltration using a shear-enhanced module. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 52 (3), p. 397 – 403, 1996.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins, 2. Determination of total Anthocyanin and degradation Index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, p. 78 – 83, 1968.

GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BARBOSA, W. L. R.; VINCIERI, F. F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm), **Chromatographia**, n. 59, p. 739–743, 2004.

GAMA, J. R. V.; BOTELHO, S. A. BENTES-GAMA, M. M. Composição florística e estrutura da regeneração natural de floresta secundária de várzea baixa no estuário amazônico. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 5, p. 559 – 566, 2002.

GEORGE, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 5, p. 1370 – 1373, 2005.

GÉSAN-GUISIOU, G. et al. Critical stability condition in crossflow microfiltration of skimmed milk: transition to irreversible deposition. **Journal Membrane Science**, Amsterdam, v. 158, p. 211 – 222, 1999.

GIBSON, R. L. Australian Grapegrower and Winemaker. (1986) n. 268, p. 17–23.

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L. R. Membrane Processing of Fruit Juices and Beverages: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n. 40(2), p. 91–157, 2000.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, Unit. F1.2.1-13, 2001.

GROHMANN, M.; FEUERPEIL, H. P. Cold sterile apple juice-cold sterile filtrates with tangential flow filtration. **Confructa Studien.**, n. 31, p. 171–174, 1987.

GU, Y.; MENG, G. A model for ceramic membrane formation by dip-coating. **Journal European Ceramic Society**, v. 19. p. 1961 -1966. 1999.

- GUPTA, A.; MAYNES, M.; SILVER, S. The effects of halides on plasmid silver resistance in *Escherichia coli*. **Appl. Environ. Microbiol.**, n. 64, p. 5042-5045, 1998.
- HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas**. Programa de Engenharia Química/ COPPE/ UFRJ. p. 165. 2006.
- HANEDA, R. N.; FORTULAN, C. A.; LONGO, E.; FONTES, S. R. (2006). **Experimental study of retention of the Escherichia coli using the crossflow microfiltration with different micro-porous structures**. 18th International Congress of Mechanical Engineering. Associação Brasileira de Engenharia e Ciências Mecânicas. Ouro Preto – Minas Gerais – BR, n. 1887, p. 82. Nov. 2006.
- HANEDA, R. N. **Investigação do desempenho de diferentes estruturas microporosas tubulares na retenção de bactérias em suspensão por microfiltração tangencial**. 2006. 144 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- HANEDA, R. N.; IKEGAMI, R.; FORTULAN, C. A.; PURQUERIO, B. M.; LONGO, E.; FONTES, S. R. Microfiltration with chemistry treating of commercial membranes and microporous tubes for retention of bacteria *E. coli* on processing of wastewater of dairy products. **Desalination**, n. 200, p. 313 – 315. Out. 2006.
- HANEMAAIJER, J. H.; ROBBERTSEN, T.; VAN DEN BOOGAARD, T.; GUNNINK, J. W. Fouling of ultrafiltration membranes. The role of protein adsorption and salt precipitation. **Journal of Membrane Science**, n. 40. p. 199 – 217. 1989.
- HEINIG, C. F. Composition for bactericidal treatment of water. (August 26 1986) US Patent n°. 4, 608, 247.
- HENDERSON, A.; GALEANO, G. Euterpe, Prestoea, and Neonichlsonia (Palmae). Flora Neotropica. The New York Botanical Garden, v. 72, n. 1-89, 1996.
- HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. **Food and Chemical Toxicology**, n. 37. pp. 937 – 942, 1999.
- HOSTYNEK, J. J.; HINZ, R. S.; LORENCE, C. R.; PRICE, M.; GUY, R. H. Metals and the skin. **Crit Rev Toxicol**, n. 23, p. 171 – 235, 1993.
- HUNT, J.W et al. A mathematical model of steady-state cross-flow microfiltration in a woven hose support. **Journal of Desalination**, v.61, n.3, p. 187-200, 1987.

HUNTER, R. J. Review: Recent developments in the electroacoustic characterization of colloid suspensions and emulsions. **Colloid and Surfaces**, n. 141, pp. 37-65, 1998.

HWANG, M. P.; HAYAKAWA, K. I. A specific heat calorimeter for foods. **Journal of Food Science**, v. 44, n. 2, p. 435 – 448, 1979.

HWANG, S. T.; KAMMERMEYER, K. Membranes in Separations. New York: Wiley-Interscience. 1975. Apud: Ultrafiltration and Microfiltration Handbook, Lancaster, 1998.

IADEROZA, M.; BALDINI, V. L. S.; DRAETTA, S. E.; BOVI, M. L. A. Anthocyanins from fruits of açaí (*Euterpe oleracea*, Mart) and juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Tropical Science**, n. 32. p. 41 – 46, 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Extrativa Vegetal. 2002. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2005.

ISO 6887-4. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 4: *Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, and fish and fishery products*, 1st ed. The international Organization for Standardization, 2003.

JIRARATANANON, R.; CHANACHAI, A. A study of fouling in the ultrafiltration of passion fruit juice. **Journal Membrane Science**, n.111, p. 39 – 48, 1996.

JOSCELYNE, S. M.; TRÄGÄRDH, G. Membrane emulsification – a literature review. **Journal Membrane Science**, n. 169. p. 107 – 117, 2000.

KAUR, P.; SAXENA, M.; VADERHA, D. V. Plasmid mediated resistance to silver ions in *Escherichia coli*. **Ind Journal Med Res.**, n. 82, p. 122 – 126, 1985.

KLUGE, R. A.; FILHO, J. A. S.; JACOMINO, A. P.; MARQUES, C. Embalagens plásticas para pêssegos “flordaprince” refrigerados. **Scientia Agrícola**, v.56, n. 4, p. 843 – 850, 1999.

KOLEGA, M.; GORHMANN, G. S.; CHIEW, R. F.; DAY, A. W. Disinfection and clarification of treated sewage by advanced microfiltration. **Water Sci. Technol**, v.23, n. 7-9, p. 1609–1618, 1991.

KUSKOSKI, M. E.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas., **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

- LE, M. S. Recovery of beer from tank bottoms with membranes. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, n. 37 (1), p. 59 – 66, 1987.
- LEA, A. G. H. Zumo de manzana, in: In: Ashurst, P. R. ed., Producción y envasado de zumos y bebidas de frutas sin gás, Editora Acribia, Espana. p. 149 – 189, 1995.
- LEE, J. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, v. 88, n. 5, p. 1269 – 1278, 2005.
- LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E., Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. **Journal of AOAC International**, v.88, n.5, 2005.
- LEE, K.; WU, R. Simulation of resistance of cross-flow microfiltration and force analysis on membrane surface. **Desalination**, n. 233, p. 239 – 246, 2008.
- LEHNINGER, A.L. **Principles of Biochemistry**. Tradução de W.R. Lodi e A.A. Simões. 8.ed. São Paulo: Sarvier Editora de livros médicos Ltda, 1993.
- LICHTENTHALER, R.; BELANDRINO, R.; MAIA, J. G.; PAPAGIANNOPOULOS, M.; MADAENI, S. S.; KHODADADI, B.; MIRMOMENI, H.; ZAMANI, M. R.; MOTALEBI, M. Microfiltration of bacteriophage in the presence of host bacteria. In: Proceedings of International Membrane Science and Technology Conference (IMSTEC03), Sydney, Australia. 2005.
- LIM, A. L.; BAI, R. Membrane fouling and cleaning in microfiltration of activated sludge wastewater. **Journal of Membrane Science**, n. 216, p. 279 – 290. 2003.
- MADAENI, S. S.; YEGANEH, M. K. Microfiltration of emulsified oil wastewater. **Journal of Porous Materials**, v. 10, n. 2, p. 131 – 138, 2003.
- MALMBERG, R.; HOLM, S. Producing low bacteria skim milk by microfiltration. **North European Food and Dairy Journal**, n. 54, p. 30 – 32, 1988.
- MARCOS, P. J. B.; GOUVÊA, D. Avaliação do processo de limpeza superficial de pós de zircônia. *Cerâmica*, n.48 (308). p. 187 – 191, 2002.
- MARSHALL, A. D.; DAUFIN, G. (1995). Physico-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes. *International Dairy*

Federation, 8 – 29.

MARTINS, M. M. C. **Antocianinas foliares como indicadores de mobilização de reserva cotiledonar durante o desenvolvimento de plântulas de *Hymenaea courbaril* L.** 2004. Trabalho de Conclusão de Concurso. Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo, 2004. 37p.

MATSUMURA, Y; YOSHIKATA, K.; KUNISAKI, S.; TSUCHIDO, T. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 69. p. 4278 – 4281, 2003.

MELO, L. A. R.; PERNA, S. J. Q.; CUNHA, M. A. E.; BARROS, B. C. V. (2008). Inclusão dos batedores artesanais de açaí dentro dos padrões sanitários. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/combravet2008/anais/cd/resumos/R0051-2.pdf>>. Acesso em: Fev. 2009.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazonica**, n. 38(2), p. 311 – 316, 2008.

MENG, F.G.; ZHANG, H.M.; LI, Y.S.; ZHANG, X.W.; YANG, F. L.; XIAO, J.N. Cake layer morphology in microfiltration of activated sludge wastewater based on fractal analysis. **Separation and Purification Technology**, n. 44, p. 250-257, 2005.

MIDURA, T. F.; BRYANT, R. G. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. In: DOWNES, F. P. & ITO, K. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4th ed. Washington: American Public Health Association (APHA), Chapter 2, p.13-23, 2001.

MITCHELL, P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. **Nature**, n. 191, p. 144 – 148, 1961.

MITCHELL, P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. **Biol Rev**, n. 41, p. 445 – 502, 1966.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Institute of Physics Publishing, Nanotechnology**, n. 16. p. 2346 – 2353, 2005.

MOULIN, C. **L’ultrafiltration et son utilisation dans lês traitement d’effluents industriels.. Montpellier. D.E.A.** (Rapport). Université des Sciences et Techniques du Languedoc – France, 1987.

MULDER, M. Basic principles of membrane technology. Center for membrane science and technology, University of Twente, Enschede, The Netherlands, 2000. p. 560.

MURRAY, R. G. E.; STEED, P.; ELSON, H. E. (1965). The location of the mucopeptide in sections of the cell wall of *Escherichia coli* and other Gram-negative bacteria. **Can. j. Microbiol.** n. 11, p. 547 – 560, 1965.

NOGUEIRA, O. L.; DE CARVALHO, C. J. R.; MÜLLER, C. H.; GALVÃO, E. U. P.; E SILVA, H. M.; RODRIGUES, J. E. L. F.; DE OLIVEIRA, M. S. P., CARVALHO, J. E. U.; NETO, O.G.R. DO NASCIMENTO, W. M. O.; CALZAVARA, B. B. G., 1995, “**Açaí**”, Coleção Plantar, 1ed. Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental, Belém, Pará, Embrapa – SPI, 1995.

OSIRO, D.; COLNAGO, L. A.; BERNARDES FILHO, R.; JORGE, L. A. C. Uso do *SIARCS* na quantificação das dimensões de bactérias em imagens de microscopia de força atômica. Boletim de Pesquisa número 6/98. ISSN 1413-9537. Jul. 1998.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food Research International**, n. 40, p. 620 – 628. 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT, S. T. Chemical stability of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. **Food Chemistry**, v.118 , n. 1, p. 17 – 25, 2009.

PALLET, D.; Cabral, L.; Matta, V.; Pezoa-García, N. H.; , H. C.; de Abreu, F. A. P.; Dornier, M.; Reynes, M. Aplicação da tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas brasileiras. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 427-437, 2005.

PAULA, B.; MORAES, I. V. M.; CASTILHO, C. C.; GOMES, F. S.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Melhoria na eficiência da clarificação de suco de maracujá pela combinação dos processos de microfiltração e enzimático. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, CEPPA, Curitiba, v. 22, n. 2, jul./dez. 2004.

PELEGRIN, D. C. **Microfiltração tangencial de efluente sanitário após tratamento biológico**. 2004. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental), Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

PERCIVAL, S.L.; BOWLER, P.G.; RUSSELL, D. Bacterial resistance to silver in wound

care. **Journal of Hospital Infection**, n. 60, p.1 – 7, 2005.

PILLAY, V.L., BUCKLEY, C.A. Cake formation in cross-flow microfiltration systems. **Journal of Water Science and Technology**, v.25, n.10, p. 149-162, 1992.

POZO-INSFRAN, D. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, 2004.

QUEIROZ, V. M. S. **Estudo experimental do escoamento e da concentração de mistura no processo de filtração tangencial de suspensões macromoleculares**. 2004. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

RANGEL, M. C. Membranas inorgânicas e reatores catalíticos. **Química Nova**, n. 20 (5). p. 486 – 492, 1997.

REID, G. C.; HWANG, A.; MEISEL, R. H.; ALLCOCK, E. R. The sterile filtration and packaging of beer into polyethylene terephthalate containers. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 48, p. 85, 1990.

RESEARCH ON THE BENEFITS OF SILVER (2005) Louisville, K.Y. Site created by SilverHealthy. Disponível em: <<http://home.aol.com/silverhealthy/agresearch.htm>>. Acesso em: 01 mar.

RIPPERGER, S. Engineering aspects and applications of crossflow microfiltration. **Journal of Chemical Engineering and Technology**, v. 11, n.1, p. 17-25, 1988.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: EDUFPA, 2000.

ROSA, D. S.; SALVINI, V. R.; PANDOLFELLI, V. C. Processamento e avaliação das propriedades de tubos cerâmicos porosos para microfiltração de emulsões. *Cerâmica*. v. 52. p. 167 – 171. 2006.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem*. n. 31, p. 351 – 370, 1994.

SADILOVA, E.; STINTZING, F. C.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. Matrix dependent impact of sugar and ascorbic acid addition on color and anthocyanin stability of black carrot, elderberry and strawberry single strength and from concentrate juices upon thermal treatment.

Food Research International, v. 42, n. 8, p. 1023-1033, 2009.

SALVATORE, S. (2005). Prata coloidal. Associação Brasileira de Medicina Complementar, São Paulo, 10 jan. Disponível em: <<http://www.medicinacomplementar.com.br/tema100105.asp>>. Acesso em: 10 mar.2005.

SANTANA, A. C. **Dinâmica espacial da produção rural do Estado do Pará: referências para o desenvolvimento sustentável**. Belém: UFRA, 2006. (Série Acadêmica, 02).

SANTIN, M. M. **Aplicação de tratamento enzimático combinado a microfiltração na clarificação de suco de pêssego**. 2004. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechin, 2004.

SCHNEIDER, T.; CZECH, B. Fruit juice processing - A view to advanced strategies. **Fruit Processing**, n. 10, p. 302, 1994.

SCOTT, K. (1995). Handbook of industrial membranes. Elsevier Science Publishers, Oxford.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; dos SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3 ed. Livraria Varela, São Paulo. 2007.

SKELTON, R. Membrane Filtration Applications in the Food Industry. Membranes in Food Processing. Filtration more Separation. Abril 2000.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, n. 275, p. 177-182, 2004.

SUCHECKA, T.; BIERNACKA, E.; PIATKIEWICZ, W. (2003). Microorganism Retention on Microfiltration Membrane. Filtration more Separation -Elsevier Science Ltd., ISSN 0015-1882-2003, p. 51-55, 2003.

SUN, J.; YAO, J.; HUANG, S.; LONG, X.; WANGC, J.; GARCIA-GARCIA, E. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) A.C. Smith. **Food Chemistry**. v. 117, pp. 276–281, 2009.

TEIXEIRA, L. M.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. 2008. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, n. 55 (4), p. 297-304, 2008.

TERRE, E.; MAUBOIS, J. L.; BRULE, G.; PIERRE, A. (1987) Procédé d'obtention d'une

matière enrichie en caséine bêta, appareillage pour la mise en oeuvre de ce procédé et application des produits obtenus par ce procédé comme aliments, compléments alimentaires ou additifs en industrie alimentaire et pharmaceutique ou dans la préparation de peptides à activités biologiques. Brevet, French Patent Application, FR 2 592 769 A1, 1987.

TINOCO, A. C. Açaí amazônico: novas perspectivas de negócio. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 1 CD-ROM. Trabalho apresentado no Workshop Regional do Açaizeiro: pesquisa, produção e comercialização, Belém, PA, 2005.

USHIKUBO, F.Y.; WATANABE, A. P; VIOTTO, L. A. Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr.Cam.) juice. **Journal Membrane Science**, n. 288, p. 61 – 66. 2007.

VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G.; DORNIER, M.; DECLoux, M. R. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal Food Engineering**, n. 42, p. 215 - 244. 1999.

VAN DER HORST, H. C. V.; HANEMAAIJER, J. H. Cross-flow microfiltration in the food industrial. State of the art. **Desalination**, n. 77, p. 235 – 258, 1990.

VARNAM, A.; SUTHERLAND, J.M. Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology. Series: Food Products Series , v. 2, p. 464, Softcover. ISBN: 978-0-8342-1310-4, 1994.

VIDAL, C.M.S. **Microfiltração tangencial como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leite expandido alimentado com esgoto sanitário**. 2001. 147 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.

VLADISAVLJEVIĆ, G. T.; VUKOSAVLJEVIĆ, P.; BUKVIĆ, B. Permeate flux and fouling resistance in ultrafiltration of depectinized apple juice using ceramic membranes, **Journal Food Engineering**, v. 60, p. 241–274. 2003.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, n. 23(2), pp. 141 – 149. 2008.

WANG, H.; CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. **Journal of agricultural and food chemistry**, Easton, v. 45, n. 2, p. 304-309, 1997.

WIESNER, M. R.; VEERAPANENI, S.; BREJCHOVA, D. Improvement in microfiltration using coagulation pretreatment, In: Klute, R.; Hahn, H. H. (Eds.), Proceedings of the fifth

Gothenburg Symposium on Chemical Water and Wasterwater Treatment II, Nice, France, Springer, New York, 1992, p. 20 - 40.

WILLIAMS, S. (ed.) 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14^a ed., Arlington, AOAC Inc., 1141 p.

WOODSIDE, S. M.; BOWEN, B. D ; PIRET, J. M. Mammalian cell retention devices for stirred perfusion bioreactors. **Cytotechnology**, n. 28(1–3), p. 163–175, 1998.

WU, J.; LAYMAN, C.; MURTHY, S.; YANG, R. Determine mechanical properties of particulate composite using ultrasound spectroscopy. **Ultrasonics**, n. 44, pp. 793–800, 2006.

YANG, C.; ZHANG, N.; XU, N.; SHI, J. Preparation and Application in oil-water separation of ZrO₂/-Al₂O₃ MF membrane. **Journal Membrane Science**, n. 142, p. 235 – 243, 1998.

ZEMAN, L.J.; ZYDNEY, A.L. **Microfiltration and Ultrafiltration** - Principles and Applications. 1. ed. Marcel Dekker, New York, 1996.

Apêndice A

Antes de iniciar os experimentos de microfiltração tangencial para avaliar a retenção de microrganismos, realizou-se o levantamento da curva de crescimento da bactéria (*E. coli* CCT 0549), para padronizar a contaminação bacteriana inicial a ser realizada na bebida à base de açaí.

O levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 foi realizado pela contagem de bactérias em placas Petrifilm ECTM e paralelamente, por análise espectrofotométrica da densidade óptica (análise de turbidez) com leitura em comprimento de onda de 600 nm, utilizando-se um espectrofotômetro da marca Hach, modelo DR 2000.

Alguns experimentos foram realizados para a obtenção da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 e podem ser visualizados abaixo:

1º Experimento

Etapas:

1º) Preparação do caldo nutriente

Pesou-se 2,4g do caldo nutriente Broth (marca Acumedia) em um erlenmeyer, adicionou-se nesse recipiente 300 mL de água destilada e, em seguida, homogeneizou-se essa solução. Após a homogeneização, pipetou-se 5mL da solução do caldo nutriente em 4 tubos de ensaio.

Posteriormente, a solução do caldo nutriente Broth do erlenmeyer e os 4 tubos de ensaio contendo os 5 mL de caldo nutriente foram autoclavados a 121°C por 15 minutos para esterilizar.

2º) Enriquecimento da cultura pura de *E. coli*

A cepa de *E. coli* CCT 0549, gentilmente cedida pela pesquisadora Eloisa Pozzi do Laboratório de Processos Biológicos, da Universidade de São Paulo/ São Carlos, foi

inoculada no caldo nutriente Broth e, posteriormente transferida para a bebida à base de açaí. Porém, para inocular a *E. coli* no caldo nutriente preparado anteriormente, a cultura pura deste microrganismo precisou ser enriquecida, uma vez que as cepas eram mantidas congeladas (freezer a -18°C).

Para realizar este enriquecimento, adicionou-se 0,5 mL da cultura pura em 5 mL de caldo nutriente, mantendo-se esta solução durante 14 horas (overnight) em uma estufa a 37°C . Após este período de incubação, a cultura enriquecida foi adicionada no caldo nutriente e homogeneizada.

3º) Inoculação da cultura pura enriquecida

Após a homogeneização do caldo nutriente (250 mL) com os 5,5 mL da cultura enriquecida, coletou-se 1 mL dessa solução para análise microbiológica de contagem de microrganismos em placas Petrifilm ECTM e 2,5 mL para leitura de espectro a 600 nm (análise de turbidez). Após essas coletas e homogeneização da solução, o erlenmeyer contendo a mesma foi recolocado na estufa a 37°C para acompanhamento do crescimento microbiano.

Para a aquisição da curva de crescimento da *E. coli* foi necessário coletar amostras da solução (250 mL de caldo nutriente + 5,5 mL de cultura pura) durante vários intervalos de tempo.

4º) Tempos de coletas para levantamento da curva de crescimento da *E. coli*

Os intervalos de tempo e as diluições feitas para plaqueamento são apresentados nos esquemas abaixo.

Vale mencionar que estas análises de contagem de colônias de *E. coli* por plaqueamento contou com o gentil suporte teórico-prático da Profa. Dra. Maria da Penha Longo Mortatti Catanozi e da técnica Adriana Cristina Marchese Zavarizi do Laboratório de Microbiologia de

Alimentos, do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP.

Contagens de *E. coli* em placas Petrifilm EC™

Os resultados da contagem de *E. coli* CCT 0549 em placas Petrifilm EC™ foram colocados nas Tabelas 1' e 2'. Na Tabela 1' é apresentada a contagem da formação de unidades formadoras de colônias correspondente à leitura de 24 horas de inoculação da Placa Petrifilm EC™ à 37°C, enquanto a Tabela 2' corresponde à leitura de 48 horas de inoculação.

Para analisar o levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 através da contagem em placas, os resultados da Tabela 2' foram plotados em um gráfico (Figura 1') da contagem de unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL) em função do tempo de inoculação (minutos).

Tabela 1' – Contagem de microrganismos (*E. coli*) UFC/mL durante o acompanhamento da curva de crescimento da *E. coli* feita após 24 horas de inoculação da placa Petrifilm EC™ na estufa a 37°C.

Diluição	T = 0 min.	T = 20 min.	T = 40 min.	T = 60 min.	T = 90 min.	T = 120 min.	T = 150 min.	T = 180 min.	T = 210 min.	T = 240 min.	T = 270 min.	T = 300 min.	T = 330 min.
10 ⁻⁰	Inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻¹	Inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻²	Inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻³	Inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁴	Inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁵	37	81	78	60	70	163	147	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁶	—	10	9	6	6	11	14	52	61	115	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁷	—	—	ncc.	2	ncc.	ncc.	3	4	15	12	26	62	29
10 ⁻⁸	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	1	5	2
10 ⁻⁹	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	1
10 ⁻¹⁰	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.
10 ⁻¹¹	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹²	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹³	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹⁴	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹⁵	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	—	—

inc. = incontável; ncc = nenhuma colônia cresceu

Tabela 2' – Contagem de microrganismos (*E. coli*) UFC/mL durante o acompanhamento da curva de crescimento da *E. coli* feita após 48 horas de inoculação da placa Petrifilm na estufa a 37°C.

Diluição	T = 0 min.	T = 20 min.	T = 40 min.	T = 60 min.	T = 90 min.	T = 120 min.	T = 150 min.	T = 180 min.	T = 210 min.	T = 240 min.	T = 270 min.	T = 300 min.	T = 330 min.
10 ⁻⁰	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻¹	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻²	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻³	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁴	iInc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁵	37	81	78	57	66	143	138	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁶	—	10	9	6	6	11	14	52	64	116	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁷	—	—	ncc.	2	ncc.	ncc.	3	4	15	12	31	64	30
10 ⁻⁸	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	2	5	2
10 ⁻⁹	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	1
10 ⁻¹⁰	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.
10 ⁻¹¹	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹²	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹³	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹⁴	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	ncc.	ncc.	—
10 ⁻¹⁵	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ncc.	—	—

inc. = incontável; ncc = nenhuma colônia cresceu

Para construção do gráfico com os dados da contagem apresentada na Tabela 2' foi necessário padronizar a contagem, selecionando-se as diluições que tenham valores entre 25 e 250 colônias. Por exemplo, no T = 20 minutos, a diluição 10⁻⁵ apresentou 81 UFC/mL, ou seja, concentração de 8×10^6 . No entanto, a diluição 10⁻⁶ apresentou 10 UFC/mL. Uma vez que 10 UFC/mL não se encontram entre 25 e 250 colônias, a contagem selecionada para plotar o gráfico foi a da diluição 10⁻⁵.

A Figura 1' apresenta a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) em função do tempo de inoculação da placa Petrifilm ECTM em estufa à 37°C. Observa-se na Figura 1' que após mais de 300 minutos de inoculação, a bactéria ainda não havia alcançado a fase estacionária.

Cabe ressaltar que neste trabalho, a leitura das colônias da *E. coli* CCT 0549 foi padronizada com 48 horas devido a lenta produção da enzima glicuronidase, ou seja, a cor característica (azul) nas placas Petrifilm à 37°C, só foi observada após as 48 horas de inoculação. Isto indica que a *E. coli* CCT 0549 produz a enzima glicuronidase com menos facilidade do que outras linhagens da *E. coli*.

Figura 1'. Contagem de colônias (UFC/mL) de *E. coli* CCT 0549 em função do tempo de inoculação (minutos).

Leitura realizada com 48 horas de inoculação das placas em estufa à 37°C.

O acompanhamento dessa curva de crescimento (Figura 1') paralelamente foi realizado com a análise de turbidez (espectrofotômetro Hach DR 2000), com leitura em comprimento de onda de 600nm, como se observa na Figura 2'.

Figura 2'. Acompanhamento do crescimento da *E. coli* CCT 0549 em caldo nutriente Broth (2,4g do meio para 300mL de água destilada) pela análise de turbidez (absorbância em 600nm x tempo de inoculação).

Na Figura 2' observa-se que os microrganismos estão se multiplicando após cada intervalo de tempo coletado e que não há uma tendência de estabilização do crescimento da *E. coli* mesmo após 600 minutos (10 horas) de inoculação à 37°C. Portanto, outro experimento foi realizado na tentativa de descobrir o tempo que a cultura da *E. coli* CCT 0549 leva para atingir a fase estacionária.

2º Experimento

Após verificarmos que a curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 (Figura 2'), incubada em 250 mL de caldo nutriente Broth (preparado na proporção: 2,4g de caldo para 300mL de água destilada), em estufa à 37°C, não se estabilizaria nem com 10 horas de incubação, optou-se por levantar uma outra curva de crescimento. Entretanto, o levantamento desta nova curva de crescimento foi feita em diferentes condições.

As diferentes condições utilizadas no primeiro e segundo experimento para obtenção da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 são apresentadas na Tabela 3'.

Tabela 3' – Preparação do meio nutriente, inóculo e condições de operação utilizadas na primeira e segunda tentativas de levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549.

	Meio nutriente Broth (g)	Água destilada (mL)	Inóculo overnight (mL)	Parâmetros de operação
1º Experimento	2,4	300	5,5	Estufa à 37°C
2º Experimento	1,2	300	5,5	Shaker à 37°C

O segundo experimento foi realizado em *shaker* à 37°C e não em estufa devido ao aceleração do processo de crescimento das bactérias, uma vez que a agitação do *shaker* proporciona a homogeneização dos microrganismos no meio de cultura.

Para o segundo experimento de obtenção da curva de crescimento, reduziu-se a quantidade do meio de cultura à metade para mesma proporção de água destilada, ou seja, diluindo-se mais o caldo nutriente, os microrganismos alcançariam a fase estacionária em um intervalo de tempo menor do que no sistema fechado do primeiro experimento. Isto indica que os microrganismos teriam menos substrato para se desenvolver dentro do sistema fechado, atingindo a fase estacionária em um intervalo de tempo menor.

O segundo experimento foi realizado somente com a análise de turbidez, na qual se obteve o tempo necessário de inoculação da *E. coli* CCT 0549, em shaker à 37°C, para que a cultura atingisse a fase estacionária, como observado na Figura 3'.

Figura 3'. Curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549 em um sistema fechado sob agitação a 37°C, obtida através da análise de turbidez.

Na Figura 3' observa-se que a fase estacionária iniciou na sétima hora de inoculação da *E. coli* CCT 0549 nas condições: 1,2g de meio nutriente Broth para 300 mL, 5,5 mL de inóculo overnight e shaker a 37°C.

Para conhecer a contagem de colônias de *E. coli* apresentada no sistema fechado do segundo experimento, no momento em que os microrganismos atingiram a fase estacionária, um outro experimento foi desenvolvido, seguindo-se a mesma metodologia (quantidade de meio nutriente e condições de operação) deste 2º experimento.

Para acompanhar a transição do crescimento da fase exponencial para a fase estacionária da *E. coli* dentro do sistema fechado, coletou-se amostras para contagem em placas Petrifilm EC™ nos intervalos e diluições mostrados a seguir:

Nas Tabelas 4' e 5' são apresentadas as contagens de microrganismos (UFC/mL) versus tempo de inoculação (minutos) feitas respectivamente, após 24 e 48 horas de inoculação das placas Petrifilm ECTM em estufa.

Tabela 4' – Contagem de microrganismos (*E. coli*) UFC/mL feita após 24 horas de inoculação da placa Petrifilm na estufa a 37°C durante o acompanhamento da curva de crescimento (2º experimento) da *E. coli*.

Diluição	T = 330 min.	T = 390 min.	T = 420 min.	T = 450 min.	T = 480 min.	T = 510 min.	T = 540 min.
10 ⁻⁴	27	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁵	3	85	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁶	1	13	94	53	124	98	159
10 ⁻⁷	ncc	2	16	17	18	13	23
10 ⁻⁸	ncc	__ncc__	1	3	5	__ncc__	2

inc. = incontável; ncc = nenhuma colônia cresceu

Assim como realizado no primeiro experimento, um gráfico com os resultados da Tabela 5' foi realizado para o segundo experimento para obtenção da curva de crescimento da *E. coli*.

Tabela 5' – Contagem de microrganismos (*E. coli*) UFC/mL feita após 48 horas de inoculação da placa Petrifilm na estufa a 37°C durante o acompanhamento da curva de crescimento (2º experimento) da *E. coli*.

Diluição	T = 330 min.	T = 390 min.	T = 420 min.	T = 450 min.	T = 480 min.	T = 510 min.	T = 540 min.
10 ⁻⁴	34	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁵	5	87	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
10 ⁻⁶	2	21	94	56	124	103	inc.
10 ⁻⁷	ncc	2	16	18	20	13	24
10 ⁻⁸	ncc	ncc	1	3	5	ncc	2

inc. = incontável; ncc = nenhuma colônia cresceu

O gráfico da Figura 4' corresponde à contagem de colônias (UFC/mL) versus tempo (minutos), padronizada na leitura com 48 horas de incubação da placa Petrifilm ECTM em estufa a 37°C, da segunda tentativa de levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549.

Figura 4'. Contagem de colônias (UFC/mL) de *E. coli* versus tempo (minutos).

Na Figura 4' observa-se que os três últimos pontos de coleta (480, 510 e 540 minutos) apresentaram contagem na faixa de 10⁸ UFC/mL, o que indica a estabilização do crescimento da *E. coli* CCT 0549.

Após o acompanhamento da curva de crescimento através da análise de turbidez (Fig. 3') e da contagem de bactérias em placas Petrifilm ECTM (Fig. 4'), todos os experimentos de microfiltração tangencial com bebida à base de açaí contaminada foram padronizados a partir dos resultados obtidos no segundo experimento do levantamento da curva de crescimento da *E. coli* CCT 0549.