LINA MARIA RAYO MENDEZ

Isolamento de polissacarídeos não amiláceos da banana (*Musa cavendishii* L. variedade Nanicão) e seu potencial uso como ingrediente funcional

**São Paulo
2018**

LINA MARIA RAYO MENDEZ

Isolamento de polissacarídeos não amiláceos da banana (*Musa cavendishii* L. variedade Nanicão) e seu potencial uso como ingrediente funcional

Tese apresentada à Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências

**São Paulo
2018**

LINA MARIA RAYO MENDEZ

Isolamento de polissacarídeos não amiláceos da banana (*Musa cavendishii* L. variedade Nanicão) e seu potencial uso como ingrediente funcional

Tese apresentada à Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração:
Engenharia Química

Orientadora:
Prof^a.Dra Carmen Cecília Tadini

**São Paulo
2018**

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, dede 20

Assinatura do autor

Assinatura do orientador

Catlogação-na-publicação

RAYO-MENDEZ, LINA MARIA

Isolamento de polissacarídeos não amiláceos da banana (Musa cavendishii L. variedade Nanicão) e seu potencial uso como ingrediente funcional / L.M. RAYO-MENDEZ. –versão corr.-- São Paulo, 2018.

174 p.

**Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo
Departamento de Engenharia Química.**

**1. Banana madura 2. Açúcares solúveis 3. Polissacarídeos não amiláceos
4. Extração sólido-Líquido 5. Extração assistida por ultrassom
I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de
Engenharia Química II. t.**

DEDICATORIA

*A Deus, dedico esta conquista,
meu pai celestial, meu melhor amigo,
por me sustentar ao longo desta caminhada,*

*À minha família por acreditarem em mim,
por me apoiar, me amar e entender o sacrifício da distância..*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus quem esteve e está presente em todos os capítulos da minha vida, por me dar a sabedoria para enfrentar todas as situações e me mostrar seu amor através de muitas coisas.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Carmen Cecilia Tadini, por me abrir as portas do Laboratório de Engenharia de Alimentos e do mundo da pesquisa, por acreditar em mim e me dar a possibilidade de desenvolver este trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, pelo seu vasto conhecimento transmitido que me formaram e me fizeram crescer como pessoa e como profissional desde quando eu comecei o mestrado até agora. Admiração e gratidão.

À minha família, minha mãe Shirley e meu pai Martin por serem esse pilar que da suporte na minha vida. Por me ensinar a não desistir e se cair uma vez tenho que me levantar mil vezes. Obrigada pelas suas orações. A minha irmã Vanessa por seu amor incondicional e me segurar firme quando precisei. A meus avos Inés, Elsy, Raul e Walter (*in memoriam*), meus tios, por se sentirem orgulhosos de mim e a minha segunda tia/irmã Yuri porque desde criança cuida de mim.

Aos meus colegas do laboratório: Arlet, Helena, Analia, Luz, Carla, Rosa, Erica, Eduardo, Tiago, Bianca 1, Bianca 2, Rodrigo, Robert, Erica, pelos bons momentos compartilhados. A Carola por ser como uma mãe, pelos conselhos, ensinamentos, a Juliana e Mariana, pela grande amizade. Ao Ivan e a Vanessa pelo suporte e disposição no laboratório e pela amizade em todos estes anos.

À Ana Fabricia minha irmã que o coração escolheu, obrigada por estar sempre firme nos momentos bons e ruins.

À Erica Corina, pela valiosa amizade, pela boa companhia, por me dar uma voz de alento e me animar sempre.

Aos meus amigos e conterrâneos Ruben, Jaiber, Alex, Carlos, Victor, Lina, John, pela amizade verdadeira e os bons momentos compartilhados. Ao Sr Ailton por ser essa pessoa cálida com bons conselhos e pelos bons papos no Crusp.

Ao Lenin quem fez parte do início desta caminhada e mesmo na distância sempre tem me apoiado e ajudado incondicionalmente.

À Prof^a. Dr^a. Beatriz Cordenunsi pelos ensinamentos e direcionamento do trabalho, pelos conselhos prudentes e úteis.

Ao Prof. Dr. Jorge Andrey Wilhelms Gut, pelo agradável convívio no laboratório, ensinamentos e exemplo de disciplina e amor pela academia.

À CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado

À Dra. Cristina Chiyoda Koshima, a quem sou muito grata por estar sempre disposta a colaborar e ensinar tudo o que ela pudesse passar. Pela disposição para o aprimoramento deste trabalho, seu conhecimento foi fundamental. Pela amizade, dicas e sugestões, muito obrigada.

Ao professor Dr. Pedro Alcântara Pessoa Filho, pelo grande aporte ao trabalho, pelos ensinamentos, pela paciência. Aprecio muito sua grande vontade de ensinar e transmitir seu conhecimento. Grande admiração.

Aos alunos de estágio, Cesar e Gustavo, sou muito grata pela ajuda de vocês durante os ensaios.

Ao Douglas e sua família que me acolheram com amor e estiveram me apoiando sempre que eu precisei.

Ao laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, e sua equipe de trabalho, Elias quem me ajudou muito nas análises de amostras para meu trabalho, sempre disposto a colaborar. A Tânia pelos ensinamentos valiosos e oportunos e análises de amostras. Em especial a Lucia pela valiosa ajuda em todos os experimentos, por me acolher como um membro mais do laboratório, pela amizade e risadas durante todo este tempo. E aos amigos que esse laboratório me deu: Janayra, Victor, Mayra, Samira, Gabi, Eric, Matheus, Renier. Apreendi muito de todos vocês, e sempre estiveram dispostos a me ajudar em qualquer situação, muito obrigada.

A satisfação está no esforço e não apenas na realização final
(Mahatma Gandhi)

Não tenho forças para desistir, e não penso em desistir
(meu pai)

RESUMO

Neste trabalho, polissacarídeos não amiláceos (PNAs) da banana madura com potencial de propriedades imunomoduladoras foram obtidos por meio da remoção dos açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) do purê de banana submetido a duas técnicas de extração: sólido-líquido (ESL) com agitação mecânica e assistida por ultrassom (EAU) usando etanol a 99,5 g/100 g como solvente. Para o estudo em batelada, diferentes razões da matéria-prima/solvente (1:5, 1:7 e 1:10) g/mL, tempos de extração (30, 60 e 90) min e duas temperaturas de (25 e 65) °C foram estudados. No estudo cinético, o impacto da redução da razão matéria-prima/solvente de 1:5 para 1:3 g/mL foi estudado até 90 min, nas mesmas condições estudadas na extração em batelada. O teor de açúcares solúveis (AS) medido nos extratos foi superior na temperatura de 65°C, porém às razões de 1:7 e 1:10, não resultou em maior quantidade de AS nos extratos, portanto, menores quantidades de etanol podem ser usadas diminuindo custos. Com o emprego da técnica EAU à 25 °C e tempo de extração de 30 min, foi observado que uma redução da razão matéria-prima/solvente até 1:3 g/mL produz maior rendimento de processo. No entanto, foi observado que maiores tempos de extração promoveram degradação da parede celular da matéria-prima. Entre os modelos cinéticos testados, o ajuste do modelo de Patricelli aos dados experimentais indicou que a ESL é regida pela fase de lavagem em que ocorreu 85 % da extração dos AS. Frações molares de glicose, ácidos galacturônicos, manose, arabinose, xilose, galactose de conteúdo monossacarídeo foram observadas nos refinados, indicando possivelmente serem parte de polissacarídeos do tipo β -glicanos, xilomananos glucomananos, arabinogalactanos e arabinoxilanos.

Palavras-chave: banana madura, açúcares solúveis, polissacarídeos não amiláceos, extração sólido líquido, extração assistida por ultrassom.

ABSTRACT

In this work, non-starch polysaccharides (PNAs) of ripe bananas with potential for immunomodulatory properties were obtained by means removing the soluble sugars (glucose, fructose and sucrose) from banana puree submitted to two extraction techniques: solid-liquid (SLE) with mechanical stirring and ultrasonic assisted (UAE) using 99.5 g/ 100 g ethanol as solvent. For the batch study, different ratios of the raw material/ solvent (1:5, 1:7 and 1:10) g/ mL, extraction times of (30, 60 and 90) min and two temperatures of (25 and 65) °C were studied. In the kinetic study, the impact of reducing the raw material/ solvent ratio from 1:5 to 1:3 g/ mL was studied up to 90 min, under the same conditions studied in batch extraction. The soluble sugar content (AS) measured in the extracts was higher at temperature of 65 °C, however, at the ratios of 1:7 and 1:10, did not result in higher amount of AS in the extracts, therefore, smaller amounts of ethanol can be costs. With the use of the UAE technique at 25 °C and extraction time of 30 min, it was observed that a reduction of the raw material / solvent ratio up to 1:3 g / mL produces a higher process yield. However, it was observed that longer extraction times promoted degradation of the cell wall of the raw material. Among the kinetic models tested, the adjustment of Patricelli model to the experimental data indicated that the SLE the predominance is by the washing phase in which 85% of the AS extractions occurred. Glucose molar fractions, galacturonic acids, mannose, arabinose, xylose, galactose of monosaccharide content were observed in the raffinates, indicating possibly being part of polysaccharides as β -glycan, xylomannans, glucomannans, arabinogalactans and arabinoxylans.

Keywords: Ripe banana, soluble sugars, non starch polysaccharides, solid-liquid extraction, ultrasound assisted extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Evolução dos diferentes estados de maturação da banana evidenciando a redução do teor de amido e consequente acúmulo de açúcares	41
Figura 3.2 – Variação dos sólidos solúveis (°Brix) e firmeza (N) com o estágio de maturação	42
Figura 3.3 - Composição de polissacarídeos solúveis e insolúveis em água da parede celular de bananas variedade Thap Maeo (triploide AAB) e Nanicão (triploide AAA)	56
Figura 3.4 -Esquema das principais fases da extração com solvente de partículas de alimentos sólidos. Transferência de massa do soluto através dos poros capilares pela entrada do líquido.....	57
Figura 3.5 - Esquema de um processo de extração em um único estágio (batelada).	66
Figura 3.6 - Frequências do som (em Hz)	69
Figura 3.7 - Fenômeno da cavitação acústica	70
Figura 3.8 - Ilustração esquemática de um banho ultrassônico (a) e um probe ultrassônico (b)	72
Figura 3.9 –Curva de extração no tempo (batelada com solvente), mostrando os estágios de extração rápida (fase de lavagem) e lenta (fase de difusão).....	74
Figura 4.1 - Análise de firmeza dos frutos de banana verde em texturômetro (SMS, mod TA-XT2i plus, Inglaterra, carga 30 kg) (a) e posicionamento da banana verde em teste de penetração (b).....	81
Figura 4.2- Diagrama do planejamento experimental	86
Figura 4.3- Etapas de todo o processo de caracterização da matéria-prima e extração: bananas totalmente verdes (a), teste de firmeza (b), armazenamento das bananas verdes em câmara climatizada (20 ± 2 °C e (80-85) % UR (c), bananas maduras (d), bananas descascadas (e), rodela de banana (f), purê de banana preparado em liquidificador (g), amostra de purê mais etanol 99,5 mL/100 mL em béquer (h) extração em banho termostático com agitação mecânica (i), filtrado (j), extrato (E) (k), refinado (R) (l).	88
Figura 4.4 Esquema do banho ultrassônico com isolamento em isopor. A - Béquer de vidro, B – Mistura (purê e etanol), C – Termopar, D – Gerador ultrassônico, E – Controlador de temperatura, F – Sistema de coleta de dados, G – Transdutores ultrassônicos, H – Aquecedor, I – Suporte em aço inox, J – água, K – Isolamento de isopor.	91
Figura 4.5 – Esquema do processo de cinética de extração nos diferentes tempos	98

Figura 5.1 Evolução da firmeza —●— e dos sólidos solúveis —Δ— da banana ao longo do armazenamento por 17 dias a temperatura de (20 ± 2) °C e umidade relativa de (80 - 85) % em câmara climatizada.....	109
Figura 5.2 Refinado das amostras tratadas a 25 °C: (a) etanol 80 g/ 100 g, b) etanol 99,5 g/ 100 g.	111
Figura 5.3 Índice de extração (IE), expresso como quantidade de açúcares solúveis no extrato líquido (E) em relação à quantidade de açúcares solúveis no purê de banana, após ESL a 25 °C e 65 °C, nas razões amostra/solvente: 1:5 (a); 1:7 (c); 1:10 (d); em comparação com o IE após EAU a 25 °C e 65 °C e 1:5 da razão amostra/solvente (b).....	120
Figura 5.4 Frações mássicas de sólidos solúveis (g ss/g extrato) no extrato obtido a temperatura de extração de 25 °C e 65 °C, nos métodos de extração ESL e EAU, para as razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5.....	123
Figura 5.5 Interações entre o fatores de temperatura e razão amostra/solvente, observadas na fração de sólidos solúveis durante o processo de extração ESL (a), EAU (b).	127
Figura 5.6 Frações mássicas de sólidos solúveis no extrato X_{ss} (g ss/g extrato) obtidas nas ESL e EAU, as temperaturas de (25 e 65) °C e razões amostra/solvente 1:3 (a); e 1:5 (b).	128
Figura 5.7 Frações mássicas de água X_w no extrato obtido a temperatura de extração de 25 °C e 65 °C, nos métodos de extração ESL e EAU, para as razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5.	132
Figura 5.8 Curvas de cinética de extração de sólidos solúveis do purê de banana obtidas experimentalmente, e comparadas aos modelos de Patricelli et al. (1979), e Peleg (1988) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, (25 e 65) °C	135
Figura 5.9 Diagramas de paridade entre os dados experimentais das frações de sólidos solúveis X_{ss} (g ss/g extrato) e os estimados pelo modelo de Patricelli et al. (1979) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, (25 e 65) °C.	137
Figura 5.10 Diagramas de paridade entre dados experimentais e teóricos das frações de sólidos solúveis X_{ss} (g ss/ g extrato) obtidos pelo modelo matemático de Peleg (1988) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, 25 e 65 °C.	138
Figura 5.11 Cromatogramas da fração solúvel em água obtida dos refinados após extração: ESL, razão 1:3 e 1:5, 25 °C e 65 °C (a); EAU, razão 1:3 e 1:5, 25 °C e 65 °C (b)	143
Figura 5.12 Distribuição molar do conteúdo monossacarídico dos refinados após extrações nas condições estabelecidas de 1:3 e 1:5; ESL e EAU; 25 °C e 65 °C.....	145

LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1 - Produção brasileira de banana (AGRIANUAL, 2012; IBGE, 2014).....	39
Tabela 3-2 - Composição centesimal, minerais, vitaminas da banana madura <i>in natura</i> , var. Nanicão, (<i>Musa cavendishii</i> L)	43
Tabela 3-3 - Classificação dos carboidratos, seus componentes e exemplos.	46
Tabela 3-4 - Carboidratos por fração presentes na banana madura (<i>Musa cavendishii</i> L var. Nanicão)	50
Tabela 3-5 – Classificação química de polissacarídeos não amiláceos PNAs, suas cadeias principais, laterais, localização dentro da planta e solubilidade em solventes.	52
Tabela 3-6 – Métodos de extração e solventes usados para extrair polissacarídeos não amiláceos (PNAs) solúveis ou insolúveis em água (SA, IA, respectivamente) de diferentes frutas, e suas propriedades fisiológicas.	62
Tabela 3-7 Modelos matemáticos propostos na literatura para processos de extração	77
Tabela 4-1 - Razão das quantidades de purê de banana em relação ao solvente (etanol) a 99,5 mL/100 mL.....	87
Tabela 4-2 – Parâmetros usados na extração sólido-líquido e número de tratamentos realizados por cada condição para um total de 36 ensaios.....	89
Tabela 4-3 – Ensaios de extração do purê de banana por EAU, na razão de 1:5 g de purê/mL de etanol.....	91
Tabela 4-4 Matriz de tratamentos para a cinética de extração da primeira e segunda etapa de intervalos e amostras coletadas em triplicata	96
Tabela 5-1 Firmeza, conteúdo de água, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, teor de amido, proteínas e cinzas da banana verde e madura (<i>Musa cavendishii</i> var. Nanicão) comparados com dados da literatura.....	107
Tabela 5-2 Açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) obtidos por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), açúcares solúveis totais obtidos pelo método de fenol sulfúrico, e conteúdo de umidade da banana madura <i>in natura</i>	112
Tabela 5-3 Massa de açúcares solúveis (g) no extrato, extraídos do purê de banana às temperaturas de 25 °C e 65 °C, concentração de etanol de 99,5 g/100 g, razão amostra/solvente 1:5, 1:7 e 1:10 e tempos de contato de 30, 60 e 90 min.	113

Tabela 5-4 Principais efeitos e interações lineares dos parâmetros de processo obtidos por ANOVA ($p < 0,05$), de açúcares solúveis da banana madura para a ESL.	116
Tabela 5-5 Massa de açúcares solúveis no extrato (g), extraídos do purê de banana na ESL, na razão amostra/solvente de 1:5, comparada à obtida na EAU, às temperaturas de 25 °C e 65 °C, concentração de etanol de 99,5 g/100 g, e tempos de exposição de 30, 60 e 90 min.	118
Tabela 5-6 Potência ultrassônica volumétrica, obtida experimentalmente na extração EAU em diferentes tempos de exposição e a temperatura inicial de 25 °C e 65 °C.	119
Tabela 5-7 Índice de retenção calculado para todos os tratamentos de extração nas razões amostra/solvente 1:5, 1:7 e 1:0 na ESL e 1:5 para EAU à temperatura de 25 °C e 65 °C.	121
Tabela 5-8 Efeitos das variáveis temperatura e tempo para os dois processos de extração ESL e EAU nas duas razões 1:3 e 1:5.	126
Tabela 5-9 Rendimentos de extração (g ss extrato/ 100 g ss banana) obtidos no tempo de 30 min para todos os tratamentos de extração.	130
Tabela 5-10 Coeficientes de transferência de massa e frações mássicas de sólidos solúveis na condição de equilíbrio determinados pelos modelo de Patricelli et al. (1979) e Peleg (1988)	134
Tabela 5-11 Coeficientes de transferência de massa e frações mássicas de água na condição de equilíbrio determinados pelo modelo de Patricelli et al. (1979)	141

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

EAU:	Extração assistida por ultrassom
ESL:	Extração sólido líquido
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PNAs	Polissacarídeos não amiláceos
RMSE	Erro quadrático médio
TBCA-USP	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos–USP
VCI:	Volume de controle I
VCII:	Volume de controle II

LISTA DE SÍMBOLOS

B_0	Taxa de transferência de massa no início da extração (min/g ss.g extrato ⁻¹) do modelo de Peleg (1988).
C_0	Concentração do soluto no tempo t=0 (min) (g soluto/100 g de solução).
C_{eq}	Constante de equilíbrio (g ss/g extrato) do modelo de Peleg (1988)
C_p	Capacidade calorífica da água ou do solvente (kJ kg ⁻¹ K ⁻¹)
C_t	Concentração de soluto no extrato no tempo t (g soluto/100 g de solução).
C_t^w	Concentração de soluto no solvente (g soluto/100 g de solução) na condição de equilíbrio na fase de lavagem do modelo de Patricelli et al. (1979) .
C_t^d	Concentração de soluto no solvente (g soluto/100 g de solução) na condição de equilíbrio na fase de difusão do modelo de Patricelli et al. (1979) .
$C_{t\infty}$	Concentração final de sólidos solúveis no extrato no tempo t=∞ do modelo de Patricelli et al. (1979) (g soluto/100 g de solução) .
$\frac{dT}{dt}$	Variação da temperatura com o tempo (K s ⁻¹)
$\dot{E}$	Vazão mássica de saída do extrato (g s ⁻¹)
$\dot{F}$	Vazão mássica de entrada da alimentação (g s ⁻¹)
IE	Índice de extração (%)
K_w	Coeficientes de transferência de massa na fase de lavagem do modelo de Patricelli et al. (1979) (min ⁻¹)
K_d	Coeficientes de transferência de massa na fase de difusão do modelo de Patricelli et al. (1979) (min ⁻¹).
K_1	Taxa constante do modelo de Peleg (1988) (min/(g ss/g extrato) ⁻¹)
K_2	Capacidade constante do modelo de Peleg (1988) (g extrato/ g ss)

$\dot{M}$	Ponto de mistura do estagio i ou vazão total do processo (g s^{-1})
m	Massa de água ou solvente usado no banho ultrassônico (kg)
m_A	Massa de alíquota de extrato (g).
m_{0F}^{ss}	Massa de sólidos solúveis (ss) no purê de banana (g).
m_{0F}^w	Massa de água no purê de banana (g).
m_{0S}^w	Massa de água no solvente (g)
m_{0S}^{et}	Massa de etanol no solvente (g)
$\dot{m}_{(t)E}$	Massa de sólidos solúveis e água transferido para o extrato no tempo (g)
N	Número de observações (-)
n	Número de constantes (-)
P	Potência ultrassônica (W)
$\dot{R}$	Vazão mássica de saída do refinado (g s^{-1})
R^*	Índice de retenção (%)
$\dot{S}$	Vazão mássica de entrada do solvente (g s^{-1})
t	Tempo (min)
μ	Massa específica (g mL^{-1})
V	Volume (cm^3)
χ^2	Distribuição chi quadrado (-)
X_{0F}^w	Fração mássica de água no purê de banana (g w / 100g purê).
X_{0F}^{ss}	Fração mássica de sólidos solúveis no purê de banana (g ss/ g ss banana).
X_{0S}^{et}	Fração mássica de etanol no solvente (concentração) (g etanol/ g solvente)
X_{0S}^w	Fração mássica de água no solvente (g água/ 100 g solvente)
$X_{(t)E}^w$	Fração mássica de água no extrato em qualquer tempo (g w/ g extrato)
$X_{(t)E}^{ss}$	Fração mássica de sólidos solúveis no extrato em qualquer tempo (g ss/ g extrato)

Subscritos:

E:	Corrente extrato
F:	Corrente alimentação
<i>i</i> :	Número de estágios de extração
<i>R</i> :	Corrente refinado
S:	Corrente solvente

Sobrescritos:

et	Etanol
SS:	Sólidos solúveis
W:	água
<i>y</i> :	Tipo de componente presente no sistema

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
2	OBJETIVOS.....	35
2.1	Objetivo Geral	35
3	REVISÃO DE LITERATURA	37
3.1	A Banana.....	37
3.1.1	Classificação Botânica	37
3.1.2	Produção de Banana.....	38
3.1.3	Amadurecimento dos Frutos	40
3.1.4	Composição química	42
3.2	Carboidratos	44
3.2.1	Monossacarídeos	47
3.2.2	Dissacarídeos e Oligossacarídeos	48
3.2.3	Polissacarídeos	49
3.2.4	Carboidratos presentes na banana madura variedade Nanicão (<i>Musa cavendishii</i> L)	50
3.3	Polissacarídeos não amiláceos (PNAs).....	51
3.3.2	Polissacarídeos não amiláceos presentes na banana.....	55
3.4	Extração sólido-líquido.....	56
3.4.1	Mecanismos de extração.....	58
3.4.2	Técnicas de extração	60
3.5	Extração assistida por ultrassom (EAU)	67
3.5.1	Princípios do ultrassom	67
3.6	Cinética de extração.....	73
3.6.1	Taxa de transferência de massa e modelagem matemática	75
4	MATERIAIS E MÉTODOS	79
4.1	Etapa 1: Caracterização da matéria-prima	80
4.1.1	Firmeza	80
4.1.2	Teor de umidade	81
4.1.3	Teor de sólidos solúveis	81
4.1.4	pH.....	81
4.1.5	Acidez titulável.....	82

4.1.6	Cinzas.....	82
4.1.7	Conteúdo de amido.....	82
4.1.8	Determinação de proteínas.....	82
4.1.9	Determinação de açúcares solúveis por cromatografia líquida de alta resolução	83
4.1.10	Determinação de açúcares solúveis por fenol sulfúrico	84
4.2	Etapa 2: Processos de extração	84
4.2.1	Preparo da banana para o processo de extração	84
4.2.2	Extração sólido-líquido com agitação mecânica (ESL)	87
4.2.3	Análises das fases extrato e refinado para ESL	89
4.2.4	Extração sólido-líquido assistida por ultrassom (EAU)	90
4.2.5	Medida da potência volumétrica ultrassônica (W/L).....	92
4.2.6	Balanços de massa para ESL e EAU	93
4.2.7	Índice de extração.....	94
4.3	Etapa 3: Cinética de extração	94
4.3.1	Análises das fases extrato e refinado	96
4.3.2	Análise dos polissacarídeos por fracionamento por cromatografia por exclusão de tamanho.....	97
4.3.3	Determinação do conteúdo monossacarídico da parede celular	97
4.4	Balanços de massa para cinética de extração	98
4.5	Modelagem matemática da cinética de extração	103
4.5.1	Avaliação estatística dos modelos matemáticos.....	104
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
5.1	Etapa 1: Caracterização da matéria-prima.....	107
5.1.1	Evolução da firmeza e teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento da banana	108
5.2	Etapa 2: Processos de extração	110
5.2.1	Extração sólido-líquido (ESL).....	110
5.2.2	Extração assistida por ultrassom (EAU)	117
5.2.3	Índice de extração de sólidos solúveis ESL e EAU.....	119
5.2.4	Índice de retenção	121
5.3	Cinética de extração	121
5.4	Modelos matemáticos	133

5.5	Caracterização das frações polissacarídicas	142
6	CONCLUSÕES	147
7	CONTINUIDADE DO TRABALHO	149
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	151

1 INTRODUÇÃO

A banana (*Musa* sp.), na forma *in natura*, é uma das frutas mais consumidas e comercializadas no mundo. Apresenta-se originária do continente asiático e é produzida em grande parte dos países de clima tropical (BORGES; SOUZA, 2004; EMBRAPA, 2008). Em 2012, os cinco principais países produtores de banana segundo dados estatísticos da FAO (Food and Agriculture Organization) foram Índia, China, Filipinas, Equador e Brasil, sendo a produção deste último país superior a 7,1 milhões de toneladas das 101,9 produzidas mundialmente, o que representa cerca de 6,97% do montante cultivado (FAOSTAT, 2014; IBGE, 2014).

No que se refere às variedades de bananas produzidas no Brasil, encontram-se a Prata comum, Prata Anã, Maçã, Mysoure, Terra (triploide AAB), Nanica (menor tamanho) e a Nanicão (maior tamanho) do subgrupo (*Musa cavendishii* L) e triploide (AAA). As bananas Nanica e Nanicão representam a variedade de maior importância econômica para o país por apresentarem as características de tamanho, forma, sabor e aroma desejadas pelas principais nações importadoras do fruto (BORGES, 2004; EMBRAPA, 2008; IBGE, 2014; MOTA *et al.*, 2004).

A banana, por ser um fruto do padrão respiratório climatérico, caracteriza-se por alcançar a maturidade fisiológica ainda separado da planta. Desta forma, os frutos podem ser colhidos ainda verdes e seu amadurecimento ocorre devido ao aumento da taxa respiratória e produção do etileno, processo que ocorre rapidamente na banana. Portanto, o manuseio pós-colheita é fundamental para favorecer a sua longevidade durante a comercialização (EMBRAPA, 2008).

Segundo a Embrapa (2008), os frutos podem sofrer danos causados na pós-colheita, devido a manuseios excessivos ou inadequados, submetidos a condições inapropriadas de armazenamento, como falta de embalagens e ausência da cadeia de frio.

Aproximadamente 40 % da produção total das bananas produzidas no Brasil são perdidos na fase pós-colheita, sendo os frutos rejeitados descartados

EMBRAPA, 2008, IBGE, 2014). Segundo Zhang et al. (2005), as bananas rejeitadas poderiam ser reaproveitadas pela indústria como potenciais fontes de carboidratos. Além das perdas pós-colheita, na cidade São Paulo em média, 200 (kg/dia) , são considerados refugo (bananas em avançado estágio de maturação) provenientes de estabelecimento de grande e pequeno porte, sendo estes descartados, vendidos por um preço menor ou doados para instituições de caridade segundo estudo realizado por Martens et al. (2017).

Das características físicas e químicas pode-se destacar a massa da banana a qual oscila entre (100 – 200) g dependendo da variedade, com 60- 65 (g/100 g) de polpa comestível, teor de umidade entre (71- 76) g/100 g (MEDINA et al., 2004) e uma quantidade de (20- 22) g/100 g de carboidratos disponíveis (açúcares solúveis) como glicose, frutose e sacarose (SHIGA et al., 2011; TBCA-USP, 2017), características que tornam o fruto mais atrativo para consumo *in natura* (GIOVANNONI, 2001).

Além dos açúcares solúveis, a banana também contém polissacarídeos como fonte de carboidratos. Neste contexto, Cordenunsi; Shiga e Lajolo, (2008) estudaram a composição de polissacarídeos presentes em banana de duas variedades distintas, *Mysore* (grupo AAB) e *Nanicão* (grupo AAA) encontrando que os dois cultivares possuem na parede celular galacturonas e arabinoxilanos, polissacarídeos não amiláceos (PNAs) semelhantes à fibra dietética comumente encontrados em paredes celulares de cereais como aveia, trigo, cevada entre outros. Essa semelhança pode ser decorrente da sua classificação botânica, uma vez que tanto a banana como os cereais pertencem à classe das monocotiledôneas (tipo II) na qual a banana é da ordem das *Zingiberales* e os cereais da ordem das *Poales*, diferente de outras frutas (acerola, laranja, mamão, morango, abacate, entre outras.) que pertencem às plantas dicotiledôneas (CARPITA, MCCANN, 2000; SHIGA et al., 2011).

Os PNAs constituem uma classe importante dos carboidratos devido à classificação como fibra alimentar, as quais podem apresentar efeitos positivos para a saúde humana. Dessa forma, pode-se destacar os estudos que visam extrair ou isolar PNAs de diferentes tipos de vegetais, grãos e frutos para futura utilização

como ingredientes funcionais em formulações alimentícias (CASTRO-ALVES; NASCIMENTO, 2016b; CHEN et al., 2012; CORDENUNSI, SHIGA, LAJOLO, 2008; FAN, MAZZA, LIAO, 2010; SHIGA et al., 2015).

O estudo realizado por Sansone et al. (2016), usando PNAs solúveis em água isolados da banana madura das variedades Thap Maeo e Nanicão, verificou que estes polissacarídeos poderiam contribuir para melhorar a resposta imunológica do organismo humano. Também observaram que a variedade Nanicão apresentou o dobro de PNAs solúveis em água ($63,99 \pm 4,78 \text{ mg. g}^{-1}$) em relação a Thap Maeo ($37,6 \pm 5,0 \text{ mg. g}^{-1}$), e que a quantidade de açúcares solúveis é mais abundante na variedade Nanicão do que na Thap Maeo, fator que dificulta no momento da separação dos PNAs.

Ainda com relação a estas duas variedades de banana, Shiga et al. (2017) demonstraram que existem diferenças entre as quantidades, solubilidade e tipos de PNAs presentes na parede celular destes frutos. No entanto, ambos apresentam uma potencial atividade biológica, principalmente, por conter elevados teores de arabinogalactanos e mananos, polissacarídeos que podem ativar macrófagos apresentando uma atividade imunomoduladora *in vitro* como comprovado por Sansone et al. (2016). Assim torna-se viável uma extração de PNAs de banana para serem usados como ingredientes funcionais.

Com base nos trabalhos publicados na literatura o isolamento de PNAs de banana tem sido estudado em escala laboratorial usando metodologias com solventes não aceitados para uso alimentício ou considerados como tóxicos pela FDA (2003) como o metanol, clorofórmio entre outros (CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008; FAN; MAZZA; LIAO, 2010; SANSONE et al., 2016; SHIGA et al., 2017a; ZHANG et al., 2016). Assim, apresenta-se uma oportunidade para estabelecer uma metodologia para um processo de isolamento de PNAs que possa ser usada industrialmente aproveitando as bananas em alto estado de maturação rejeitadas ou sem valor comercial uma vez que o grau de maturação não influencia na quantidade de PNAs presentes na banana devido a que sua parede celular não apresenta mudanças durante seu amadurecimento segundo Shiga et al. (2011).

Dentre os componentes da banana tem-se que os carboidratos disponíveis (açúcares) correspondem a 21 (g/ 100 g) do fruto, segundo valor mais alto depois do conteúdo de água de 76 (g/ 100 g) de banana (TBCA-USP, 2017). Estes carboidratos presentes na banana madura são altamente solúveis em água assim como os PNAs, apresentando um desafio para uma posterior separação entre monodissacarídeos e PNAs. Porém açúcares simples como glicose, frutose e sacarose apresentam características de solubilidade em solvente orgânico como etanol e podem ser extraídos devido a que este solvente apresenta características polares que o torna capaz de solubilizar compostos da mesma polaridade como os açúcares simples (ALVES; ALMEIDA E SILVA; GIULIETTI, 2007; JOHANSEN et al., 1996; PERES; MACEDO, 1997) Além de ser um solvente aceitado pela FDA (2003) considerado como aceitável para uso alimentício, permitindo-se como uso industrial.

Nesse contexto, no presente trabalho técnicas de extração sólido-líquido (ESL), extração assistida por ultrassom (EAU) com solvente etanol, assim como um estudo cinético avaliando diferentes parâmetros no processo foram testadas, para a remoção dos açúcares solúveis presentes em grandes quantidades na banana e posterior obtenção (isolamento) de um resíduo rico em PNAs presentes na banana madura (*Musa cavendishii* L, var. Nanicão) com o fim de obter um potencial ingrediente funcional. Além disso, os açúcares extraídos podem ser usados potencialmente para produção de etanol (HOLTMAN et al., 2015; MOHAN et al., 2017) ou como adoçantes naturais, dessa forma o aproveitamento da banana seria útil e abrangente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Extrair açúcares solúveis da banana madura (*Musa cavendishii* L, var. Nanicão) para isolar polissacarídeos não amiláceos (PNAs) para seu uso potencial como ingrediente funcional, via extração sólido-líquido com agitação mecânica e extração assistida por ultrassom, usando solventes alcoólicos (etanol absoluto e hidratado), em escala de laboratório visando ampliar o processo de extração para escala planta piloto, avaliando rendimento do extrato e refinado.

Para atingir o objetivo principal, as seguintes etapas foram realizadas:

- Testar metodologias de extração sólido-líquido (ESL) com agitação mecânica e assistida por ultrassom (EAU), utilizando como solventes etanol absoluto e hidratado
- Estudar a cinética do processo de extração para determinar as condições operacionais de tempo, temperatura, razão solvente/banana, agitação mecânica ou ultrassom relacionadas aos maiores rendimentos de extração.
- Propor as condições para um processo de extração em escala planta piloto para a extração de açúcares solúveis da banana madura.
- Caracterizar os extratos e refinados obtidos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A Banana

A banana é uma das frutas mais consumidas e comercializadas no mundo na forma *in natura*, sendo produzida na maioria dos países de clima tropical e datando suas origens do Continente Asiático. Pode constituir uma importante fonte alimentar por apresentar vitaminas A, B6 e C, minerais, baixa quantidade de lipídios e aporte energético para o corpo devido ao seu elevado teor de carboidratos. Pode ser consumida madura crua ou processada, dependendo da espécie e da cultura de consumo (BORGES; SOUZA, 2004; EMBRAPA, 2008).

3.1.1 Classificação Botânica

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta herbácea por apresentar um caule macio comparado com as árvores, apresenta folhas de grande tamanho, flores, frutos e sementes. Pertence ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe das Monocotiledôneas, ordem Scitamineae e família Musáceas. Apresenta dois gêneros, *Musa* (bananas comestíveis) e *Ensete* (bananas silvestres), que são formados, respectivamente, por (24-30) e (7-8) espécies. O gênero *Musa* apresenta maior importância, devido ao número de espécies, à ampla distribuição geográfica dos cultivares e serem espécies comestíveis (CASTRO; KLUGE, 1997; RIBEIRO, 2011).

O gênero *Musa* está constituído por quatro subgêneros *Australimusa*, *Calimusa*, *Rodachlamys* e *Eu-Musa*, classificadas segundo o número de cromossomos, designados como: diploide, triploide e tetraploide. Porém os cultivares são denominados de acordo com sua evolução. Das espécies selvagens diploides que evoluíram a partir de cruzamentos incluem-se a *Musa acuminata* (principalmente) e a *Musa balbisiana*, resultando em híbridos com formação de indivíduos triploides e tetratriploides. No caso do subgrupo *Musa cavendishii* L triploide (AAA), da *Musa acuminata* e de cultivares como a Nanica e Nanicão, e o subgrupo Prata (AAB) dos cultivares Prata, Terra e Maçã, são os cultivares mais comuns no Brasil e em outras partes do mundo, devido aos frutos apresentarem

maior tamanho, vigor e consistência mais agradável em comparação aos diploides (GONÇALVES, 2006; NELSON, 2006; SILVA, 2007).

Embora os cultivares Nanica e Nanicão pertençam ao mesmo subgrupo *cavendishii*, estas diferem entre si. A Nanicão possui um pseudocaule mais robusto, com altura de (3,0 a 3,5) m, frutos de média curvatura, folhas mais longas e estreitas, em relação a Nanica, que apresenta folhas menores, pseudocaule curto e frutos de grande curvatura. Assim, a variedade Nanicão representa um melhor interesse na produção.

3.1.2 Produção de Banana

A produção mundial de banana em 2012 foi de 101,9 milhões de toneladas, sendo os cinco principais países produtores a Índia com um montante de 24,9 milhões de toneladas, seguida pela China (10,6 milhões de toneladas), Filipinas (9,2 milhões de toneladas), Equador (7,0 milhões de toneladas) e Brasil (6,8 milhões de toneladas) (FAOSTAT, 2014).

Em 2013, a produção brasileira foi de 7,1 milhões de toneladas, representando um aumento anual de cerca de 4 %. No país, o cultivo da banana está concentrado na região Nordeste (38,09 %), seguida pela Sudeste (31,58 %), Sul (14,55 %), Norte (12,25 %) e Centro Oeste (3,51 %) (AGRIANUAL, 2012; IBGE, 2014) como mostrado na Tabela 3-1. A banana é cultivada por grandes, médios e pequenos produtores, sendo que 60 % da produção é proveniente da agricultura familiar (BORGES, 2004).

As variedades de banana mais comercializadas no Brasil são: Prata comum, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola que pertencem ao grupo AAB, estas variedades são escolhidas principalmente para o consumo interno e as variedades Nanica, Nanicão e Grande Naine do grupo (AAA) são principalmente destinadas para exportação devido à produtividade e importância econômica, especialmente a Nanicão, que possui melhores atributos em relação à forma, tamanho, sabor e aroma, características apreciadas em outros países (EMBRAPA, 2008; SOTO, 2011).

Tabela 3-1 - Produção brasileira de banana (AGRIANUAL, 2012; IBGE, 2014).

		Quantidade (t)			
Descrição	Ano	2010	2011	2012	2013
Brasil (t)		6.978.312	7.090.619	6.866.609	7.134.609
Área colhida (ha)		480.087	492.113	482.499	480.840
Região Geográfica		Quantidade (t)			
Nordeste		2.646.002	2.701.432	-	-
Sudeste		2.261.470	2.239.364	-	-
Sul		1.031.666	1.032.242	-	-
Norte		781.310	868.918	-	-
Centro Oeste		257.864	248.663	-	-
Principais Estados Produtores		Quantidade (t)			
São Paulo		1.271.500	1.225.193	-	-
Bahia		1.079.050	1.152.892	-	-
Santa Catarina		672.892	675.704	-	-
Minas Gerais		672.892	675.704	-	-
Pará		514.922	531.927	-	-

Para o total produzido no país, pode ser atingido até 40 % em perdas dos frutos, decorrentes do manuseio excessivo e condições inadequadas de armazenamento (EMBRAPA, 2008; ZHANG *et al.*, 2005).

Porém, pode-se ressaltar que esforços e trabalhos têm sido feitos no cultivo da bananeira em diferentes regiões do Brasil, desde a plantação até a colheita para elevar a produtividade nas plantações das diferentes variedades e melhorar os procedimentos de pós-colheita para preservação dos frutos até sua chegada ao consumidor (LICHTENBERG; LICHTENBERG, 2011).

O Brasil encontra-se dentre os países mais promissores do comércio mundial de frutas tropicais, portanto, deve fornecer bananas de alta qualidade de acordo com as exigências do consumidor, contudo isso requer maiores investimentos na cadeia produtiva da bananicultura (ALENCAR *et al.*, 2013), para diminuir as perdas pós-colheita até o descarte das bananas maduras sem valor comercial.

3.1.3 Amadurecimento dos Frutos

A banana é uma fruta que tem um processo fisiológico do padrão climatérico, isto é, seu amadurecimento pode acontecer após a colheita, assim, os frutos podem ser colhidos ainda verdes e o manuseio pós-colheita é fundamental para favorecer a longevidade dos frutos durante a comercialização (EMBRAPA, 2008; MEDINA, *et al.*, 1985). No processo de amadurecimento observa-se um aumento da taxa respiratória e produção de etileno, a respiração é o processo fisiológico que ocorre naturalmente no fruto e fornece energia para as reações metabólicas que originam as mudanças típicas num fruto maduro, como maciez, aumento de açúcares, entre outros. No entanto, estas mudanças tornam o fruto altamente perecível, uma vez que este processo de amadurecimento é rápido (MEDINA, *et al.*, 1985).

O amadurecimento de um vegetal caracteriza-se por quatro fases principais: crescimento, maturação, amadurecimento e senescência. Durante o crescimento ocorre a divisão e alongamento celular, seguido por discretas mudanças físico-químicas no fruto observadas na fase de maturação (ZAKHAROV, 2013). Porém, é no amadurecimento que ocorrem as alterações fisiológicas e sensoriais mais notáveis na banana, como a mudança na pigmentação da casca (de verde para amarela), amaciamento da polpa (textura), redução do teor de amido, compostos fenólicos e açúcares como glicose, frutose e sacarose, (EMBRAPA, 2008; MEDINA, *et al.*, 1985). Essas mudanças tornam o fruto apto e mais atrativo ao consumo (GIOVANNONI, 2001). Por último, tem-se a senescência que começa desde a maturação até a morte do fruto tornando este sem valor comercial (EMBRAPA, 2008; MEDINA, *et al.*, 1985).

No entanto, é no amadurecimento do fruto, que este tem maior valor comercial, dessa forma, é importante entender as mudanças bioquímicas que ocorrem. A mudança mais acentuada durante o amadurecimento da banana corresponde à hidrólise enzimática do amido e o acúmulo de açúcares. Dos 70 g/100 g b.s. de amido do fruto verde permanecem entre (1 – 2) g/100 g b.s., no fruto completamente maduro, no entanto, esses valores mudam conforme o cultivar (MOTA; LAJOLO; CORDENUNSI, 1997).

As mudanças visuais referente à coloração da casca nos diferentes estados de maturação são mostrados na Figura 3.1, em que: (1)- Fruta totalmente verde, (2)- Fruta verde com traços amarelos, (3)- Fruta mais verde que amarela, (4)- Fruta mais amarela que verde, (5)- Fruta amarela com um pouco de verde, (6)- Fruta totalmente amarela, (7)- Fruta amarela com poucas manchas negras. Existe, ainda, um estado adicional descrito por LII *et al.* (1982) e Ditchfield e Tadini (2002), o qual não foi descrito pela Embrapa (2008) na Figura 3.1, porém segundo esses autores, representa um estágio de maturação importante devido que este mostra o início da senescência do fruto, denominado estágio de maturação (8), no qual a fruta é amarela com muitas manchas negras e sua textura é menos firme quando comparada com a dos estágios anteriores, o que indica um estágio avançado de maturação.

Figura 3.1 - Evolução dos diferentes estados de maturação da banana evidenciando a redução do teor de amido e consequente acúmulo de açúcares

Fonte: (EMBRAPA, 2008)

Ditchfield, e Tadini (2002) e Tribess *et al.* (2009), avaliaram as características físico-químicas de bananas da variedade Nanicão nos oito estágios de maturação, concluindo que, o melhor método para determinação do estágio de maturação da banana é a firmeza, expressa como a máxima força em Newtons (N). Os autores concluíram que a firmeza é fortemente influenciada pelos estágios de maturação da fruta apresentando um comportamento inversamente proporcional, ou seja, diminui

conforme a banana amadurece como mostrado na Figura 3.2, observação também comprovada por Shiga et al. (2011).

Figura 3.2 – Variação dos sólidos solúveis (°Brix) e firmeza (N) com o estágio de maturação

Fonte: Adaptado de Ditchfield, e Tadini (2002)

Tribess et al. (2009) destacam que, definir a maturação dos frutos pela cor da casca pode decorrer em diagnósticos falsos, e que pequenas alterações do tom verde entre claro e escuro acarretam consideráveis mudanças na composição da banana, parâmetros que devem ser conhecidos na caracterização do fruto.

3.1.4 Composição química

A boa aceitação geral de uma fruta pelos consumidores se deve à sua composição química, ao conteúdo de vitaminas, além do seu aroma e sabor. Nesse sentido, as bananas (*Musa* spp.) atendem muito bem às exigências, além de serem consumidas de maneira simples e sadia, devido à proteção natural que a polpa possui, até o momento do consumo, por um grosso pericarpo que lhes dá assepsia perfeita e é de fácil remoção (MEDINA et al., 2004). De acordo com os mesmos autores, uma banana pesa de (100 até 200) g, conforme a variedade, e contém de (60 – 65) g de polpa comestível em 100 g banana, carboidratos ao redor de 20 g/100 g do fruto que são disponíveis para a digestão (digestão rápida).

Na Tabela 3-2 a composição centesimal, minerais e vitaminas da banana Nanicao *Musa spp. in natura* é apresentada. Em relação ao conteúdo calórico, a banana é um alimento altamente energético, 339 kJ/100 g devido aos carboidratos presentes (TBCA-USP, 2017).

Tabela 3-2 - Composição centesimal, minerais, vitaminas da banana madura *in natura*, var. Nanicao, (*Musa cavendishii* L)

Composição Centesimal	Nanicao
Umidade (g)	75,9
Energia (kJ)	339
Energia (kcal)	81
Proteínas (g)	1,33
Lipídios Totais (g)	0,21
Carboidratos Totais (g)	21,9
Carboidratos “Disponíveis” (g)	20,2
Cinzas (g)	0,78
Fibra Alimentar Total (g)	1,71
Cálcio (mg)	3,15
Magnésio (mg)	25,6
Manganês (mg)	0,13
Fósforo (mg)	24,6
Ferro (mg)	0,32
Potássio (mg)	347
Cobre (mg)	0,10
Zinco (mg)	0,17
Selênio (mcg)	0,14
Vitamina A (RE) (mcg)	13,7
Vitamina A (RAE) (mcg)	6,84
Vitamina B6 (mg)	0,13
Vitamina C (mg)	5,39

Fonte: TBCA-USP, (2017)

De acordo com os valores apresentados na TBCA-USP (2017), o teor de umidade é considerado alto representando 76 g/100 g do fruto inteiro. Dentre os minerais presentes na banana, destaca-se o potássio com valores de (350 – 400)

mg/100 g de banana (MEDINA et al., 2004) considerados altos superando outras frutas como morango (51,1 mg/100 g fruta), pêssego (47,4 mg/100 g fruta), abacaxi (47,2 mg/100 g fruta) e figo (39,4 g/100 g fruta), entre outras (TBCA-USP, 2017). Porém também tem um aporte em fósforo (25 – 30) mg/100 g, cálcio (8 – 10) mg/100 g, sódio (40 – 50) mg/100 g; magnésio (25 – 35) mg/100 g; e outros em menor quantidade como o ferro, manganês, iodo e cobre (MEDINA et al., 2004). Além de conter vitaminas como A, B1, B2, C, D e E. Quanto às proteínas e lipídios seus valores são baixos (1,33 g proteína/ 100 g fruta) e (0,21 g lipídios/ g fruta) em relação a frutas como o coco (3,7 g proteína/ 100 g fruta) e 42 (g lipídios/100 g fruta), tamarindo (3,21 g proteína/100 g fruta) e abacate (6,21 g lipídios/100 g fruta).

Os carboidratos ocupam o segundo lugar na composição química da banana com um valor de 21,9 g/100 g, superados apenas pelo conteúdo de água. Estes carboidratos totais (disponíveis para digestão e fibras) presentes na banana apresentam estruturas, tamanhos e configurações moleculares diferentes (FENEMMA, 2010), que apresentam diferentes efeitos fisiológicos no corpo humano (SARDÁ, GIUNTINI, 2013).

3.2 Carboidratos

Os carboidratos são moléculas formadas por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, são os compostos orgânicos mais abundantes e diversificados na natureza com múltiplas propriedades físicas e químicas, as quais são fundamentais para o desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentícia, nutracêutica, farmacêutica, têxtil e de embalagens (ENGLYST et al., 1999; EMERY, SANDERS, 2003; SARDÁ, GIUNTINI, 2013; TOMASIK, 2003).

São produzidos num dos eventos mais importantes nas plantas, a fotossíntese onde energia solar é convertida em energia química combinando dióxido de carbono e água para produzir assim carboidratos e moléculas de oxigênio. São amplamente distribuídos tanto nos tecidos animais, assim como de plantas (armazenamento e intermediários de energia, estrutura de ácidos nucleicos, estrutura de paredes celulares, interações nas células ligados a proteínas e lipídios), e representam um componente essencial na dieta humana por exercerem um papel importante no fornecimento de energia para o corpo humano, entre (50 e 60) % das calorias

consumidas (ENGLYST et al., 1999; EMERY, SANDERS, 2003; SARDÁ, GIUNTINI, 2013; TOMASIK, 2003).

Os carboidratos possuem uma composição ou fórmula geral empírica de $C_x(H_2O)_y$ onde “x” e “y” variam de acordo com a estrutura de cada um deles (uns mais complexos do que outros), e são chamados de hidratos de carbono. Existem várias formas diferentes de classificação, assim temos que: quimicamente, são classificados como poliidroxi aldeídos ou cetonas, o que indica que, na sua estrutura contém grupos hidroxila (OH poliidroxi) mas também possuem um grupo funcional carbonila ($-C=O$) como o aldeído ($-CHO$) localizado sempre na extremidade da cadeia (carbono 1) que dá o nome à estrutura de aldose, e o outro grupo carbonila é a cetona que está localizado em outra posição geralmente no carbono 2 e se denominam cetoses. A classificação primária é de acordo com sua massa molar e seu grau de polimerização (GP), e são identificados pela natureza de seus componentes como mostrado na Tabela 3.3 (IZYDORCZYK, 2005; LIVESEY, 2003), deste modo estão divididos em 4 classes principais: monossacarídeos e dissacarídeos (baixa massa molar), oligossacarídeos (massa molar intermediária) e polissacarídeos (alta massa molar) (FENEMMA, 2010).

Tabela 3-3 - Classificação dos carboidratos, seus componentes e exemplos.

Classe	GP	Subclasse	Exemplos
Monossacarídeos	1	Açúcares	Glicose, Frutose, Galactose, Manose, Arabinose, Ribose, Xilose
		Monossacarídeos hidrogenados	Eritritol Xilitol Manitol Sorbitol
			Sacarose
Dissacarídeos	2	Açúcares	Maltose Lactose Trealose
		Dissacarídeos hidrogenados	Maltitol Isomalte Latitol
Oligossacarídeos	3-9	Malto-oligossacarídeos	Maltodextrinas
			Rafinose
		Outros oligossacarídeos	Estaquiase Fruto-oligossacarídeos Galacto-oligossacarídeos
		Oligossacarídeos hidrogenados	Amido hidrogenado hidrolisado
Polissacarídeos	>9	Amido	Amilose Amilopectina Amidos modificados
		Polissacarídeos não-amiláceos (PNAs)	Celulose Hemicelulose Pectina
			Poliglicitol
		Polissacarídeos hidrogenados	Polidextrose hidrogenada

GP: grau de polimerização

Fonte: adaptado de LIVESEY (2003)

O termo sacarídeo é derivado do grego *sakcharon* que significa açúcar, por isso, comumente são assim denominados, embora nem todos apresentem sabor adocicado (KATOCH, 2011). Também podem ser identificados pela função fisiológica (disponíveis e não disponíveis), isto é, devido à disponibilidade para serem digeridos pelas enzimas digestivas e absorvidos no trato gastrointestinal: carboidratos disponíveis que sofrem degradação pelas enzimas humanas (monossacarídeos, dissacarídeos, α -ligação de oligossacarídeos e amidos de digestão rápida); e carboidratos não disponíveis que não são degradados pelas enzimas humanas, porém podem ser fermentados pela microbiota intestinal

(polissacarídeos não amido/fibra alimentar, β -ligação de oligossacarídeos, amido resistente, celulose, hemicelulose, gomas, pectinas e outros). A maior distinção entre eles é refletida na magnitude e na duração da resposta do índice glicêmico no sangue (medida padrão do aumento de glicose no sangue) (CUMMINGS et al., 1997b; CUMMINGS; STEPHEN, 2007; ENGLYST et al., 1999; MENEZES et al., 2009).

3.2.1 Monossacarídeos

Como seu nome indica são a forma mais simples dos carboidratos, portanto, não podem ser hidrolisados em compostos menores. Quimicamente são classificados em dois grandes grupos poliidroxi-aldeídos ou poliidroxi-cetonas, ou conhecidos como aldoses ou cetoses respectivamente, podem ter de 3 a 8 átomos de carbono e devido a isso são considerados como trioses (C_3), tetroses (C_4), pentoses (C_5), hexoses (C_6), heptoses (C_7) e octoses (C_8), e adicionados do prefixo -aldo ou -ceto. Os principais monossacarídeos de interesse biológico são as triosas, seguidas das pentosas e hexosas. Nas triosas tem-se o D-gliceraldeído e a dihidroxiacetona que participam no metabolismo energético das células; nas pentosas está a ribose que forma parte das moléculas como o ATP, NAD⁺ e o ácido ribonucleico, arabinose e xilose, e por último nas hexosas tem-se a glicose e a frutose (açúcares) (IZYDORCZYK, 2005).

Os monossacarídeos possuem a mesma massa molar, porém diferem em estruturas moleculares, e propriedades físico-químicas, assim são denominados isômeros entre eles, e a posição do seu grupo –OH à direita ou esquerda define a série e o nome do monossacarídeo D ou L, respectivamente. Devido à alta polaridade, são sólidos cristalinos em temperatura ambiente, e todos são altamente solúveis em água, como também em solventes polares (etanol, ácido acético, entre outros), porém insolúveis em solventes não polares (hexano, benzeno, clorofórmio) (FENEMMA, 2010).

A glicose e frutose são os dois monossacarídeos mais abundantes e conhecidos na natureza, presentes em frutas como maçã, banana, laranja, uva, entre outras, sendo, a glicose a principal forma de suprimento energético nos seres

humanos como carboidrato de rápida absorção comparado com a frutose que tem um potencial adoçante maior do que a glicose, porém é de lenta absorção no organismo. Monossacarídeos hidrogenados são também conhecidos como álcoois polihídricos, açúcares de álcoois, ou poliois, obtidos pela adição de hidrogênio (hidrogenação catalítica) à molécula onde ocorre a conversão do grupo carbonila (aldeído e cetona) dos açúcares em álcool. São considerados como açúcares redutores por possuir um grupo carbonila e cetônico livres, que na presença de soluções alcalinas podem se oxidar (FENEMMA, 2010).

3.2.2 Dissacarídeos e Oligossacarídeos

Oligossacarídeos são denominados açúcares, constituídos pela união de dois a nove monossacarídeos, geralmente hexoses. Estes conservam as mesmas propriedades físicas dos monossacarídeos como sabor adocicado, solubilidade em água e formação de cristais. Dos oligossacarídeos mais importantes se encontram os dissacarídeos, compostos por duas moléculas de monossacarídeos que se encontram unidos pela reação de um carbono anomérico com um grupo hidroxila do outro açúcar, assim, esta ligação é denominada como ligação glicosídica, que ocorre pela condensação entre o grupo hidroxila de um monossacarídeo com o carbono anomérico 1 de outro monossacarídeo, havendo liberação de uma molécula de água; pode-se utilizar o termo de desidratação intermolecular para esse tipo de reação, esta ligação é hidrolisada facilmente pelo aquecimento com ácido fraco, assim podem ser classificados como redutores e não redutores (FENEMMA, 2010).

Os dissacarídeos mais conhecidos são a sacarose (não redutor) que é composta pela união da glicose com frutose, e é facilmente encontrada no açúcar da cana e beterraba; outro dissacarídeo conhecido é a lactose, união da glicose-galactose e a sua fonte é o leite de vaca. Os dissacarídeos e oligossacarídeos são solúveis em água, em solventes polares e possuem sabor adocicado (IZYDORCZYK, 2005; JOUPPILA, 2017; WROLSTAD, 2013).

3.2.3 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são macromoléculas que se formam a partir da união de monossacarídeos, assim seu grau de polimerização ($GP > 9$) é determinado pelo número destas unidades na cadeia. São chamados também de glicanos e podem conter desde 9 até milhares de monossacarídeos unidos através de ligações glicosídicas constituindo cadeias longas lineares ou ramificadas. São polímeros naturais de alta massa molar (até 420 milhões de daltons) e representam a forma predominante dos carboidratos na natureza. A diferenciação entre eles é dada pela unidade monomérica, tipos de ligação (α ou β glicosídica), comprimento e ramificação das cadeias. Podem ser classificados em homopolissacarídeos (polissacarídeos com apenas um tipo de monossacarídeo) e heteropolissacarídeos (presentes dois ou mais tipos de monossacarídeos) (FENEMMA, 2010; KATOCH, 2011).

Nutricionalmente, podem ser classificados como digeríveis e não digeríveis isso é importante dado que uma classificação estritamente química não mostra a importância que representam para a saúde. Nos digeríveis tem-se o amido, e os não digeríveis, também denominados de fibras alimentares, compreendem os polissacarídeos não amiláceos como a celuloses, hemiceluloses e substâncias pécticas e as gomas (ENGLYST; HUDSON, 1996).

Portanto, essa classificação é relacionada com as principais funções dos polissacarídeos que são: reserva energética e estrutural, assim o amido e o glicogênio representam a principal fonte de energia do corpo humano, de animais e plantas. O amido é encontrado em tubérculos, vegetais e cereais, enquanto que o glicogênio é um polissacarídeo de reserva, sendo armazenado no fígado e nos músculos. Nos polissacarídeos estruturais temos a celulose que é a principal constituinte das paredes das plantas e se encontra em forma de fibras proporcionando tanto resistência quanto flexibilidade às paredes vegetais. A hemicelulose também participa da constituição das paredes vegetais, porém é uma molécula diferente de menor tamanho comparado com o da celulose (ENGLYST; HUDSON, 1996; IZYDORCZYK, 2005; JOUPPILA, 2017).

3.2.4 Carboidratos presentes na banana madura variedade Nanicão (*Musa cavendishii* L)

Na Tabela 3-4, são apresentados os carboidratos por fração presentes na banana (*Musa cavendishii* L var. Nanicão). Como descrito no item 3.1.4 os componentes da banana sofrem uma mudança devido a seu amadurecimento assim o amido é o maior carboidrato da banana totalmente verde, porém quando esta se encontra totalmente madura seus valores são baixos variando de (0,90 e 0,97) g/100 g banana segundo a TBCA-USP (2017) e Shiga et al. (2011), respectivamente.

Cordenunsi, Shiga e Lajolo (2008) reportaram valores maiores 3,47 g/100 g para a mesma variedade, essas diferenças podem ser atribuídas ao grau de amadurecimento heterogêneo das bananas estudadas pelos diferentes autores. Porém os teores de açúcares disponíveis totais foram similares para os três autores oscilando de (19,52 até 22) g/100 g banana.

Tabela 3-4 - Carboidratos por fração presentes na banana madura (*Musa cavendishii* L var. Nanicão)

Carboidratos (por fração)	Valor por 100 g		
Amido disponível (g)	0,90 ^a	3,47 ± 0,11 ^b	0,97 ^c
Glicose (g)	2,72 ^a	2,34 ± 0,05 ^b	-
Frutose (g)	2,73 ^a	1,98 ± 0,22 ^b	-
Sacarose (g)	15,21 ^a	15,2 ± 1,10 ^b	-
Açúcares disponíveis Totais (g)	20,60 ^a	19,52 ^b	22 ^c

^a TBCA-USP, 2017

^b Cordenunsi; Shiga; Lajolo, (2008)

^c Shiga et al. (2010)

Além da quantidade de açúcares (mono e dissacarídeos) na banana madura Cordenunsi, Shiga e Lajolo (2008) encontraram que a banana é diferente das outras frutas por possuir na composição da parede celular arabinoxilanas e galacturonas, polissacarídeos não amiláceos (fibras) encontrados comumente em paredes celulares de cereais como aveia, trigo, cevada, entre outros. Essa similaridade pode ser explicada devido que tanto a banana como os cereais são plantas da classe monocotiledôneas na qual a banana pertence à ordem das *Zingiberales* e os cereais

à ordem das *Poales* porém ambas são comelinídea (tipo II) (CARPITA; GIBEAUT, 1993; CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008; SANSONE et al., 2016; SHIGA et al., 2011).

3.3 Polissacarídeos não amiláceos (PNAs)

PNAs ou também chamados de polímeros não amido, são os principais componentes da parede celular de várias plantas, frutas, vegetais, grãos e cereais (CAPRITA; CAPRITA; CRETESCU, 2013; CUMMINGS et al., 1997a). Segundo Bailey (1973) os PNAs estão segmentados em três grandes grupos: celulose, polímeros não celulósicos (hemicelulose) e polissacarídeos pécticos e diferem entre eles pelo tipo de sequencia e número de monômeros presentes. Pelo seu grau de polimerização tanto os PNAs como o amido pertencem ao grupo dos polissacarídeos (Tabela 3-5), porém diferem em relação à sua composição química, e sua disponibilidade para a digestão. Quimicamente PNAs são constituídos por diferentes tipos de monômeros, os quais estão ligados predominantemente por ligações β -glicosídicas da parede celular da planta, enquanto que o amido é constituído inteiramente de monômeros de glicose, unidos por ligações α -glicosídicas (CHOCT, 1997; CUMMINGS; STEPHEN, 2007; KUMAR et al., 2012).

Devido à capacidade para serem digeridos, os PNAs são classificados como solúveis e insolúveis em água (fibras solúveis e não solúveis). A solubilidade é determinada pela estrutura molecular de cada macromolécula e sua habilidade para formar dispersões. PNAs solúveis estão formados por pectinas, gomas, β -glicanos, arabinoxilanos, D-mananos, D-xilanos, xiloglicanos, raminogalacturanos e galactomananos, que quando misturados com água podem aumentar a viscosidade. PNAs insolúveis são constituídos principalmente por celulose, lignina e algumas hemiceluloses (CAPRITA; CAPRITA; JULEAN, 2010; IZYDORCZYK, 2005; KUMAR et al., 2012; SANSONE et al., 2016).

Tabela 3-5 – Classificação química de polissacarídeos não amiláceos PNAs, suas cadeias principais, laterais, localização dentro da planta e solubilidade em solventes.

Polissacarídeos não amiláceos (Fibras)	Cadeia principal	Cadeia lateral	Caraterísticas
Celulose	Glicose	Nenhuma	Componente principal da estrutura da parede celular das plantas. Solúvel em soluções ácidas e insolúvel em soluções alcalinas.
Hemicelulose	Xilose Manose Galactose Glicose	Arabinose Galactose Ác. galacturônico	Polissacarídeos da parede celular com enlaces 1-4. Solúvel em soluções alcalinas e água.
Pectinas	Ácido galacturônico	Ramnose Arabinose Xilose Fucose	Componentes da parede celular primária e lamela intermediária. Solúvel em água e formação de gel.
Mucilagens	Galactose-Manose Arabinose-Xilose Ác G -Ramnose	Galactose	Sintetizadas por células secretoras das plantas, para prevenir a dessecação de endosperma de sementes. Seu uso é industrial, agente hidrofílico e estabilizante (ex: guar.)
Gomas	Galactose Ác G-Manose Ác G-Ramnose	Xilose Fucose Galactose	Secretadas no corte da planta. Uso alimentar e farmacêutico (ex: ágar, carragena)
Polissacarídeos de algas	Manose Xilose Ac Galacturônico Glicose	Galactose	Derivados de algas marinhas. Uso farmacêutico e alimentício. Solúveis em água, soluções ácidas e alcoólicas. (ex: goma carragena).
Lignina	Álcoois aromáticos: Álcool Sinapil Álcool Coniferil Álcool Coumaril	Estrutura 3D	Componente não carboidrato da parede celular. Insolúvel em 72 % dos ácidos sulfúricos. Resistentes à degradação microbiana.

Adaptado de: Caprita, Caprita e Julean (2010).

3.3.1.1 Polissacarídeos não amido (PNAs) com potencial imunomodulador

PNAs com potencial imunomodulador são considerados como polissacarídeos modificadores de resposta biológica (Biological Response Modifiers –BRMs) exógenos, ou seja agem nas células apresentadoras de antígenos, como

monócitos e macrófagos, se ligando a diversos receptores de reconhecimento os quais provocam respostas imunológicas. Porém ainda são estudados os mecanismos envolvidos na ação dos BRMs, devido que cada polissacarídeo BRMs varia dependendo da fonte (planta) extraída (IWASAWA; YAMAZAKI, 2009; SANSONE, 2017). Estudos tem demonstrado que determinados tipos de PNAs presentes em diferentes alimentos e uma ampla variedade de plantas possuem atividade imunomodulatória e antitumoral (AKRAMIENE et al., 2007), sendo os principais:

- *β-glicanos*

Os β-glicanos são polissacarídeos heterogêneos com ligações que variam desde β(1-3), β(1-4) e β(1-6), estão presentes em trigo, aveia, cevada, são os principais componentes da parede celular de fungos, e de cogumelos (AKRAMIENE et al., 2007; MENG; LIANG; LUO, 2016; RAMBERG; NELSON; SINNOTT, 2010). Estudos *in vitro* demonstraram que β-glicanos de alta massa molar (800 kDa) mostraram atividades imunomoduladoras e antitumorais em macrófagos, ativando leucócitos e estimulando suas atividades fagocíticas, citotóxicas e antimicrobianas, quando comparados com β-glicanos de baixa massa molar extraídos de cogumelos da espécie *Grifola frondosa* (ADACHI et al., 1990; SU; LAI; NG, 2017).

- *Arabinogalactanos*

Os arabinogalactanos são polissacarídeos altamente ramificados com peso molecular que oscila entre (16 e 120) kDa. São altamente solúveis em água e quimicamente são compostos por cadeias de açúcar, na sua maioria D-galactose e L-arabinose. São amplamente encontrados em diferentes plantas, contudo a maior fonte é das grandes arvores de coníferas do gênero *Larix* (*Larix occidentalis*) com concentrações de arabinogalactanos do 98 %, e tem sido objeto de estudo devido a sua potente atividade biológica e suas propriedades imunológicas (KELLY, 1999; SAEED et al., 2011).

Estudos revelaram que arabinogalactanos extraídos dos seguintes alimentos mostraram atividade imunomoduladora: frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) (HOLDERNESS et al., 2011a), raízes de kiwi da espécie *Actinidia eriantha* (XU et al.,

2009), frutos de babaçu (*Orbignya phalerata*) (PEREIRA et al., 2000), planta medicinal *Potentilla anserina* (CHEN et al., 2010), chuchu (*Sechium edule*) (CASTRO-ALVES; NASCIMENTO, 2016a; SHIGA et al., 2015), batatas (var. Spunta Tunisiana) (JEDDOU et al., 2016) e bananas dos cultivares Nanicão e Thap Maeo (CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008; SANSONE et al., 2016; SHIGA et al., 2017b).

- *Arabinoxilanos*

Encontrados geralmente em paredes celulares de monocotiledôneas, particularmente de gramíneas, compostos por ligações (β 1-4) de D-xilose como unidade central que é substituída por L-arabinose nas posições 3 ou até na 2 e 3, solúveis em água. Arabinoxilanos de grãos de trigo constituem 70 % da parede celular, sendo uma rica fonte de fibra alimentar (LOVEGROVE et al., 2015), também são encontrados em cereais como aveia, sorgo, arroz, milho e centeio (ZHANG et al., 2015) .

De acordo com a literatura o isolamento de PNAs de diferentes tipos de plantas na sua maioria originárias da Ásia, frutos, vegetais, cogumelos, algas marinhas e grãos tem sido objeto de estudo por vários autores, com o intuito de serem usados como ingredientes funcionais na dieta humana, com destaque especial para os PNAs que tem potencial imunomodulador (CASTRO-ALVES; NASCIMENTO, 2016b; CHEN et al., 2012; CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008; FAN; MAZZA; LIAO, 2010; HOLDERNESS et al., 2011a; SANSONE et al., 2016; SHIGA et al., 2015).

Desta forma, PNAs solúveis e não solúveis presentes na banana madura das variedades Nanicão e Mysore são uma potencial fonte de extração levando em conta que o estágio de maturação não influencia a composição dos mesmos, assim bananas muito maduras e sem valor comercial poderiam ser usadas como fonte de polissacarídeos.

3.3.2 Polissacarídeos não amiláceos presentes na banana

A banana, diferentemente da grande maioria das frutas, que pertencem à família das plantas dicotiledôneas, contém em sua parede celular galacturonas, arabinoxilanos, ramnogalacturanos, xiloglicanos, glicomananos, celulose e hemicelulose (β -glicanos, xilanos e mananos). A composição monossacarídica da parede celular da banana indica que estes polissacarídeos são semelhantes aos encontrados em cereais como aveia, os quais são considerados fibra alimentar (CORDENUNSI, SHIGA, LAJOLO, 2008; SHIGA et al., 2011).

Estudo realizado por Sansone et al. (2016) demonstrou que PNAs solúveis em água isolados de dois cultivares de banana (Nanicão e Thap Maeo) exibiram propriedades imunomoduladoras em macrófagos em estudos *in vitro*, embora suas quantidades sejam diferentes em cada cultivar ($63,99 \pm 4,78$) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ e ($37,6 \pm 5,0$) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Além da presença de arabinanos, galactanos e arabinogalactanos, conteúdo similar encontrado por Cordenunsi, Shiga e Lajolo (2008).

Shiga et al. (2017b) encontraram que PNAs extraídos de Thap Maeo e Nanicão possuem diferenças entre os tipos de PNAs solúveis e não solúveis, isto é, os tipos de ligações glicosídicas que existem em cada cultivar. A variedade Thap Maeo apresenta quantidades maiores de manose e arabinogalactanos enquanto que a Nanicão possui mais galactanos e arabinogalactanos. Porém, os dois cultivares apresentam potencial atividade imunomoduladora. Dessa forma, os autores estabeleceram uma comparação mostrada na Figura 3.3, das quantidades, tipos e seus grupos de PNAs que estão presentes nos dois cultivares, inferindo que a banana é uma fonte rica de PNAs com compostos potenciais de atividade imunomoduladora.

Figura 3.3 - Composição de polissacarídeos solúveis e insolúveis em água da parede celular de bananas variedade Thap Maeo (triploide AAB) e Nanicão (triploide AAA)

POLISSACARÍDEOS SOLÚVEIS EM ÁGUA										
THAP MAEO						NANICÃO				
HEMICELULOSE		PECTINA NEUTRAL		PECTINA ÁCIDA		HEMICELULOSE		PECTINA NEUTRAL		PECTINA ÁCIDA
HOMOPOLÍMEROS	Manose		Arabinose		Homogalacturano	Manose		Arabinose		Homogalacturano
	Xilose		Galactanos			Xilose		Galactanos		
	B-glicano					B-glicano				
HETEROPOLÍMEROS	Galacto (gluco) mannan	Glucomanan		arabinogalactana	Ramnogalacturano	Glucomanan		Arabinogalactana	Ramnogalacturano	
	Glucurano (arabino) xilano	Arabinoxilano				Arabinoxilano				
	Xiloglicano				Xilogalacturano		Galacto (gluco) mannan		Xilogalacturano	
		Glucurano (arabino) xilano								
						Xiloglicano				

POLISSACARÍDEOS INSOLÚVEIS EM ÁGUA										
HOMOPOLÍMEROS	Manose		Arabinose		Homogalacturano	Manose		Arabinose		Homogalacturano
	Xilose		Galactanos			xilose		Galactanos		
	B-glicano					B-glicano				
HETEROPOLÍMEROS	Galacto (gluco) mannan	Glucomanan		arabinogalactana	Ramnogalacturano	Glucomanan		Arabinogalactana	Ramnogalacturano	
	Glucurano (arabino) xilano	Arabinoxilano				Arabinoxilano				
	Xiloglicano				Xilogalacturano		Galacto (gluco) mannan		Xilogalacturano	
		Glucurano (arabino) xilano								
						Xiloglicano				

Alta quantidade

Baixa quantidade

Fonte: Shiga et al. (2017)

Os polissacarídeos não amiláceos presentes na banana madura podem ser considerados como compostos bioativos que podem ser extraídos ou purificados das bananas ainda em estágios avançados de maturação (ANDERSON et al., 2009; CUMMINGS et al., 1997b; SCOTT; DUNCAN; FLINT, 2008; SLAVIN; SLAVIN; GREEN, 2007).

3.4 Extração sólido-líquido

O processo de extração sólido-líquido apresenta-se importante para a indústria principalmente por ser uma operação de separação e sua ampla faixa de aplicação como: extração de açúcar, óleos vegetais, extratos de frutas, plantas, bebidas alcólicas, compostos nutracêuticos e funcionais, entre outros (AGUILERA, 2003; MAFART; BÉLIARD, 1992; PEREIRA et al., 2016).

O termo “extração” é derivado do latim *extrahere* (puxar fora de). Desta forma, através deste processo, tem-se uma separação seletiva na qual se obtém duas fases que podem ser denominadas de produto e subproduto (BERK, 2009; MAFART; BÉLIARD, 1992). O objetivo da operação unitária de extração sólido-líquido é separar um soluto de uma matriz. Do ponto de vista da engenharia, o fenômeno que ocorre durante a extração sólido-líquido é um processo de transferência de massa de um ou mais componentes que pertencem a uma matriz sólida para um solvente no estado líquido (PEREIRA et al., 2016).

A extração sólido-líquido (ESL) pode ser definida como um processo que se baseia na dissolução preferencial de um ou mais constituintes de uma matriz sólida pelo contato com um solvente líquido (BERK, 2009). Muitas substâncias biológicas, assim como compostos inorgânicos e orgânicos encontram-se como uma mistura de diferentes componentes num sólido. Para separar o soluto desejado ou eliminá-lo da fase sólida, este sólido é colocado em contato com uma fase líquida, e o soluto se dissolve na fase líquida o que permite a separação (Figura 3.4) (GEANKOPLIS, 2003).

Figura 3.4 -Esquema das principais fases da extração com solvente de partículas de alimentos sólidos. Transferência de massa do soluto através dos poros capilares pela entrada do líquido.

Fonte: Pereira et al. (2016)

3.4.1 Mecanismos de extração

O mecanismo envolvido na ESL ocorre em diferentes etapas, representadas na Figura 3.4 e detalhadas a seguir (AGUILERA, 2003; PEREIRA et al., 2016):

1. Entrada do solvente (parte líquida) que permanece em contato com a matriz sólida. A adsorção do solvente é provocada pelas forças osmótica, de capilaridade e de solvatação dos íons das células.
2. O solvente penetra na matriz sólida pelo mecanismo de difusão molecular.
3. Ocorre a solubilização e/ou distribuição de componentes solúveis no solvente.
4. Transporte do soluto para o exterior da matriz sólida por difusão molecular.
5. Migração do soluto extraído da superfície externa do sólido para o seio do líquido por convecção natural ou forçada.
6. Equilíbrio, quando o material (soluto) é completamente solubilizado, e seu limite relacionado à concentração de equilíbrio das duas fases (sólido-líquido). Em algumas aplicações este equilíbrio pode ser alcançado, como por exemplo, na lavagem de precipitados. Porém, existem situações em que a total solubilização dos solutos não ocorre, sendo influenciada por diferentes fatores que serão descritos no próximo item.

3.4.1.1 Fatores que influenciam a transferência de massa

- *Área de contato e tamanho de partícula:*

A taxa de transferência de massa da superfície do sólido aumenta se a área superficial do sólido é maior, portanto, se o tamanho de partículas é reduzido então haverá uma maior área superficial e, conseqüentemente, uma maior taxa de extração. Porém, partículas muito pequenas podem causar compactação e impedir o fluxo do solvente através do leito sólido (PEREIRA et al., 2016).

- *Umidade do material:*

A quantidade de água presente no material é muito importante pois pode facilitar a saída do soluto atuando como meio de transporte. Entretanto, pode competir com o solvente na dissolução do soluto e afetar, assim, o processo de extração. Por isso, em alguns processos realiza-se uma secagem prévia do

material antes da extração (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015; PEREIRA et al., 2016; TAKEUCHI et al., 2009).

- *Coeficiente de difusão:*

Nos materiais biológicos, a difusividade é definida como difusividade efetiva (D_{ef}). Por serem complexos na sua estrutura celular a difusividade depende da localização do soluto dentro da matriz sólida (PEREIRA et al., 2016).

- *Gradiente de concentração:*

À medida que as fases sólida e líquida se aproximam do equilíbrio, o gradiente de concentração diminui e, por consequência, a taxa de extração também. Assim, o solvente saturado com soluto pode ser substituído por solvente que ainda não foi utilizado no processo de separação para extrair o soluto remanescente. Pode-se proceder à renovação do solvente algumas vezes durante o processo de extração ou inserir inicialmente uma quantidade considerável de solvente para manter a solução solvente/soluto suficientemente diluída. No entanto, vale ressaltar que quantidades elevadas de solvente elevam o custo de produção devido ao gasto de solvente e seu custo de recuperação (BRENNAN, 2006).

- *Temperatura do processo de extração:*

Altas temperaturas podem aumentar a solubilidade do soluto no solvente, no entanto, dependendo do material (biológico, alimentos) esse aumento de temperatura pode comprometer a qualidade do produto final em decorrência das mudanças físico-químicas que possam ocorrer (AGUILERA, 2003; PEREIRA et al., 2016).

- *Agitação:*

A agitação do solvente ou do sistema inteiro proporciona uma turbulência no sistema facilitando o processo de difusão e a taxa de transferência do soluto para se solubilizar no solvente (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015).

Do mesmo modo, um fator determinante no processo de extração é a pureza do composto decorrente da seletividade do solvente e a técnica aplicada para a extração (AZMIR et al., 2013; BRUSOTTI et al., 2014; CAMEL, 2001; KADAM et al.,

2015; ROSELLO SOTO et al., 2015). Devido a isso, algumas técnicas foram desenvolvidas para atender os diferentes sistemas de extração:

3.4.2 Técnicas de extração

Na extração sólido-líquido (ESL) a pressão atmosférica com ou sem agitação, o processo pode ser conduzido em batelada, ou de um estágio, ou em estágios múltiplos, fluxo concorrente ou contracorrente. ESL à alta pressão pode ser realizada com fluido supercrítico (EFS) ou com líquido pressurizado. E métodos de extração especiais que usam outro tipo de fenômeno físico como a extração assistida por ultrassom (EAU), extração assistida por micro-ondas (EAM), e extração por pulsos elétricos (EPE) representam métodos promissores na indústria para superar os inconvenientes da ESL sob pressão atmosférica, como consumo de tempo, trabalho exaustivo e baixo rendimento (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016; KADAM; TIWARI; O'DONNELL, 2013; KAUFMANN; CHRISTEN, 2002).

Usualmente, estes processos utilizam água ou solventes orgânicos como etanol, metanol, propanol, butanol, clorofórmio, éter, acetona, entre outros (ROSELLÓ-SOTO et al., 2015). A escolha do solvente varia conforme a solubilidade do componente bioativo a ser extraído (polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos, peptídeos, proteínas, carotenoides, etc.) (SASIDHARAN et al., 2011).

A água é o solvente mais amplamente empregado nos processos de separação do setor alimentício. Como exemplos, pode-se citar a extração de açúcar de cana, de beterraba e de cascas de amêndoas (EL BELGHITI; VOROBIEV, 2004; HOLTMAN et al., 2015; PRADO et al., 2014); compostos bioativos do café (NUHU, 2014) e chás de diferentes plantas como chá verde (*Camellia sinensis*) (VUONG et al., 2013) e chá branco (SPIRO; JAGANYI, 1994).

As vantagens da água como solvente são o baixo custo e segurança para o processo (AGUILERA, 2003; PEREIRA et al., 2016), é um excelente solvente para carboidratos de baixa massa molar e para moléculas com componentes hidrofílicos, como as proteínas e os polissacarídeos (EL BELGHITI; VOROBIEV, 2004).

Porém, a sua desvantagem é a baixa seletividade de compostos na extração, isto é, pode solubilizar não somente os compostos de interesse no processo, como outros presentes também na matriz sólida e, conseqüentemente, geram outras etapas de separação, elevando os custos de processo sendo inviável em determinados processos (EL BELGHITI; VOROBIEV, 2004). Como no caso dos açúcares e polissacarídeos presentes na banana, altamente solúveis em água os quais devem ser separados e purificados em múltiplas etapas de extração.

Portanto, é necessário o uso de outros solventes orgânicos que podem ser usados para a remoção de compostos específicos com mais eficiência (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015), porém nem todos os solventes podem ser usados na indústria alimentícia devido à sua alta toxicidade.

A FDA (2003) classifica os solventes orgânicos em 3 classes, a classe 1 associada aos solventes mais nocivos para a saúde humana e com efeitos adversos para o ambiente. As substâncias benzeno, tetracloreto de carbono, (1,1-1,2) dicloroetano e (1,1,1) tricloroetano pertencem a esta classe; na classe 2 encontram-se solventes com menor toxicidade em relação a classe 1 e seu uso é limitado para a faixa de concentração igual a (50 a 3880) mg/L como o acetato de nitrila, clorofórmio, hexano, metanol, tolueno, etilmetilcetona e diclorometano. Pertencem à classe 3 os solventes que apresentam os menores riscos para a saúde humana, assim são solventes aceitáveis para uso alimentício, dentre esses pode-se citar: ácido acético, acetona, anisole, 1-butanol, 2-butanol, ácido fórmico, etanol, acetato de etila, 1 propanol, 2 propanol e acetato de propila.

Na Tabela 3-6 de forma resumida estudos de extração sólido-líquido com uso de solventes e água para a separação de PNAs (solúveis ou insolúveis em água) de diferentes frutas, estão descritos:

Tabela 3-6 – Métodos de extração e solventes usados para extrair polissacarídeos não amiláceos (PNAs) solúveis ou insolúveis em água (SA, IA, respectivamente) de diferentes frutas, e suas propriedades fisiológicas.

Matriz/Planta Frutas	Preparação da amostra	Etapas de extração (ESL)	Polissacarídeo	Propriedades fisiológicas	Ref.
Maças (<i>Malus sylvestris</i>)	-Cortes em lâminas, secagem 55 (°C), moagem (pó/farinha).	1) ESL com etanol (1:10 mL/g), 95 %, 25 °C, agitação intermitente, filtração e secagem. 2) Água (1:4 g/mL), 90 °C, 2 h, 3 vezes, evaporação e centrifugação. 3) Etanol 95 %, 4 °C, 24 h, lavagem e filtrado 3 vezes + centrifugação. 4) Dialisado, 3 dias. 5) Purificação por cromatografia de alta resolução	-PNAs SA, principalmente: Galactose Arabinose	Atividade antioxidante	(DOU et al., 2015)
Goiaba (<i>Psidium guajava</i> Linn)	-Cubos 5 (mm)	1) ESL água deionizada, 80 °C (15:1 mL/g), centrifugação e filtração. 2) Etanol 95%, 24 h, 25 °C. 3) Centrifugação+ água+ butanol: clorofórmio (1:4) mL/mL+ filtração. 4) Purificação por cromatografia de alta resolução	PNAs SA: (1-5), (1-2, 3,5) e (1-3) α-L-arabinose	Atividade antioxidante e antidiabética	(ZHANG et al., 2016)
Frutos do açaí (<i>Euterpe oleracea</i>)	-Pó de açaí	1) ESL água (6:1 mL/g) , 100 °C, 1 h, centrifugação. 2) Etanol, 4 °C /12h, centrifugação. 3) Água+ centrifugação. 4) Purificação por cromatografia de alta resolução	PNAs SA, principalmente: Ác galacturônicos, Arabinose e Galactose	Atividade imune	(HOLDERNESS et al., 2011b)
Banana (<i>Musa acuminata</i> L) var Thap Maeo and	-Cortes em laminas, congeladas 80	1) ESL metanol: clorofórmio (1:1 mL/mL), 70 °C, 1 (h), centrifugação, filtração. 2) Acetona (1:1 mL/mL), 3 vezes, secagem 40 °C.	PNAs SA e IA: Galacturonas, Galactanos,	Atividade imune	(CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008; SANSONE et

Nanica	(°C) (Nitrogênio líq.), trituradas até pó	3) Água + banho ultrassônico 1 h+ centrifugação. 4) Etanol 99,5 %, 4 °C, 12h 5) Água, dialise 3 dias, 4 °C. 6) Purificação por cromatografia de alta resolução.	Arabinogalactanos, β -glicanos, Ramnonogalacturanos e Homogalacturanos		al., 2016; SHIGA et al., 2017a)
-Goji berrie (<i>Lycium chinense</i>), -Cerejas (<i>Prunus avium</i> L.) -Kiwi (<i>Actinidia chinensis</i> L) -Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton)	-Frutos cortados e congelados em nitrogênio líquido. -Tratamento individual para cada fruto	1) ESL água 12h, 2 vezes, agitação 2h a 100 °C. 2) Centrifugação e evaporação a vácuo 40 °C. 3) Etanol 80 %, 4 °C, centrifugação 4) Etanol 99,5 % 2 vezes 5) Acetona 2 vezes. 6) Purificação por cromatografia de alta resolução.	PNAs SA: Ramnose, Arabinose, Xilose, Ac Galacturônico e Galacturonas	Atividade imune, hipoglicêmica, hipolipemiante (controle do colesterol)	(FAN; MAZZA; LIAO, 2010)

Na maioria dos trabalhos apresentados na Tabela 3-6 água como solvente foi empregada para remover a maior quantidade de compostos alvos e não alvos (mono e dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos) mas também solventes alcoólicos como o etanol anidro ou hidratado foram usados, pois o etanol oferece vantagens dada a seletividade para a remoção de compostos de cadeia curta como açúcares (glicose, frutose, sacarose entre outros).

Do ponto de vista de engenharia, é importante destacar que um processo de ESL deve conter um mínimo de passos de extração para tentar minimizar os custos de operação e melhorar a eficiência do processo (PEREIRA et al., 2016), assim os processos de extração mostrados na Tabela 3-6 representam múltiplas fases que poderiam ser muito custosas em escala industrial. Dessa forma, é importante a escolha do solvente para remover compostos alvos e posteriormente realizar uma etapa de separação ou ao contrário, remover compostos não desejáveis e obter um refinado rico em aqueles compostos alvos para serem tratados posteriormente. Como também, avaliar os parâmetros de processo e o tipo de ESL (com e sem agitação, batelada ou contínuo).

Johansen, Glitsø e Knudsen (1996) estudaram o efeito dos solventes água, etanol e metanol hidratado a (50 e 80) mL/100 mL, temperatura de (25 e 50) °C e no ponto de ebulição dos solventes metanol e etanol nas mesmas concentrações ($74 \leq T \leq 84$) °C, na extração de monossacarídeos, sacarose e oligossacarídeos de farinha torrada de soja, farinha de semente de algodão, ervilhas e uma mistura de farinha torrada de soja, farinha de sementes de algodão, ervilha, trigo e colza. Os autores observaram que o tipo de solvente e a temperatura têm um efeito significativo na extração de açúcares e oligossacarídeos de todas as amostras. O rendimento de extração de açúcares aumentou com a elevação da temperatura, porém só para o etanol e o metanol a 80 mL/100 mL à temperatura de ebulição, para água teve efeito decrescente, mas em temperatura ambiente de 25 °C a extração foi reduzida.

Para a extração de oligossacarídeos, o melhor solvente foi a água em temperatura de 50 °C. Os autores concluíram que etanol e água foram mais eficientes, em relação ao metanol, mesmo em temperaturas diferentes, deste modo,

foram recomendados o etanol e água por serem menos nocivos para seu uso em escala industrial.

O efeito de baixas temperaturas na extração com água foi estudado por Knudsen (1986) para a remoção de oligossacarídeos (sacarose, rafinose e estaquiose) de legumes secos e moídos (feijão vermelho, ervilha, grãos de soja e de bico). O autor observou que a extração foi incompleta mesmo quando agitado por 1 h, usando uma razão de 1:15 (w/v).

Giannocaró, Wang e Chen (2006) não observaram diferenças significativas na ESL de açúcares (glicose, galactose, frutose, sacarose, rafinose e estaquiose) de farinha de soja utilizando etanol em concentrações de (10 e 50) mL/100 mL às temperaturas de (25, 50, e 80) °C. Aumento da concentração do etanol para 80 mL/100 mL e temperatura de 60 °C aumentaram o rendimento de extração, porém, extrações à temperatura de ebulição o rendimento foi reduzido. Os autores concluíram que uma baixa eficiência na extração de açúcares solúveis para concentrações altas de etanol e altas temperaturas pode ser devido à extração simultânea de açúcares e lipídios presentes na farinha de soja, assim, ambos componentes concorrem pelo solvente. Desta forma, concluiu-se que, para amostras com alto conteúdo de lipídios é desejável realizar um pré-tratamento para remoção dos lipídios antes da etapa da extração dos açúcares.

Asp (2007) observou que o etanol não é eficiente na extração de moléculas de alta massa molar, como alguns oligossacarídeos e outros polímeros, dessa forma, é usado para precipitar este tipo de moléculas quando estas estão em solução com água. O etanol precipita carboidratos de cadeia longa extraídos em água (como polissacarídeos) devido à alta solubilidade da água no etanol e à insolubilidade de moléculas de alta massa molar (JOHANSEN et al., 1996).

Xun (2017) avaliou a solubilidade em etanol de polissacarídeos e oligossacarídeos purificados verificando que esta diminui com o aumento da concentração de etanol, porém aumentou na presença de água.

A extração de sólidos solúveis de banana Prata (*Musa spp.*) totalmente madura (estágio 8) foi realizada por Silva et al. (2009), com a finalidade de usar o extrato como substrato para a fermentação em indústrias de bebidas alcoólicas. A ESL foi conduzida usando purê de banana e água a 84 °C, razão amostra/solvente variando de (17 a 26) g e 150 mL fixo, tempos de processos de (30 até 66) min. Os autores concluíram que o uso de uma temperatura alta pode aumentar a eficiência da extração dos sólidos solúveis, porém pode causar mudanças nas características organolépticas do extrato como o escurecimento e presença de sabor amargo na bebida. Para um tempo igual a 45 min, foi obtido o maior rendimento de sólidos solúveis medidos em graus Platô (°P) (g açúcar/100 g solução).

3.4.2.1 Extração ESL em um estágio (batelada)

Para os cálculos de ESL em um único estágio, o esquema do processo de separação pode ser representado conforme mostra a Figura 3.5, em que as correntes de entrada no processo são $\dot{F}$ (alimentação, na fase sólida) e $\dot{S}$ (solvente, na fase líquida) e as correntes de saída representadas por $\dot{R}$ (refinado, na fase sólida) e $\dot{E}$ (extrato-fase líquida); em processo contínuo as correntes são expressas em massa/tempo (kg/s), porém em batelada as correntes são expressas só em massa (kg).

Figura 3.5 - Esquema de um processo de extração em um único estágio (batelada).

Fonte: Adaptado de Pereira et al. (2016)

Em relação aos componentes presentes em cada corrente, têm-se que a alimentação $\dot{F}$ é constituída pelo componente (A) (sólidos solúveis no solvente) e

por (B) (sólidos insolúveis ou fibras, chamados de inertes). O solvente puro $\dot{S}$ é composto por (C). O refinado $\dot{R}$ é constituído pela matriz insolúvel e pela solução aderida (B+C) e o extrato $\dot{E}$ contem os sólidos solúveis extraídos e solvente (A+C). No caso da extração conter mais de um componente solúvel, este deve ser representado na nomenclatura como um componente a mais que vai aparecer tanto na alimentação como no extrato (PEREIRA et al., 2016).

Assim os balanços de massa global e por componentes são descritos pelas seguintes equações (PEREIRA et al., 2016):

$$\dot{F} + \dot{S} = \dot{E} + \dot{R} = \dot{M}_i \quad (1)$$

$$\dot{F} X_{iF}^y + \dot{S} X_{iS}^y = \dot{E} X_{iE}^y + \dot{R} X_{iR}^y = \dot{M} X_{iM}^y \quad (2)$$

$$\dot{F} X_{iF}^y = \dot{R} X_{iR}^y \quad (3)$$

Em que X_{iF}^y , X_{iS}^y , X_{iE}^y , X_{iR}^y correspondem às frações mássicas dos componentes (A, C ou outros existentes) na alimentação, no solvente, no extrato e no refinado, respectivamente. “*i*” (*i*= número de estágios de extração) e “*y*” (*y* = tipo de componente A, C, etc.). $\dot{M}$ corresponde ao ponto de mistura do estágio *i*, mas também representa a vazão total do processo no estágio *i*. A equação (3) representa o balanço por componente para os sólidos insolúveis (inertes ou fibras).

3.5 Extração assistida por ultrassom (EAU)

3.5.1 Princípios do ultrassom

O ultrassom é um tipo especial de onda sonora, de alta frequência acima da capacidade da audição humana, entre 20.000 Hz e 100.000 kHz que se propaga de forma longitudinal (AZMIR et al., 2013; LUQUE-GARCÍA; LUQUE DE CASTRO, 2003; MASON et al., 2005a; SALLEH-MACK; ROBERTS, 2007; SUSLICK et al., 1987).

As ondas sonoras são classificadas em infrassom, som, e ultrassom. Todas estas ondas são mecânicas, sendo que a diferença entre elas reside na frequência de cada uma. O infrassom possui uma frequência que não pode ser ouvida pelo ser humano abaixo de 20 Hz, já o som tem uma frequência de 16 Hz até (16.000-20.000) Hz que pode ser audível pelo ouvido humano, e por último, tem-se o ultrassom que por ter frequências superiores a 20.000 Hz, não são detectadas pelos humanos (HUGH; FREEDMAN, 2009; TAKEUCHI et al., 2009).

Por serem ondas mecânicas precisam da presença de um material para se propagar como sólidos, líquidos ou gases. Porém, dependendo do material a velocidade de propagação da onda pode variar, pois depende das vibrações do meio (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015).

O ultrassom é uma tecnologia promissora e emergente que tem sido estudada na indústria de alimentos desde início dos anos 90 (BERMUDEZ-AGUIRRE, 2017). Porém, foi após a primeira guerra mundial que foram criados instrumentos para área de navegação (SONAR Sound Navigation and Ranging- ano 1917) com a finalidade de detectar objetos (ecolocalização) nas profundezas do mar, estes instrumentos foram inspirados nos estudos com golfinhos, morcegos e borboletas os quais possuem um mecanismo natural de se comunicar por ondas ultrassônicas (LINS, 2013). No ano 1950 foi obtida a primeira imagem médica com ultrassom, e na década de 1960 foram aceitos os ultrassom na indústria, para limpeza de superfícies (MASON et al., 2005a).

Esta técnica tem sido usada tanto na área de diagnóstico como na área de processamento de alimentos, e varia de acordo com a faixa de frequência empregada, como mostrado na Figura 3.6.

Figura 3.6 - Frequências do som (em Hz)

Fonte: Adaptado de Mason et al. (2005)

A amplitude ou intensidade das ondas são parâmetros importantes para seu uso e são classificadas em dois grupos: as de baixa intensidade ultrassônica (BIU) de $<1 \text{ W/cm}^2$ e as de alta intensidade (AIU) de $10\text{-}100 \text{ W/cm}^2$. As ondas BIU são geralmente empregadas para transmissão de energia e obtenção de informações de algumas propriedades de alimentos como firmeza, conteúdo de acidez ou de açúcar, maturação entre outras e são ensaios não destrutivos (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015; PRINGRET et al., 2013; TAKEUCHI et al., 2009).

O princípio do ultrassom é baseado no fenômeno da cavitação acústica ou de micro transmissões (CHARPE; RATHOD, 2016; TZANAKIS et al., 2016). Quando a onda ultrassônica viaja através de um meio líquido em forma longitudinal, são formadas regiões de compressão (se juntar, se tornar mais denso, mais concentrado) ou de rarefação (expansão, tornar-se menos denso, menos concentrado). Se o processo de rarefação (expansão) excede às forças de atração entre as moléculas numa fase líquida subsequentemente resulta na formação de bolhas de cavitação (produção, crescimento e colapso de bolhas de vapor) formadas a partir dos núcleos de gás do meio (ver Figura 3.7) (ALUPULUI; CALINESCU; LAVRIC, 2009; CARCEL et al., 2007; CÁRCEL et al., 2012; KUMARI et al., 2017; MASON, 1996a; MASON et al., 2005a; PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013).

Quando a variação das compressões e rarefações fica constante as bolhas de cavitação podem atingir um tamanho estável, gerando microagitações no líquido, fenômeno conhecido como “cavitação estável”, porém quando o ciclo de

crescimento da bolha é maior que o ciclo de diminuição, conseqüentemente causa um crescimento rápido que decorre no colapso da mesma (LOPEZ, 2013). O colapso da bolha aumenta a pressão do meio, gerando uma tensão de cisalhamento (pela liberação de energia), que pode produzir efeitos químicos e mecânicos (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013).

Figura 3.7 - Fenômeno da cavitação acústica

Adaptado de Kumari et al. (2017)

Em sistemas aquosos, por exemplo, numa frequência de 20 kHz comumente usada em aplicações com alimentos (CARCEL et al., 2007), o colapso da bolha de cavitação causa suficiente energia para aumentar a temperatura ao redor de 5000 K e ocasionar pressões negativas ao redor de 50 MPa (CHANIOTI; LIADAKIS; TZIA, 2015). Este tipo de fenômeno é chamado de “cavitação transitória” e pode produzir forças cortantes e de turbulência na zona de cavitação (CARCEL et al., 2007).

Esse colapso distribuído no meio aquoso pode produzir efeitos na estrutura ou no sistema, dependendo do tipo material e/ou processo (KUMARI et al., 2017). Entre esses efeitos tem-se: o aquecimento do meio e da amostra devido à turbulência e energia geradas (MASON et al., 2005a), geração de micro-canais na estrutura do material causado pela cavitação próxima à parede celular do material sólido envolvido no meio líquido, dessa forma, melhora a transferência de massa (TAKEUCHI et al., 2009); micro-agitação pela vibração produzida na interface ou

efeito na estrutura como o “efeito esponja”(PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013) .

O ultrassom é um método promissor para auxiliar na extração de compostos de alto valor agregado provenientes de alimentos ou plantas. Assim como tem sido amplamente usado para a secagem de produtos a fim de melhorar a transferência de massa em sistemas gás-sólido. Como exemplos, têm-se a secagem de cenouras, batatas, cogumelos e maçãs (RIERA-FRANCO, DE SARABIA et al., 2002), cebolas (DA-MOTA; PALAU, 1999), desidratação osmótica de maçã (CARCEL et al., 2007) e bananas verdes para produção de farinha (FUENTE; TADINI, 2017).

Como explicado anteriormente, o efeito da transferência de massa é atribuído à propagação das ondas de ultrassom que decorrem em fenômenos de cavitação produzindo efeitos mecânicos e químicos no material, processo que permite o aumento da penetração de um solvente no produto facilitando a saída ou entrada de um soluto a partir das interfaces sólido-líquido (MASON, 1996a; MEULLEMIESTRE et al., 2016; PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013). Assim, o mecanismo de extração ultrassônica envolve dois tipos principais de fenômenos físicos: 1) difusão através da parede celular da matriz e 2) lavagem do conteúdo da célula após ruptura das paredes pela cavitação acústica (BERMUDEZ-AGUIRRE, 2017)

Existem dois tipos de ultrassom em escala de laboratório mais comumente empregados (Figura 3.8): banho ultrassônico (a) e o probe ultrassônico (b). O banho é mais usado por ser mais barato e fácil de usar, no entanto não é empregado quando a EAU envolve reações químicas ou quando é necessário aplicar uma vibração em um ponto específico da amostra, por sua vez o banho permite colocar maior quantidade de amostras diretamente com o líquido envolvente (água) ou através de recipientes contendo a amostra/solvente (FREITAS et al., 2014).

Figura 3.8 - Ilustração esquemática de um banho ultrassônico (a) e um probe ultrassônico (b)

Fonte: Adaptado de Freitas et al. (2014)

Os fatores que influenciam fortemente na matriz e que são importantes a serem considerados em uma EAU são: o teor de umidade da amostra, grau de moagem, tamanho de partícula ou peso da amostra, tipo de solvente usado, temperatura e pressão (se houver), mas também depende do tipo de ultrassom usado e a energia aplicada (ALUPULUI; CALINESCU; LAVRIC, 2009; AZMIR et al., 2013; MASON, 1996b).

A técnica de EAU é uma alternativa de baixo custo, simples e eficiente, tem sido amplamente empregada tanto em escala laboratorial quanto em industrial para a extração de compostos bioativos de algas marinhas, como por exemplo isoflavonoides a partir de *Sargassum muticum*, *Sargassum vulgare*, *Hypnea spinella* (KLEJDUS et al., 2010), de minerais da *Palmaria* (alga vermelha), *Laminaria* (alga marrom) (DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2005), e polissacarídeos de cogumelos *Grifola frondosa* (CHEUNG; WU, 2013a).

Estudos têm demonstrado seu amplo uso para a extração de compostos valiosos por apresentar maior taxa de extração e rendimento, comparado com ESL a pressão atmosférica, devido que o ultrassom facilita a extração de compostos por meio da transferência de massa. Aumento na extração de antocianinas do suco de uva doce vermelha triturada com valores de 15 até 18 g/100 g foi observada por

Vikhu et al. (2008); Caili et al. (2006) encontraram alta eficiência na obtenção de xiloglicanos em polpa de maçã, e Jing et al. (2004) na obtenção de hemicelulose do bagaço de cana de açúcar.

O uso de solventes na EAU é outro benefício que permite diminuir o tempo de extração e a temperatura, removendo compostos sensíveis ao calor com o mínimo de danos, no entanto, um desafio tecnológico é a atenuação da onda em sistemas de fase dispersa, devido à diminuição da amplitude da onda sonora com a distância (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

3.6 Cinética de extração

Estudos cinéticos de extração fornecem o conhecimento da evolução da transferência de massa no tempo, isto é, a taxa de extração, resumidamente, expressam a massa acumulada no extrato em função do tempo (CAVALCANTI, 2013). É uma ferramenta importante que permite estudar a velocidade de um processo de extração, levando em conta os fatores que afetam a transferência de massa como: natureza da matriz, tipo de solvente utilizado e parâmetros de processo (temperatura, razão amostra/solvente, pressão, agitação, viscosidade) (MOURA, 2004). O estudo cinético pode auxiliar na compreensão dos fenômenos que ocorrem durante a extração, permitindo assim, o delineamento e otimização do processo, gerando, economia de tempo, dinheiro e energia (DANESI, 2004). De posse dos dados experimentais obtidos no estudo da cinética de extração, pode-se ajustar modelos às curvas cinéticas experimentais e pode-se estimar a viabilidade do processo em escala industrial (TODA; SAWADA; RODRIGUES, 2016).

Um processo de extração geralmente é composto por dois estágios, como apresentado na Figura 3.9. O primeiro deles, é o estágio de extração rápida (fase de lavagem) na qual o soluto é removido facilmente pelo solvente sendo arrastado no primeiro contato. Desta forma, verifica-se uma taxa de extração alta ou um alto coeficiente de extração cinético. O segundo estágio se refere a extração lenta (fase de difusão), a qual se caracteriza pela solubilização dos compostos que se encontram no interior das células, resultando em um tempo maior para ocorrer a

transferência de massa. Consequentemente, tem-se uma taxa de extração mais baixa e um coeficiente de extração menor em relação a fase de lavagem (CHAN; YUSOFF; NGOH, 2014a; FERREIRA; MEIRELES, 2002; FRANÇA; MEIRELES, 2000; HATAMI et al., 2012; SO; MACDONALD, 1986).

Figura 3.9 –Curva de extração no tempo (batelada com solvente), mostrando os estágios de extração rápida (fase de lavagem) e lenta (fase de difusão).

Adaptado de: Chan, Yusoff, Ngoh, (2014).

Em processos de extração considerados rápidos, a fase de lavagem corresponde a uma taxa de extração constante a qual ocorre a uma velocidade muito alta que em alguns casos é difícil de determinar. Por isso, o estudo cinético deveria ser medido em escala de tempo de segundos, o que pode dificultar a coleta de amostras e, dependendo do processo, a observação da fase de lavagem torna-se impossível (FERREIRA; MEIRELES, 2002; FRANCO et al., 2007). Muitos processos industriais dependem da taxa de extração e do equilíbrio dos sistemas, dessa forma, é possível obter um conhecimento do processo e assim conseguir um rendimento alto no tempo adequado (STEVENS; PERERA, 1997).

3.6.1 Taxa de transferência de massa e modelagem matemática

Estudos experimentais de cinética de extração e sua modelagem permitem determinar as taxas de transferência de massa e entender melhor a importância e influência de cada mecanismo no sistema estudado (FAGGION, 2016). Além de fornecer conhecimento para simulação de um processo industrial, assim como a otimização das variáveis do processo, rendimento, tempo e custo de operação.

A velocidade da transferência de massa (taxa de dissolução) entre o dissolvente e o soluto contido numa matriz sólida pode ser rápida ou lenta, e o mecanismo (convectivo ou difusional) com que este ocorre pode ser diferente em qualquer processo de extração (GEANKOPLIS, 2003).

Em termos gerais, em uma ESL pode se descrever a transferência de massa como apresentado na equação (4) (GEANKOPLIS, 2003):

$$\dot{m} = \frac{dm}{dt} = -kA(C - C') \quad (4)$$

$\dot{m}$: vazão mássica de transferência do soluto (kg/s)

A: área da superfície de contato (soluto-solvente) do soluto (m²)

t: tempo (s)

C: concentração do soluto na fase sólida (kg/m³)

C': concentração do soluto da fase líquida (kg/m³)

k: coeficiente global de transferência de massa (m/s)

Esta equação é geralmente aplicada quando se trata de uma transferência de massa convectiva (rápida), isto é, quando o soluto é dissolvido no solvente no primeiro contato deste com a superfície sólida (matriz) (GEANKOPLIS, 2003).

Quando a transferência do soluto ocorre devido ao gradiente de concentração entre a fase líquida e a sólida (matriz), o mecanismo de extração é regido pela difusão e, portanto, pode ser descrito com base na Lei de Fick (PEREIRA et al., 2016):

$$\frac{\dot{M}_A}{A_T} = -D_{AB} \frac{dC_{AS}}{dz} \quad (5)$$

Em que $\dot{M}_A$: taxa de transferência de massa do soluto A (kg/s), A_T : área de transferência de massa (m^2) (área da interface sólido-líquido), D_{AB} : coeficiente de difusão do soluto A na matriz sólida B (m^2/s), C_{AS} : concentração de A na fase sólida S (kg/m^3) e z é a distância medida a partir do interior da matriz sólida (m) (PEREIRA et al., 2016).

Entretanto, devido que, não todos os processos de extração possuem as mesmas características, pela natureza do material, diferentes modelos matemáticos tem sido estudados para ajustar e generalizar os resultados experimentais, descrevendo os fenômenos mais relevantes ou importantes do processo através de equações as quais posteriormente fornecem o coeficiente de transferência de massa ajustado ao processo (CAVALCANTI, 2013).

Estudos de processos cinéticos de extração ajustados com modelos matemáticos têm sido usados na indústria de alimentos para extração de: óleos vegetais de canola (SO; MACDONALD, 1986), óleo de café verde (DIBERT; CROS; ANDRIEU, 1989), compostos fenólicos de sementes de uva (BUCIC-KOJIC et al., 2007) e azeite extraído da torta de azeitona (AMARNI; KADI, 2010), para conhecimento da velocidade de extração e o comportamento da solubilização do soluto no solvente.

Na Tabela 3-7 são apresentados modelos matemáticos empíricos e semi-empíricos, mais usados para processos de extração em batelada ESL e EAU, nos quais descrevem as duas fases de extração (fase lavagem e difusão).

Tabela 3-7 Modelos matemáticos propostos na literatura para processos de extração

Modelos empíricos	Equação	Referencia
Patricelli	$C_t = C_e^w [1 - \exp(-K_w t)] + C_e^d [1 - \exp(-K_d t)]$	PATRICELLI et al. (1979)
Peleg	$C_t = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t}$	(PELEG, 1988)
Segunda ordem	$\frac{dC_t}{dt} = k(C_s - C_t)^2$	(HO et al., 2005)
Modelo difusão	$\ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C}\right) = k_{obs} t$	(SPIRO; SIDDIQUE, 1981)
Modelos semi-empíricos	Equação	Referencia
Pérez	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{M_0}{M_\infty}\right) \sum_{n=1}^{\infty} A_n e^{-B_n(t-t_0)}$	(PEREZ; CARELLI; CRAPISTE, 2011)
Lei de potencia	$y = \beta t^n$	(CHEUNG; WU, 2013b)
Difusão parabólica	$y = y_0 + y_1 t^{(1/2)}$	(CHEUNG; WU, 2013b)

A aplicação dos modelos empíricos e semi empíricos na cinética de extração pode ajudar no desenho e otimização das variáveis ou parâmetros do processo (POOJARY; PASSAMONTI, 2015).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a concretização dos objetivos propostos neste trabalho, o estudo foi dividido em 3 etapas.

A primeira etapa compreendeu a caracterização da matéria-prima (bananas) com análises físico-químicas no estágio 1 (Fruta verde) e no estágio 8 (Fruta amarela com manchas pardas), assim como seu acompanhamento no processo de amadurecimento em sistema controlado de temperatura e umidade relativa avaliando diariamente parâmetros de firmeza e sólidos solúveis para ter um lote nas mesmas condições e evitar as variabilidades nos processos seguintes.

Para a seleção da matéria-prima foi levado em consideração a sua disponibilidade no mercado, demanda atual, viabilidade econômica e seu potencial de PNAs com efeito imunomodulador como encontrado por Cordenunsi et al. (2008); Sansone et al. (2016) e Shiga et al. (2017). O estágio de maturação avançado foi selecionado com o objetivo de usar bananas muito maduras sem valor comercial como matéria-prima de obtenção dos PNAs. Dessa forma, é necessário conhecer as transformações do fruto no período de amadurecimento.

Na segunda etapa foram avaliadas três razões amostra/solvente na técnica de extração em escala laboratorial: extração sólido-líquido com agitação (ESL) e posteriormente comparadas com o método de extração assistida por ultrassom (EAU). Ambas em batelada, com o intuito de encontrar os melhores parâmetros de processo para possivelmente serem reproduzidas em escala piloto, usando etanol como solvente e posteriores análises de açúcares solúveis e teor de umidade dos extratos e refinados obtidos.

Por último, a terceira etapa do trabalho consistiu no estudo cinético de extração e aplicação dos modelos matemáticos para ajuste dos parâmetros aos dados experimentais, assim como a avaliação estatística dos efeitos das variáveis, temperatura, tempo, razão amostra/solvente e método de extração. Nesta etapa foram avaliados extratos em termos do conteúdo de açúcares solúveis e água e os refinados em teor de água e perfil da composição quanto à massa molar dos

polissacarídeos, verificando se houve efeito dos tratamentos de extração sobre os PNAs.

4.1 Etapa 1: Caracterização da matéria-prima

Bananas (*Musa cavendishii* L) do cultivar Nanicão procedentes da região do Vale da Ribeira, SP, foram adquiridas um dia após a colheita (totalmente verdes) no CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo, da cidade de São Paulo.

Os frutos (60 kg) sem tratamento com gás etileno, foram mantidos à temperatura de (20 ± 2) °C e umidade relativa de (80-85) % em câmara climatizada (TIRA clima TCC 7034, Alemanha) por até 17 dias, e a firmeza e o teor de sólidos solúveis foram determinados diariamente. Firmeza, teor de umidade, teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, cinzas, conteúdo de amido, teor de proteínas e quantidade de açúcares solúveis foram determinados nas bananas nos estágios 1 e 8 de acordo com os procedimentos descritos a seguir:

4.1.1 Firmeza

A firmeza das bananas foi determinada, em triplicata, por meio do teste de penetração no centro do fruto (Figura 4.1) em texturômetro (SMS, mod TA-XT2i plus, Inglaterra, carga de 30 kg), com cilindro (probe) de aço com 6 mm de diâmetro (P/6), velocidade de penetração de $1,0 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$, e profundidade de 20 mm e à temperatura ambiente. A banana totalmente descascada foi posicionada na direção horizontal, de acordo com Ditchfield (2004) e Tribess et al. (2009). A firmeza foi definida como a força máxima da curva força-distância em (N).

Figura 4.1 - Análise de firmeza dos frutos de banana verde em texturômetro (SMS, mod TA-XT2i plus, Inglaterra, carga 30 kg) (a) e posicionamento da banana verde em teste de penetração (b)

Fonte: o próprio autor

4.1.2 Teor de umidade

O teor de umidade dos frutos foi determinado, em triplicata em estufa à vácuo (MARCONI, mod MA-030, Brasil) a 70 °C e pressão 20 kPa, até peso constante segundo metodologia descrita por Zenebon e Pascuet (2008).

4.1.3 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi determinado, em triplicata, por medição direta em refratômetro de bancada (CARL-ZEISS JENA, mod 711849, Alemanha). Fatias de 2 cm, aproximadamente, de banana foram maceradas até se obter uma massa homogênea a qual foi disposta em um filtro poroso para a coleta de uma quantidade suficiente de líquido da fruta para depositar sobre o prisma do refratômetro. Adaptado de Zenebon e Pascuet (2008).

4.1.4 pH

Para determinação do pH, amostras de 10 g de banana cortadas em pedaços, foram maceradas e diluídas em 100 mL de água destilada sendo este conteúdo agitado até a mistura ficar uniforme à temperatura ambiente, para medida direta em pH-Stat (RADIOMETER, mod PHM290, França) em triplicata de acordo com Zenebon e Pascuet (2008).

4.1.5 Acidez titulável

Purê de banana (10 g) homogeneizado foi diluído em 100 mL de água destilada e titulado segundo o método para frutas de Zenebon e Pascuet (2008).

4.1.6 Cinzas

Amostras de 5 g de banana livre de umidade foram dispostas em cápsulas de porcelana e incineradas a 550 °C em mufla (QUIMIS, mod Q.318D24, Brasil) até eliminação completa do carvão e mostrar uma coloração branca ou ligeiramente acinzentadas, pesadas até peso constante (ZENEBO; PASCUET, 2008).

4.1.7 Conteúdo de amido

Para quantificar o amido total (AT) foi utilizado o método proposto por Cordenunsi e Lajolo (1995). Cerca de 0,5 g de amostra de polpa integral triturada em nitrogênio líquido foi homogeneizada com 4 mL de NaOH 0,5 M e, logo em seguida, neutralizada com 4 mL de ácido acético 0,5 N e diluída em água até completar um balão de 25 mL. Uma alíquota de 1 mL foi retirada do balão e lavada duas vezes com etanol 80 % com o intuito de precipitar o amido (os sobrenadantes foram desprezados). Todo o etanol foi evaporado e o precipitado seco foi incubado em banho-maria a 37 °C com 1 mL de amiloglicosidase (28 U/mL, Sigma A-7255) por 2 h. Após esse tempo, foi adicionado 0,1 mL de ácido perclórico 0,6 N para interromper a reação. Alíquotas de 0,1 mL de amostras foram incubadas em 1,5 mL de GOD/POD-ABTS por 15 min em banho-maria a 37 °C. Depois de esfriar foram lidos no espectrofotômetro a 450 nm de UV-VIS (HEWLETT PACKARD 8453, EUA).

4.1.8 Determinação de proteínas

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995). Foram pesados em tubos de ensaio 60 mg de banana desidratada, 1,69 g de K₂SO₄, 50 mg de CuSO₄ (catalisador) e 2,5 mL de H₂SO₄ e um tubo com os reagentes e sem amostra para prova em branco.

Os tubos foram dispostos em bloco digestor a (350 – 400) °C por (1 – 3) h (aumentando a temperatura de 50 em 50 °C). Depois foram resfriados os tubos e

posteriormente adicionado 5 mL de água destilada. Em seguida os tubos foram acoplados no destilador Kjeldahl. Para os cálculos foi levado em conta o volume gasto de HCl por 0,02 N (amostra-branco) corrigido pelo fator de correção da solução, e assim o volume do ácido foi transformado em nitrogênio: 1 mL de HCl 0,02 N = 0,2802 mg de nitrogênio (1 mL da solução padrão de HCl a 0,1 N equivalente a 1,401 mg de nitrogênio).

A partir disso foi calculado o nitrogênio e a proteína contidos em 100 g da amostra, considerando o fator de conversão 6,25 (fator de proteína de vegetais segundo AOAC, 2005) que significa que 16 % do nitrogênio encontrado é proteico, (16 g N proteico/ 100 g NT).

4.1.9 Determinação de açúcares solúveis por cromatografia líquida de alta resolução

O teor de açúcares solúveis foi determinado segundo método descrito em Cordenunsi; Lajolo (2008). Amostras de purê de banana, do extrato e do refinado obtidas das extrações foram lavadas três vezes com etanol 80 mL/100 mL a temperatura de 80 °C.

Os sobrenadantes foram combinados em tubos de 2 mL, e o volume completado com etanol 80 mL/100 mL. A solução foi homogeneizada e uma alíquota de 1 mL foi separada em microtubo, sendo o etanol presente na amostra evaporado com sistema SpeedVac (SAVANT Modelo SC210A-120, EUA).

Os resíduos (material seco) foram reconstituídos com 1 mL de água deionizada, filtrados em membrana (0,45 µm) e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência HPLC com detecção amperométrica (HPLC-PAD – Dionex, Sunnyvale, CA, USA), usando coluna PA1 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) num ciclo isocrático de 18 mM de NaOH durante 30 min. Soluções de glicose, frutose e sacarose a 1 g/100 g (Sigma, USA) foram utilizadas como material de referência. As determinações foram realizadas em triplicata, e os resultados expressos em g/100 g de amostra (CORDENUNSI; SHIGA; LAJOLO, 2008).

4.1.10 Determinação de açúcares solúveis por fenol sulfúrico

A determinação de açúcares totais foi realizada usando uma curva padrão de glicose. Para a preparação das amostras, foram dispostos 250 µL de amostras previamente extraídas com o procedimento do item 4.2.1 depois de filtrados em membrana (0,45 µm), assim, foi completado no tubo com 750 µL de água deionizada completando 1 mL de solução, posteriormente foi adicionado a mesma quantidade de fenol 5 % e ácido sulfúrico concentrado como na preparação da solução padrão. Para a leitura dos resultados das amostras, foi necessário construir uma curva padrão com as diferentes concentrações, as quais foram medidas em espectrofotômetro de UV-VIS (HEWLETT PACKARD 8453, EUA) posteriormente a absorbância foi determinada a 490 nm (DUBOIS et al., 1956).

4.2 Etapa 2: Processos de extração

4.2.1 Preparo da banana para o processo de extração

Após a caracterização dos frutos, procedeu-se com a obtenção do purê de banana.

As bananas inteiras com casca foram higienizadas com água clorada (0,2 g/L) submersas por 10 min, para a limpeza de impurezas e desinfecção das mesmas. Em seguida, foram descascadas manualmente, cortadas em fatias de aproximadamente 4 mm de espessura e dispostas em sacolas de plástico de polipropileno para serem armazenadas a -30 °C em congelador (Electrolux Modelo H500, Brasil) até o momento dos experimentos.

Para o preparo do purê, as bananas congeladas eram retiradas do freezer 15 min antes de realizar os experimentos, posteriormente eram trituradas em liquidificador por aproximadamente 5 min até obter um purê homogêneo (Oster Mod BLSTMG-B00-017, Brasil).

O esquema apresentado na Figura 4.2 resume as etapas do desenvolvimento deste trabalho. As condições aplicadas de temperatura e tempo de exposição foram iguais tanto para a extração ESL como para a EAU. As razões amostra/solvente para a ESL foram de 1:10, 1:7, e 1:5 (amostra (g): solvente (mL)) para a ESL e somente 1:5 para EAU.

Figura 4.2- Diagrama do planejamento experimental

Fonte: O próprio autor

4.2.2 Extração sólido-líquido com agitação mecânica (ESL)

O solvente etanol foi caracterizado quanto a massa específica (μ), medida experimentalmente usando um picnômetro e água como líquido padrão a temperatura de 25 °C, e calculada usando a equação (6) (AOAC, 2005). Dessa forma, maior precisão em relação às quantidades em massa (g) usadas do etanol foram obtidas.

$$\mu_{\text{etanol, água}} = \frac{m_{\text{etanol}} / V}{m_{\text{água}} / V} \quad (6)$$

Os ensaios de extração sólido-líquido com agitação mecânica foram realizados usando béqueres de vidro de 600 mL, banho ultratermostatizado (Marconi, mod MA-184, Brasil), agitador mecânico (Fisatom, mod 715 - capacidade 20 L) a velocidade de 200 rpm e etanol absoluto P.A, como solvente, pureza: 99,5 mL/100 mL, umidade máxima de 0,05 g/ 100 g (Synth, São Paulo/SP, Brasil).

Três variáveis foram estudadas: tempo (30, 60 e 90) min, temperatura de (25 e 65) °C, razão de 1:5, 1:7, 1:10 (amostra (g): solvente (mL)) e concentração do etanol fixada em 99,5 mL/100 mL.

Tabela 4-1 - Razão das quantidades de purê de banana em relação ao solvente (etanol) a 99,5 mL/100 mL.

Razão	Massa Purê de banana (g)	Etanol (mL)
1:5	20	100
1:7	20	140
1:10	20	200

Amostras de 20 g de purê banana foram pesadas diretamente nos béqueres em balança semi-analítica (BEL Mod S3102, Brasil).

Após pesagem do álcool na mesma balança semi-analítica, este foi imediatamente adicionado ao purê e depois tampados os béqueres com filme para

evitar as perdas por evaporação e imediatamente dispostos no banho com agitação mecânica.

Após atingidos os tempos de extração de 30, 60 e 90 min, a mistura foi filtrada manualmente usando tecido fino de poliéster, obtendo-se assim duas fases: a parte líquida denominada como fase extrato (E) e a parte sólida, como a fase refinado (R). Ambas fases foram pesadas em balança semi-analítica (BEL Mod S3102, Brasil) e reservadas para posterior determinação de umidade e de açúcares, os passos dos experimentos realizados são mostrados na Figura 4.3.

Todos os testes foram realizados em duplicata, para um total de 36 ensaios, como mostrado na Tabela 4-2.

Figura 4.3- Etapas de todo o processo de caracterização da matéria-prima e extração: bananas totalmente verdes (a), teste de firmeza (b), armazenamento das bananas verdes em câmara climatizada (20 ± 2 °C e (80-85) % UR (c), bananas maduras (d), bananas descascadas (e), rodela de banana (f), purê de banana preparado em liquidificador (g), amostra de purê mais etanol 99,5 mL/100 mL em béquer (h) extração em banho termostático com agitação mecânica (i), filtrado (j), extrato (E) (k), refinado (R) (l).

Fonte : O próprio autor

Para cada razão amostra/solvente foram obtidas 24 fases extrato e refinado, portanto, para as três proporções foram 72 fases para serem submetidas a análises. As análises foram realizadas em triplicata tanto para o extrato quanto para o refinado, totalizando 216 amostras.

Tabela 4-2 – Parâmetros usados na extração sólido-líquido e número de tratamentos realizados por cada condição para um total de 36 ensaios.

Razão (g purê/ mL etanol)	T (°C)		t (min)	Número de repetições	Número de tratamentos
1:5	25	65	30	2	6
	25	65	60		
	25	65	90		
1:7	25	65	30	2	6
	25	65	60		
	25	65	90		
1:10	25	65	30	2	6
	25	65	60		
	25	65	90		
Total de ensaios					36

Os tratamentos para as duas fases extrato e refinado são descritos a seguir:

4.2.3 Análises das fases extrato e refinado para ESL

Extrato

Extratos após o processo de extração foram dispostos no rotaevaporador (Rotavapor R-215, a vácuo V-850, Buchi, Alemanha) a temperatura do banho de 40 °C. Duas fases uma contendo álcool e água e a outra de sólidos solúveis extraídos da banana foram obtidas.

Amostras de álcool e água foram submetidas às análises de titulação Karl Fisher 870 KF Titrino plus (Metrohm, EUA) para determinação do teor de água. Enquanto que na fase contendo os sólidos solúveis foram determinadas as

quantidades de açúcares solúveis (glicose, frutose, e sacarose) (g/ 100 g purê de banana) por cromatografia líquida de alta eficiência HPLC como descrito no item 4.1.9.

Rafinado

Para o refinado, análise de umidade foi realizada por gravimetria usando estufa à vácuo (MARCONI, mod MA-030, Brasil) a 70 °C, e pressão de ≤ 20 kPa, até peso constante (vide item 4.1.2).

Foi realizada análise de quantidade de açúcares solúveis (glicose, frutose, e sacarose) (g/ 100 g purê de banana) por cromatografia líquida de alta eficiência HPLC como descrito no item 4.1.9.

4.2.4 Extração sólido-líquido assistida por ultrassom (EAU)

Os ensaios de extração assistida por ultrassom foram conduzidos usando um banho ultrassônico (UNIQUE, modelo USC-1850, Brasil) com potência nominal de 154 W e frequência de 25 kHz. Usando os mesmos parâmetros de temperatura (25 e 65) °C e tempos de extração (30, 60 e 90) min empregados na ESL. Entretanto, com base nos resultados obtidos dos ensaios de ESL, fixou-se a razão de 1:5 (g amostra/mL solvente).

Os testes foram realizados segundo a metodologia proposta por Cárcel et al. (2007) e Kikuchi e Uchida (2010). O banho ultrassônico foi revestido com isopor para aproximar condições de um processo adiabático minimizando a transferência de calor através das paredes.

Foram usados 3000 mL (2,9904 kg) de água destilada para preenchimento do banho ultrassônico, após atingir a temperatura de (25 ou 65) °C, o banho foi ligado por 3 min de acordo com Kichuchi e Uchida (2010) para estabilização da temperatura da água no banho, em seguida amostra de purê e etanol em béquer de 600 mL) (devidamente tampada com filme para evitar evaporação do solvente) foi colocada dentro do banho e, posteriormente tampado, enquanto a temperatura, foi registrada em tempo real por um termopar calibrado e com ajuda do software LabVIEW 2010 (National Instruments, USA). Ver Figura (4.4).

Figura 4.4 Esquema do banho ultrassônico com isolamento em isopor. A - Béquero de vidro, B – Mistura (purê e etanol), C – Termopar, D – Gerador ultrassônico, E – Controlador de temperatura, F – Sistema de coleta de dados, G – Transdutores ultrassônicos, H – Aquecedor, I – Suporte em aço inox, J – água, K – Isolamento de isopor.

Fonte: O próprio autor

Todos os tratamentos foram realizados em triplicata para cada temperatura e para cada tempo, para um total de 18 ensaios como mostrado na Tabela 4-3, para serem comparados com os resultados obtidos da extração (ESL) da razão 1:5 (g amostra/mL solvente).

Tabela 4-3 – Ensaios de extração do purê de banana por EAU, na razão de 1:5 g de purê/mL de etanol.

T (°C)	Tempos de extração (min)	Número de tratamentos
25	30	3
	60	
	90	
65	30	3
	60	
	90	

Os extratos e refinados após cada experimento da EAU foram coletados e analisados de igual forma aos experimentos de ESL (item 4.2.3).

Análise estatística

Os fatores razão amostra/solvente, tempo, temperatura e método de extração foram avaliados estatisticamente por meio da Análise da Variância (ANOVA) multifatorial, aplicando o teste de Tukey, para o nível de confiança de 95 %, com o auxílio do *software* Statgraphics Centurion XV (Statpoint, Inc., USA).

4.2.5 Medida da potência volumétrica ultrassônica (W/L)

A quantificação da energia acústica eficaz no meio líquido não significa somente a quantidade de energia elétrica consumida durante o processo, para produzir as vibrações mecânicas. Devido a isso para determinar a influência das ondas ultrassônicas num processo e comparar tratamentos diferentes, é necessário medir a energia ultrassônica real transferida para o meio (CARCEL et al., 2007).

Assim, a intensidade do ultrassom pode ser descrita como a energia elétrica fornecida pelo gerador elétrico para o transdutor piezoelétrico (MASON, LORIMER 2002), e parâmetros como tamanho, geometria ou volume do recipiente, e características do meio (tipo de solução, viscosidade, densidade, e concentração) devem ser considerados (KIKUCHI; UCHIDA, 2011).

Para os cálculos foi usada a técnica de calorimetria, que é uma medida simples e confiável proposta por vários autores (CARCEL et al., 2007; KIKUCHI; UCHIDA, 2011; MASON et al., 2005b; RASO et al., 1999), de acordo com a equação (7).

$$P = mC_p \frac{dT}{dt} \quad (7)$$

P : Potência ultrassônica (W)

m : massa de água ou solvente usado no banho ultrassônico (kg)

C_p : capacidade calorífica da água ou do solvente ($\text{kJ kg}^{-1} \text{K}^{-1}$)

$\frac{dT}{dt}$: variação da temperatura com o tempo (K s^{-1}).

Sendo a potência (P) uma função do tempo, o seu valor médio ($\bar{P}$) pode ser expresso como (THOMAS; FINNEY, 1996):

$$\bar{P} = \frac{1}{t_x} \int_0^{t_x} P(t) dt \quad (8)$$

Sendo t_x uma constante, que representa o tempo total em que a amostra ficou submersa no banho ultrassônico. Levando em conta a primeira lei da termodinâmica a potência instantânea pode ser calculada como:

$$P(t) = mC_p \frac{dT}{dt} \quad (9)$$

Esta medição fornece a potência ultrassônica do sistema (W), no entanto, Knorr (2004) e Carcel et al. (2007) propõem que para sistemas líquidos esta medida deve ser definida como potencia ultrassônica volumétrica (W/L):

$$P_{US} = \left(mC_p \frac{dT}{dt} \right) \frac{1}{V} \quad (10)$$

A massa m e o calor específico C_p da água foram considerados constantes no intervalo de tempo t e calculado com a temperatura da água do banho no início e final do processo.

4.2.6 Balanços de massa para ESL e EAU

Os balanços de massa global e por componentes para as extrações ESL e EAU para todos os tratamentos estudados, foram realizados com as equações (1), (2), e (3) descritas no item 3.4.2.1.

O índice de retenção (R^*) definido como a razão da solução aderida do solvente, o soluto (sólidos solúveis (ss)) e água (w) na matriz sólida e a massa de sólido inerte, equação (11), em que X_R^{ss} e X_R^w são as fração de sólidos solúveis e água no refinado R ao final do processo de extração, respectivamente. X_R^i é a fração de inertes no refinado

$$R^* = \frac{(X_R^{ss} + X_R^w)R}{X_R^i R} \quad (11)$$

4.2.7 Índice de extração

O índice de extração tanto de sólidos solúveis como de água foi proposto neste estudo para avaliar a quantidade de sólidos solúveis extraídos e água presentes no solvente no final da extração, calculados de acordo com a equação (12):

$$IE(\%) = \frac{EX_{E(t)}^y}{FX_F^y} \times 100 \quad (12)$$

Assim tem-se que, E é o extrato no final da extração no tempo (t) e $X_{E(t)}^y$ é a fração de sólidos solúveis ($y = ss$) ou de água ($y = w$) no extrato no tempo (t). F é a quantidade inicial de purê de banana (alimentação) e X_F^y é a fração mássica de sólidos solúveis ou de água presentes no purê de banana no início ($t = 0$).

4.3 Etapa 3: Cinética de extração

A cinética de extração foi estudada para observar a evolução da transferência de massa no tempo e, assim, estabelecer um conjunto otimizado de condições experimentais.

A metodologia foi similar à usada nos processos de extração citados nos itens 4.2.2 e 4.2.4 extração sólido-líquido (ESL) e (EAU), respectivamente. Foram usadas temperaturas de (25 e 65) °C, razões amostra/solvente de (1:3 e 1:5) g/mL e etanol absoluto (Synth, 99,5 mL/100 mL) como solvente.

Purê de banana (40 g) foi pesado diretamente em béquer de vidro de 600 mL usando uma balança semi-analítica (BEL Equipamentos LTDA, mod S3102 Classe II, Brasil). Etanol devidamente pesado na mesma balança, foi adicionado ao purê de banana e, imediatamente, iniciava-se o processo de extração. O tempo total da cinética de extração foi de 90 min, tempo máximo usado no processo de extração da primeira etapa deste trabalho.

A cinética foi realizada em duas partes de coleta de amostras, a primeira parte consistiu em: alíquotas de 1 mL foram coletadas manualmente com seringa plástica de 3 mL nos tempos de (10, 30, 60, 90, 120, 180) s, processo realizado no mínimo em triplicata para um total de 18 amostras para cada ensaio. No tempo de 180 s o processo de extração era finalizado. O extrato era filtrado, como indicado no item 4.2.2

A segunda parte de coleta de amostras consistiu no processo de extração com obtenção de alíquotas de extrato de 1 mL em intervalos de 5 min até o tempo total de 90 min, perfazendo, desta forma um total de 18 amostras para cada ensaio experimental, realizados, no mínimo, em triplicata. Desta forma, foram obtidas 54 amostras por ensaio totalizando 432 amostras. Ao final do processo de extração de 90 min, foi realizada a filtração (item 4.2.2) para a separação das fases extrato e refinado.

As alíquotas de extrato coletadas nas seringas, foram filtradas em filtros plásticos (Unidade Filtrante Milipore, mod Millex Hn membrana em Nylon, Brasil) com tamanho de poro de 25 mm antes de serem depositadas em eppendorfs de 2 mL previamente pesados em balança analítica (YMC, mod JK-200, Japão).

Após filtração, os extratos nos eppendorfs foram pesados na mesma balança analítica e reservados para análise de umidade. Posteriormente as amostras de extrato foram secas em centrifuga SpeedVac (SAVANT Modelo SC210A-120, EUA) à vácuo e temperatura de 45 °C até peso constante, para evaporar o álcool e a água e, assim, obter uma massa seca de sólidos solúveis extraídos reservados para análise (ver item 4.3.1).

A Tabela 4-4 apresenta o número de ensaios realizados no estudo da cinética de ESL e EAU.

Foram estudadas 8 condições operacionais diferentes, em triplicata, no mínimo, totalizando 24 experimentos e 576 amostras coletadas.

Tabela 4-4 Matriz de tratamentos para a cinética de extração da primeira e segunda etapa de intervalos e amostras coletadas em triplicata

Ensaio	razão (g/mL)	T (°C)	Técnica de Extração	Nº amostras coletadas de (0 até 3) min	Nº amostras coletadas intervalos (5 em 5) min até 90 (min)
1	1:3	25	ESL	18	54
2	1:3	65	ESL		
3	1:3	25	EAU		
4	1:3	65	EAU		
5	1:5	25	ESL	18	54
6	1:5	65	ESL		
7	1:5	25	EAU		
8	1:5	65	EAU		
Total amostras coletadas				144	432

4.3.1 Análises das fases extrato e refinado

Extrato

Como mencionado anteriormente, aos extratos de cada alíquota obtida nos diferentes tempos foi determinado o conteúdo de água de acordo com o método de titulação Karl Fisher 870 KF Titrino plus (Metrohm, EAU), em triplicata.

Após secagem dos extratos na centrífuga SpeedVac, os eppendorfs com a massa seca de sólidos solúveis foram pesados na balança analítica e posteriormente reconstituídos em 1 mL de água para medição de sólidos solúveis em (°Brix) por refratômetro de bancada (SAVANT Modelo SC210A-120, EUA).

Rafinado

O refinado obtido após o tempo final do estudo da cinética de extração foi analisado quanto ao teor de umidade por gravimetria usando estufa à vácuo (MARCONI, mod MA-030, Brasil) a 70 °C, e ≤ 20 kPa, até peso constante.

4.3.2 Análise dos polissacarídeos por fracionamento por cromatografia por exclusão de tamanho

Os polissacarídeos foram analisados por cromatografia de exclusão de tamanho de alto desempenho acoplada a um índice de refração e um detector de comprimento de onda múltiplo (HPSEC-RID/ MWD). As análises foram realizadas em um sistema Infinity (Agilent, Santa Clara, CA, EUA) equipado com quatro colunas PL-aquagel-OH (60, 50, 40 e 30; 300 × 7,5 mm) conectadas em série.

Como fase móvel foi utilizada uma solução de nitrito de sódio (0,05 M) com azida sódica (0,2 %), em fluxo constante de 0,8 mL/min. A separação foi monitorada por detector de índice de refração, com célula de fluxo a 35 °C. Os tempos de retenção de padrões de dextranos de *Leuconostoc mesenteroides* (Sigma, EUA), nos tamanhos de (750.000, 410.000, 150.000, 80.000, 50.000, 25.000, 12.500 e 5.000) Da, foram usados para a curva de calibração. Solução de glicose de concentração 1 g/ 100 g solução foi utilizada para indicar o final da separação.

4.3.3 Determinação do conteúdo monossacarídico da parede celular

A composição monossacarídica da parede celular foi determinada após a hidrólise de polímeros não-celulósicos com ácido trifluoroacético (TFA). Cerca de 1 mg de amostra (refinado) foi hidrolisada com 1 mL de 2 M TFA a 120 °C por 60 min. Os hidrolisados foram centrifugados a 2000 x g por 5 min, os sobrenadantes foram transferidos para um novo frasco e 1 mL de álcool butílico terciário foi adicionado.

Essas misturas foram secas sob fluxo de N₂ e depois, suspensas novamente em água deionizada. Posteriormente, 1 mL de 2 M H₂SO₄ foi adicionado ao resíduo da amostra de banana restante e então, as suspensões foram novamente hidrolisadas a 120 °C por mais 90 min e, por fim, neutralizados com uma solução de NaOH 50 mL/100 mL. O conteúdo de açúcares dos hidrolisados de TFA e H₂SO₄ foram determinados por cromatografia líquida (HPAEC-PAD, Dionex), (SHIGA et al., 2011)

4.4 Balanços de massa para cinética de extração

Na Figura 4.5 é mostrado um esquema de como a cinética de extração foi estudada. Os balanços de massa também são descritos, passo a passo, a seguir:

Figura 4.5 – Esquema do processo de cinética de extração nos diferentes tempos

Fonte: O próprio autor

- **Passo 1:** Para $t = 0$ os componentes de cada volume de controle VCI e VCII, são obtidos experimentalmente. No tempo 0, para realizar o balanço, o solvente (S) é considerado o extrato (E_0), da mesma forma o purê de banana (F), é o refinado (R_0), devido que a extração não teve início. Assim as frações mássicas podem ser determinadas para cada componente como descrito a seguir:

▪

<u>VCI:</u>	<u>VCII:</u>
<ul style="list-style-type: none"> - F = massa purê de banana (g). - R = massa refinado (g). - X_{0F}^w = Fração mássica de água no purê de banana. - X_{0F}^{ss} = Fração mássica de sólidos solúveis no purê de banana - $m_{0F}^{ss} = FX_{0F}^y$ = Massa de sólidos solúveis (ss) no purê de banana (g) - $m_{0F}^w = FX_{0F}^w$ = Massa de água no purê de banana (g) 	<ul style="list-style-type: none"> - S = massa de solvente etanol (99,5 mL/100 mL) (g). - E = massa de extrato na fase líquida (g). - X_{0S}^{et} = Fração mássica de etanol (concentração) - X_{0S}^w = Fração mássica de água no solvente. - $m_{0S}^w = SX_{0S}^w$ = Massa de água no solvente (g) - $m_{0S}^{et} = EX_{0S}^{et}$ = Massa de etanol no solvente (g)

Primeiro é realizado o balanço global do processo, como descrito na equação (11):

$$F + S = E_0 + R_0 \quad (13)$$

A alimentação F (purê de banana) é constituída por sólidos solúveis (ss), água (w) e sólidos insolúveis ou fibras (si). O solvente S é composto por etanol (et) de concentração 99,5 g/100 g e água (w).

Os balanços por componentes água (w) e sólidos solúveis (ss) estão descritos na equação (12):

$$FX_{0F}^y + SX_{0S}^y = E_0 X_{0E}^y + R_0 X_{0R}^y \quad (14)$$

Em que $X_{0F}^y, X_{0S}^y, X_{0E}^y, X_{0R}^y$ correspondem às frações mássicas de (ss) ou (w) no purê, no solvente, no extrato e no refinado, respectivamente, sendo y ($y = "w"$ ou " ss ").

$$FX_{0F}^w + SX_{0S}^w = E_0 X_{0E}^w + R_0 X_{0R}^w \quad (15a)$$

$$FX_{0F}^{ss} + SX_{0S}^{ss} = E_0 X_{0E}^{ss} + R_0 X_{0R}^{ss} \quad (15b)$$

▪ **Passo 2:** No tempo 10 s, duas alterações no processo são consideradas para os dois volumes de controle (I e II) destacados na Figura 4.6 (t_1). Para o VC I, é o início da extração, assim ao solvente inicial (E_0) foi transferida uma massa de (ss) e

(w) do purê, resultando no extrato (E_{10}). A segunda alteração é a retirada da alíquota (A1) (g) do extrato para determinação do conteúdo de água e sólidos solúveis. Frações mássicas de (ss) e (w) foram consideradas como as frações mássicas do E_{10} .

Os seguintes dados devem ser obtidos para a construção do balanço de massa no tempo 10 s:

<u>VC I:</u>	<u>VC II:</u>
<ul style="list-style-type: none"> - R_{10} = massa do refinado no tempo 10 s (g). - X_{10R}^w = Fração mássica de água no refinado. - X_{10R}^{ss} = Fração mássica de sólidos solúveis no refinado - $m_{10R}^w = R_{10} X_{10R}^w$ = Massa de água no refinado (g) - $m_{10R}^{ss} = R_{10} X_{10R}^{ss}$ = Massa de sólidos solúveis no refinado (g) 	<ul style="list-style-type: none"> - E_{10} = massa do extrato no tempo 10 s (g). - X_{10E}^{et} = Fração mássica de etanol - $X_{10A1}^w = X_{10E}^w$ = Fração mássica de água no extrato - $X_{10A1}^{ss} = X_{10E}^{ss}$ = Fração mássica de sólidos solúveis no extrato - m_{10E}^{et} = Massa de etanol no extrato (g) - m_{10E}^w = Massa de água no extrato (g) - m_{10E}^{ss} = Massa de sólidos solúveis no extrato

Os balanço nos volumes de controle VC I e VC II estão descritos a seguir:

O balanço global para o extrato (E_{10}) e refinado (R_{10}) no tempo 10 s é representado nas equações (16) e (17), respectivamente:

$$E_0 + m'_{10E} = E_{10} \quad (16)$$

$$R_0 - m'_{10E} = R_{10} \quad (17)$$

Então (m'_{10E}) representa a massa de (ss) e (w) que foi transferida do purê de banana para o solvente aos 10 s de extração:

$$m'_{10E} = m_{10E}^{ss} + m_{10E}^w \quad (18)$$

Cabe ressaltar que a retenção no refinado no final do processo não foi levada em consideração nesta etapa, devido que, a cinética de extração foi estudada para analisar a transferência de massa (transporte do soluto) da fase sólida para fase líquida, e os mecanismos envolvidos (difusão, lavagem, convecção) durante o processo de extração.

Para encontrar a massa de (ss) e (w) que foi transferida, parte-se do princípio que a massa de (ss) e (w) sobre a massa total do extrato no tempo 10 s, representa a fração mássica de cada um dos componentes, y ($y = ss, w$). Considerou-se que as frações mássicas da alíquota são as mesmas frações mássicas do extrato no tempo 10 s ($X_{Al}^y = X_{10E}^y$), portanto, temos:

$$X_{10E}^y = \frac{m_{10E}^y}{E_{10}} = \frac{m_{10E}^y}{E_0 + m_{10E}^y} \quad (19)$$

Assim temos que a incógnita é a massa de cada um dos componentes que se solubilizaram no extrato no tempo 10 s, portanto, isolando o termo temos que:

$$m_{10E}^y = \frac{E_0 \cdot X_{10R}^y}{(1 - X_{10R}^y)} \quad (20)$$

Com o refinado (R_{10}) encontrado usando a equação (17), pode-se determinar a massa de (ss), (w) e inertes (m_f) presentes, onde y ($y = "w" \text{ ou } "ss"$):

$$m_{10R}^y = m_0^y + m_{10E}^y \quad (21)$$

$$m_f = R_{10} - m_{10E}^{ss} - m_{10}^w \quad (22)$$

Por conseguinte, as frações mássicas de (ss) X_{10R}^{ss} e de (w) X_{10R}^w no refinado são calculadas com a equação (23), y ($y = "w" \text{ ou } "ss"$):

$$X_{10R}^y = \frac{m_{10R}^y}{R_{10}} \quad (23)$$

▪ **Passo 3:** No tempo 30 s tem-se as mesmas alterações do processo anterior, ou seja, ao solvente (E_{10}) é transferida uma massa de (ss) e (w) extraídos do purê, denominado então E_{30} , considerando também a retirada da alíquota (A_1) (g) do extrato anterior (E_{10}) para análises.

Os seguintes dados devem ser obtidos para a construção do balanço de massa no tempo 30 s:

<u>VCI:</u>	<u>VCII:</u>
- R_{30} = massa do refinado no tempo 30 s (g).	- E_{30} = massa do extrato no tempo 30 s (g).
- X_{30R}^w = Fração mássica de água no refinado.	- X_{10E}^{et} = Fração mássica de etanol
- X_{30R}^{ss} = Fração mássica de sólidos solúveis no refinado	- $X_{30A2}^w = X_{30E}^w$ = Fração mássica de água no extrato
- $m_{30R}^w = R_{30} \cdot X_{30R}^w$ = Massa de água no refinado (g)	- $X_{30A2}^{ss} = X_{30E}^{ss}$ = Fração mássica de sólidos solúveis no extrato
- $m_{30R}^{ss} = R_{30} \cdot X_{30R}^{ss}$ = Massa de sólidos solúveis no refinado (g)	- m_{30E}^{et} = Massa de etanol no extrato (g)
	- m_{30E}^w = Massa de água no extrato (g)
	- m_{10E}^{ss} = Massa de sólidos solúveis no extrato

Então temos que os balanços nos volumes de controle VC I e VC II estão representados pelas seguintes equações, expressas na forma genérica:

$$E_{(t)} = E_{(t-1)} + m'_{(t)E} - m_{(t-1)A} \quad (24)$$

$$R_{(t-1)} - m'_{(t)E} = R_{(t)} \quad (25)$$

Em que $E_{(t)}$ representa a massa do extrato no tempo. Para o cálculo da massa total dos componentes (ss) e (w) tem-se a seguinte equação, sendo y ($y =$ “w” ou “ss”), considerando que no (E_{10}) foi retirada uma alíquota:

$$m_{(t)E}^y = \frac{(E_{(t-1)} - m_{A(t-1)}) \cdot X_{(t)E}^y}{(1 - X_{(t-1)E}^y)} \quad (26)$$

Os demais componentes podem ser calculados com as equações (21), (22) e (23). Para os demais tempos o procedimento do passo 3 foi repetido.

4.5 Modelagem matemática da cinética de extração

Para modelagem matemática do processo de cinética de extração, foram usados os modelos de Patricelli et al. (1979), e de Peleg (1988), como descritos a seguir:

Patricelli et al. (1979)

A extração de sólidos solúveis do purê de banana madura é baseada na solubilização dos açúcares de baixa massa molar no etanol. O modelo de Patricelli et al. (1979), é baseado em dois processos simultâneos de extração com dois coeficientes cinéticos diferentes. No primeiro, o soluto é removido pela fase de lavagem quando o solvente entra em contato com a matriz sólida, devido à exposição superficial do analito ocasionado geralmente pelo pré-tratamento do sólido (maceração, trituração, quebra, corte etc.). O segundo processo é referido à fase de difusão na qual o soluto remanescente nas células intactas é removido por difusão, as partículas sólidas migram para o solvente.

$$C_t = C_t^w [1 - \exp(-K_w t)] + C_t^d [1 - \exp(-K_d t)] \quad (27)$$

C_t representa a concentração do soluto no extrato para qualquer tempo t durante o processo de extração. No primeiro termo da equação tem-se que, C_t^w representa a concentração do soluto no extrato (g soluto/100 g de solução) na condição de equilíbrio na fase lavagem; e C_t^d é a concentração do soluto no extrato (g soluto/100 g de solução) na condição de equilíbrio na fase de difusão. Os coeficientes de transferência de massa são representados por K_w e K_d (min^{-1}), na fase de lavagem e difusão, respectivamente. Estes valores foram calculados com o método de ajuste não linear usando o *software* Statgraphics Centurion XV (StatPoint, Inc., USA).

Dessa forma, a concentração final de sólidos solúveis no extrato num tempo $t = \infty$, é representado como:

$$C_{t\infty} = C_t^w + C_t^d \quad (28)$$

Modelo de Peleg (1988)

A equação de Peleg (1988) é uma equação não exponencial empírica em que C_t é a concentração do soluto (g ss/g extrato) no tempo t (min), C_0 é a concentração do soluto no tempo $t = 0$ min. O termo C_0 geralmente é omitido na equação de Peleg uma vez que seu valor é zero devido a não presença do soluto no solvente no $t = 0$.

$$C_t = C_0 + \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (29)$$

k_1 é a taxa constante de Peleg ($\text{min}/(\text{g ss/g extrato})^{-1}$), a qual pode ser representada como B_0 ($\text{g ss/g extrato}) \text{ min}^{-1}$:

$$B_0 = \frac{1}{K_1} \quad (30)$$

O parâmetro k_2 de Peleg é a constante de Peleg, o qual permite calcular a constante de equilíbrio (g extrato/g ss), ou seja o máximo valor de extração do processo quando o tempo tende ao infinito, resultando na Equação (31):

$$C_{t \rightarrow \infty} = C_{eq} = \frac{1}{K_2} \quad (31)$$

4.5.1 Avaliação estatística dos modelos matemáticos

Os modelos matemáticos aplicados foram avaliados através do cálculo do erro quadrático médio (RMSE) e o chi-quadrado (χ^2) para determinar a qualidade do ajuste com as curvas experimentais, de acordo com as seguintes equações:

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=0}^N (Cal_i - Exp_i)^2 \right]^{1/2} \times 100 \quad (32)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=0}^N (Cal_i - Exp_i)^2}{N - n} \quad (33)$$

Em que:

Cal_i = fração mássica de sólidos solúveis predita pelo modelo;

Exp_i = fração mássica de sólidos solúveis experimental;

N = número de observações;

n = número de constantes

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Etapa 1: Caracterização da matéria-prima

Os resultados da caracterização físico-química e firmeza das bananas no estágio de maturação 1 (verde) e 2 (madura), são apresentados na Tabela 5-1, comparados com a literatura.

Tabela 5-1 Firmeza, conteúdo de água, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, teor de amido, proteínas e cinzas da banana verde e madura (*Musa cavendishii* var. Nanicão) comparados com dados da literatura.

Característica	Banana verde	Dados da literatura	Banana madura	Dados da literatura
Firmeza (N)	33,06 ± 1,8	25,8 ± 2,4 ^a	1,47 ± 0,19	1,53 ^b
Conteúdo de água (g/100 g)	75,5 ± 0,2	72,6 ± 0,5 ^a	76,21 ± 0,20	75,26 ± 0,01 ^c
Sólidos solúveis (°Brix)	2,8 ± 0,3	3,5 ± 0,8 ^a	23,29 ± 0,25	23,17 ± 0,14 ^c
pH	5,6 ± 0,3	5,3 ± 0,1 ^a	5,28 ± 0,08	5,19 ^b
Acidez titulável (g/100 g)	0,4 ± 0,1	0,37 ± 0,09 ^a	4,54 ± 0,15	3,47 ^b
Teor de amido (g/100 g) (b.s)	64,1 ± 1,6	63,6 ± 2,5 ^a	0,58 ± 0,08	3,47 ± 0,11 ^e
Proteínas (g/100 g) (b.s)	-	-	1,11 ± 0,06	1,25 ± 0,01 ^c
Cinzas (g/100 g) (b.s)	-	-	0,61 ± 0,04	1,44 ± 0,14 ^c

^aTribess (2009)

^bDitchfield (2004)

^cOliveira (2007)

^dDitchfield, Tadini (2002)

^eCordenunsi et al. (2008)

Comparando-se os resultados obtidos para a banana verde neste trabalho e os reportados por Tribess (2009) pode-se observar que são similares, embora o valor da firmeza (33,06 ± 1,8) N tenha sido maior para as bananas usadas como matéria-prima, resultado esperado, devido que, maior valor de firmeza indica que os frutos encontravam-se no estágio de maturação 1 (totalmente verdes).

Segundo Ditchfield, Tadini (2002) o parâmetro de firmeza expresso como força (N) é um indicador do amadurecimento dos frutos, assim como também os sólidos

solúveis (°Brix) que tem um comportamento inversamente proporcional, isto é, quanto mais verdes os frutos menores quantidades de sólido solúveis e o contrario ocorre na firmeza. Valores altos de firmeza de $(33,06 \pm 1,8)$ N também foram encontrados por Rayo et al. (2015) para bananas (*Musa cavendishii* var. Nanicão). Portanto, com os valores de firmeza e teor de amido obtidos, pode-se afirmar que as bananas selecionadas como matéria-prima encontravam-se verdes e no primeiro estágio de maturação.

Quanto ao conteúdo de água maior obtido $(75,5 \pm 0,2)$ g/100 g quando comparado com Tribess (2009) pode estar relacionado à época em que os frutos foram colhidos. La Fuente (2017) observou que para frutos colhidos no verão o conteúdo de água é maior quando comparados com frutos colhidos no inverno. Neste trabalho os frutos foram adquiridos nos meses de fevereiro e março (verão) o que indica o valor de umidade maior. No entanto, para a banana madura, Oliveira (2007) mostra valor similar de $75,26 \pm 0,01$ (g/ 100 g) ao encontrados neste trabalho.

Para a banana madura, os dados de firmeza foram semelhantes aos obtidos por Ditchfield, Tadini (2002), em que o valor de firmeza diminui drasticamente, produto do seu amadurecimento. Segundo Shiga et al. (2011) em estudos do acompanhamento do amadurecimento da banana variedade Nanicão, o decréscimo da firmeza (ver Figura 5.1) está relacionado com a diminuição da quantidade de amido, alterações da parede celular, e consequentemente o aumento dos açúcares solúveis.

Pode-se concluir que as bananas encontravam-se no estágio 8 de maturação (totalmente maduras), após 17 dias de armazenamento à temperatura de (20 ± 2) °C e umidade relativa de (80 - 85) % em câmara climatizada.

5.1.1 Evolução da firmeza e teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento da banana

Na Figura 5.1 é apresentada a evolução da firmeza e do teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento da banana ao longo do período de

armazenamento de 17 dias a temperatura de $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ e umidade relativa de (80 - 85) % em câmara climatizada.

Foi observado um notável decréscimo da firmeza com o decorrer dos dias; esse fenômeno está relacionado à hidrólise do amido em açúcares pela ação conjunta de algumas enzimas (SHIGA et al., 2011). No início da maturação, a banana possui uma quantidade maior de amido em relação aos açúcares, o que oferece a banana verde uma firmeza alta.

Durante o amadurecimento, a quantidade de açúcares aumenta concomitantemente com o decréscimo de amido, o que resulta na progressiva redução da firmeza da banana, tornando a polpa mais macia e flexível. Além disso, a firmeza do fruto também é comprometida pela degradação das pectinas, ocasionada pela ação das enzimas poligalacturase e pectinesterase (OLIVEIRA, 2007; SHIGA et al., 2011).

Figura 5.1 Evolução da firmeza —●— e dos sólidos solúveis —△— da banana ao longo do armazenamento por 17 dias a temperatura de $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ e umidade relativa de (80 - 85) % em câmara climatizada.

Fonte: O próprio autor

5.2 Etapa 2: Processos de extração

5.2.1 Extração sólido-líquido (ESL)

Neste trabalho foram enfrentados vários desafios: o primeiro foi a viabilização de um processo de extração usando solventes permitidos pela FDA (2003), e diminuir o número de etapas de extração usados nos estudos em escala laboratorial por Cordenunsi, Shiga e Lajolo (2008), Sansone et al. (2016), e Shiga et al. (2017a), que pudesse ser reproduzível em escala piloto para o aproveitamento de bananas de refugo (sem valor comercial).

O segundo desafio foi a obtenção de um refinado com uma coloração clara, ou seja, evitar a ação das enzimas presentes na banana e estabelecer a matriz mais adequada para realizar as extrações. Através de ensaios preliminares foi observado que o purê de banana representa a matriz mais homogênea para o processo de extração, uma vez que possui maior área de contato com o solvente.

Foi descartada a possibilidade de realizar o processo de extração usando a banana em rodela ou quadrados e com agitação orbital (simulando o processo realizado em escala laboratório com o uso de centrifugas ou shakers), devido que, a extração é reduzida pela formação de aglomerados que interferem na penetração do solvente (etanol) nas bananas.

A formação de aglomerados foi também verificada por Bernabé (2014), realizando a infusão de bananas cortadas em quadrados em álcool de cereais, e verificou que quando o volume de bananas foi aumentado em contato com álcool, a tendência foi a formação de aglomerados que não permitiram a penetração do solvente, resultando em extrações de baixo rendimento.

A concentração do solvente foi o primeiro parâmetro a ser avaliado a fim de evitar a solubilização de polissacarídeos (fração de PNAs solúveis em água). É de conhecimento por meio de estudos na literatura (ALVES; ALMEIDA E SILVA; GIULIETTI, 2007; BOUCHARD; HOFLAND; WITKAMP, 2007; GIANNOCARO; WANG; CHEN, 2006; GONG; SHANSHAN; HAIBIN, 2011; PERES; MACEDO, 1997;

YAN, 2017) que em misturas de etanol/água conforme aumenta a concentração de etanol a solubilidade de açúcares como glicose, frutose e sacarose diminui, porém este efeito pode ser reduzido com altas temperaturas e outras variáveis, como métodos de extração (agitação, extrações assistidas por ultrassom, pulsos elétricos, entre outros). Esse efeito é devido à alta solubilidade dos açúcares e outros compostos em água, por ser um excelente solvente muito utilizado industrialmente.

Dessa forma, testes preliminares foram conduzidos usando etanol de 80 g/100 g e 99,5 g/100 g de concentração, observando-se que maior solubilidade de açúcares solúveis foi obtida para o etanol de 80 g/100 g em concordância com os autores anteriormente citados com um aumento de 2 g/100 g quando comparado com o etanol de 99,5 g/100 g.

Porém, um fato interessante foi observado após 30 min de extração ESL, a 25 °C, os refinados obtidos das amostras tratadas com etanol 80 g/100 g apresentaram uma coloração marrom indesejável para futura aplicação como ingrediente funcional (Figura 5.2a). Essa coloração é associada à ação enzimática da polifenoloxidase (PPO) na presença de oxigênio, responsável pelo escurecimento do fruto quando este sofre uma ruptura nas células (PEREIRA, 2015).

A cor é um fator importante que influencia o consumidor à aceitação de um produto, especialmente os farináceos, tonalidades mais claras proporcionam um aspecto visual de melhor qualidade (BALHMANN, LANZARINI, 2013).

Figura 5.2 Refinado das amostras tratadas a 25 °C: (a) etanol 80 g/ 100 g, b) etanol 99,5 g/ 100 g.

Fonte: O próprio autor

Em razão disso, foi considerada a ideia de retardar o escurecimento enzimático e trabalhar com uma concentração de etanol de 80 g/100 g, assim foi seguido o método de Tribess et al. (2009), no qual as rodela de banana antes do processo do purê de banana foram imersas em uma solução de ácido cítrico a concentração de 1 g/L, por aproximadamente 1 min, retiradas com peneira e deixadas em coador para retirar o excesso de água, e assim posteriormente obter o purê. Porém, foi observado um decréscimo dos açúcares totais medidos no purê de banana de (23,60 para 21,27) g/100 g e um aumento do conteúdo de umidade de (76,21 para 86,37) g/100 g, o que indicou que parte dos açúcares das rodela de banana imersas na solução aquosa de ácido cítrico a concentração de 1 g/L solubilizaram, com consequente aumento de umidade.

Isso pode ser explicado devido à grande solubilidade de sólidos solúveis em água bem como outros polissacarídeos (GIANNOCCARO; WANG; CHEN, 2006), portanto, esta etapa foi desconsiderada para evitar perdas dos PNAs solúveis em água.

Foi então definida a concentração de etanol de 99,5 g/100 g, para preservação dos PNAs e obtenção do refinado de coloração clara. No estudo de Leirici e Manzocco (2000), foi observada a inativação enzimática da PPO quando a concentração de etanol foi aumentada, e o efeito é independente da temperatura. Portanto, é possível inferir que a concentração de etanol de 99,5 g/100 g inativou as enzimas, permitindo assim a obtenção de um refinado sem coloração marrom quando comparado com o obtido com etanol hidratado a 80 g/100 g.

Na Tabela 5-2 são apresentados os valores dos açúcares solúveis da banana madura *in natura*, empregando as duas metodologias mencionadas.

Tabela 5-2 Açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) obtidos por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), açúcares solúveis totais obtidos pelo método de fenol sulfúrico, e conteúdo de umidade da banana madura *in natura*.

	Conteúdo de umidade (g/100 g)	Açúcares solúveis (g/100 g)				Açúcares solúveis totais (g/100 g)
		Glicose	Frutose	Sacarose	Total	
Banana madura <i>in natura</i>	76,23 ± 0,20	2,64 ± 0,03	2,35 ± 0,04	14,59 ± 0,40	19,58 ± 0,41	21,66 ± 1,24

Os valores obtidos de açúcares solúveis por HPLC (glicose, frutose e sacarose) para a banana madura *in natura* foram similares aos obtidos por Cordenunsi *et al.* (2008) de $(2,34 \pm 0,05; 1,98 \pm 0,22; 15,2 \pm 1,1)$ g/100 g, respectivamente para a variedade Nanicão.

Resultados da massa de açúcares solúveis (g) no extrato, extraídos do purê de banana às temperaturas de 25 °C e 65 °C, na concentração de etanol de 99,5 g/100 g, das diferentes razões amostra/solvente 1:5, 1:7 e 1:10, e tempos de contato de 30, 60 e 90 min são apresentados na Tabela 5-3.

Tabela 5-3 Massa de açúcares solúveis (g) no extrato, extraídos do purê de banana às temperaturas de 25 °C e 65 °C, concentração de etanol de 99,5 g/100 g, razão amostra/solvente 1:5, 1:7 e 1:10 e tempos de contato de 30, 60 e 90 min.

Razão	Temperatura de extração (°C)					
	25			65		
	1:5	1:7	1:10	1:5	1:7	1:10
t (min)						
30	$3,47 \pm 0,16^{aA\alpha}$	$3,12 \pm 0,10^{aA\alpha}$	$3,10 \pm 0,03^{aA\alpha}$	$3,82 \pm 0,04^{bB\alpha}$	$3,70 \pm 0,07^{bB\alpha}$	$3,84 \pm 0,08^{bB\alpha}$
60	$3,49 \pm 0,08^{aA\alpha}$	$3,16 \pm 0,05^{aA\alpha}$	$3,12 \pm 0,13^{aA\alpha}$	$3,85 \pm 0,02^{bB\alpha\beta}$	$3,56 \pm 0,06^{aB\alpha}$	$3,73 \pm 0,05^{bB\alpha\beta}$
90	$3,56 \pm 0,07^{bA\beta}$	$3,19 \pm 0,02^{aA\alpha}$	$3,22 \pm 0,07^{aA\alpha}$	$3,61 \pm 0,17^{aB\beta}$	$3,51 \pm 0,11^{aB\beta}$	$3,22 \pm 0,06^{aA\alpha}$
DMS*	0,46	0,27	0,37	0,11	0,30	0,28

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias com relação ao tempo de exposição.

Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias, em relação à temperatura de extração, para as mesmas razões amostra/solvente.

Letras gregas iguais na mesma linha indicam que não há diferenças significativas ($p>0,05$) entre as médias em relação à razão amostra/solvente na mesma temperatura.

*DMS Diferença mínima significativa pelo Teste de Tukey.

Dos resultados obtidos na Tabela 5-3, observou-se que, a 25 °C não houve diferenças significativas entre as médias de açúcares solúveis para as razões amostra/solvente 1:7 e 1:10 nos tempos de extração estudados. Para a razão 1:5, após 90 min, o maior valor de açúcares solúveis ($3,56 \pm 0,07$) g foi obtido em comparação com às demais razões.

Em relação à quantidade de solvente, e ainda na temperatura de 25 °C, foi observado que o aumento da razão amostra/ solvente de 1:5 para 1:10 não resultou em maior extração dos açúcares solúveis para todos os tempos de extração, ou seja, uma quantidade menor de solvente poderia ser estudada, reduzindo o custo do processo. O mesmo comportamento foi observado para a temperatura de 65 °C.

Em referência à temperatura, valores inferiores de açúcares solúveis foram obtidos a 25 °C quando comparado com os valores 65 °C, para todas as razões amostra/ solvente e todos os tempos de extração, inferindo que o aumento da temperatura pode aumentar a solubilidade dos açúcares solúveis da banana madura no solvente, resultando em uma extração mais efetiva.

Maiores quantidades de açúcares solúveis ($3,85 \pm 0,02$ e $3,61 \pm 0,17$) g, à 65 °C nos tempos de 60 e 90 min, respectivamente foram encontradas para a razão 1:5 (Tabela 5-3). Segundo Giannoccaro, Wang, & Chen, (2006) a influência da temperatura sobre o etanol está relacionada à sua baixa constante dielétrica, portanto, este solvente requer altas temperaturas para aumentar a eficiência no processo de extração de açúcares solúveis.

Resultados similares aos obtidos neste trabalho usando razões amostra/ solvente altos, foram obtidos por Kim, Kim e Hwang (2003). Os autores observaram que, conforme a razão amostra/solvente aumenta, efeitos não significativos foram vistos para a extração de açúcares de farinha de soja usando etanol hidratado à concentração de 80 g/100 g. Ainda notaram que, um aumento da temperatura com menores razões amostra/solvente aumentaram o rendimento da extração. Porém os autores ressaltam que, temperaturas acima de 80 °C podem causar interferência na remoção de açúcares quando a matriz é rica em proteínas ou outros compostos sensíveis termicamente, como amido, entre outros. devido que, quando ocorre degradação de algum composto dentro da matriz sólida, esta impede a saída dos outros compostos alterando a composição química e portanto, diminuiu o rendimento de extração.

Um fator importante que foi observado neste trabalho é que o uso do etanol como solvente permitiu a desidratação do purê de banana, retirando a maior parte da água livre. Para todos os ensaios nas diferentes razões amostra/solvente, temperaturas e tempos de extração foi observado que a quantidade de água presente na banana foi removida apresentando um índice de extração que variou de $(92,57 \pm 1,31) \%$ para todas as razões amostra/ solvente a temperatura de 25 °C e a $(97,85 \pm 1,19) \%$ a 65 °C, o que é esperado devido à alta solubilidade da água no etanol (JOHANSEN et al., 1996) o que ocasionou a desidratação do purê.

Giannocaró, Wang e Chen (2006) observaram que quando a concentração de etanol aumenta (razão solvente/água), pode reduzir a solubilidade em água dos açúcares solúveis presentes na amostra, uma vez que a água promove o processo de extração. Por esta razão, quando a relação amostra/solvente diminuiu, ou seja aumentou a quantidade de solvente, a eficiência do processo foi reduzida.

Um decréscimo no rendimento de extração foi obtido por Charpe e Rathod (2016) na extração de *wedelolactona* (composto orgânico) proveniente da planta *Eclipta alba*, usando etanol e metanol como solventes. Os autores testaram baixas e altas razões de solvente/amostra e determinaram que o aumento da quantidade de solvente não mostrou efeitos significativos no rendimento de extração quando comparado com menores razões solvente/amostra.

Segundo Bouchard, Hofland e Witkamp (2007), quando a quantidade de solvente aumenta em relação à matriz sólida, é produzido um maior gradiente de concentração entre o soluto e o solvente, portanto, a tendência é o aumento da transferência de massa. Porém se uma quantidade suficiente de solvente é disponível para extração, quantidades adicionais não aumentariam o rendimento da extração, pois o soluto já atingiu a sua máxima solubilidade no solvente.

Nesse sentido, notou-se que para todas as extrações o efeito da temperatura foi significativamente positivo, com o aumento da quantidade de açúcares solúveis extraídos; esse aumento foi observado em todos os tempos de exposição, como pode ser observado na Tabela 5-4. ANOVA aplicada aos resultados, mostrou que os principais efeitos no processo de extração foram a temperatura, a razão e o tempo

de extração, assim como suas interações lineares, influenciaram significativamente a extração de açúcares solúveis do purê de banana, exceto a interação entre razão e tempo.

Tabela 5-4 Principais efeitos e interações lineares dos parâmetros de processo obtidos por ANOVA ($p < 0,05$), de açúcares solúveis da banana madura para a ESL.

	Parâmetros	F-valor	p-valor
Efeitos principais	Razão	47,67	<0,0000 [*]
	Temperatura	220,32	<0,0000 [*]
	Tempo	9,25	<0,0017 [*]
Interações	Razão x Temperatura	6,21	<0,0089 [*]
	Razão x Tempo	2,71	0,0633
	Temperatura x Tempo	26,78	<0,0000 [*]
	Razão x Temperatura x Tempo	4,32	<0,0127 [*]

De acordo com Ajila et al. (2011), temperaturas altas usando etanol como solvente, tem um efeito positivo no processo de extração uma vez que pode aumentar o conteúdo de açúcares mono e dissacarídeos no extrato, assim como a quantidade de outros oligossacarídeos e compostos fenólicos presentes no fruto, isto é, devido à diminuição da viscosidade do solvente e aceleração do movimento das moléculas chamado de mobilidade molecular, o que provoca uma maior solubilização dos compostos e um aumento do coeficiente de difusão dos solutos no solvente.

No entanto, estudos demonstraram que o uso de elevadas temperaturas para a extração de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais pode desencadear processos de decomposição ou reações químicas, reduzindo o teor destes compostos no produto final (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006). Segundo Johansen et al. (1996), dependendo do tipo de solvente utilizado e das condições de extração (recipientes fechados ou abertos), as altas temperaturas, próximas ao ponto de ebulição do solvente, podem acarretar perdas por evaporação e assim o rendimento da extração pode ser menor.

Diversos estudos apresentam resultados positivos em relação ao uso de elevadas temperaturas na extração. Vuong et al. (2013) confirmaram que o uso de temperaturas de 70 °C promoveram um aumento do conteúdo de compostos de

baixo grau de polimerização no extrato aquoso das folhas de *Carica papaya* durante o processo de extração sólido-líquido. Resultados com efeito negativo foram obtidos por Cacace e Mazza (2003): temperaturas acima de 35 °C ocasionaram degradação de antocianinas extraídas de groselhas pretas usando etanol como solvente. Considerando os dados da literatura e os resultados obtidos a temperatura mais alta, a extração mais efetiva e a inibição das enzimas que provocam o escurecimento no refinado pode ser alcançada.

Alves et al. (2007) determinaram que os açúcares têm uma maior solubilização em solventes polares devido a presença de hexoses em suas cadeias. Os açúcares apresentam maior solubilidade quando submetidos a temperaturas mais elevadas, assim a da glicose é diretamente proporcional ao aumento da temperatura (40,4 - 74,1) glicose g/100 g solução. Os autores observaram também que, em misturas etanol/água, um aumento da quantidade de etanol em relação à da água diminui a solubilidade da glicose, porém com a elevação da temperatura de 10 °C até 60 °C, a solubilidade aumentou de (4,2 para 36,2) glicose g/100 g solução.

Mediante os resultados obtidos, extrações assistidas por ultrassom foram realizadas, com o objetivo de comparar os resultados de ESL e observar se é possível obter uma quantidade maior de sólidos solúveis, com menor tempo de extração.

5.2.2 Extração assistida por ultrassom (EAU)

Na Tabela 5-5 observa-se que tanto as extrações EAU quanto ESL, realizadas a 25 °C, não promoveram uma extração efetiva dos açúcares solúveis no extrato como desejado. Além disso, na EAU não houve uma tendência clara com relação ao tempo de exposição. Novamente a temperatura mais alta de 65 °C influenciou positivamente o processo de extração, resultando em teores de açúcares solúveis muito superiores aos açúcares obtidos nas extrações a 25 °C. Especificamente na EAU a 65 °C, o tempo de exposição de 30 min resultou na maior quantidade de sólidos solúveis extraída.

Tabela 5-5 Massa de açúcares solúveis no extrato (g), extraídos do purê de banana na ESL, na razão amostra/solvente de 1:5, comparada à obtida na EAU, às temperaturas de 25 °C e 65 °C, concentração de etanol de 99,5 g/100 g, e tempos de exposição de 30, 60 e 90 min.

<i>t</i> (min)	Método de extração	<i>T</i> (°C)	
		25	65
30	ESL	3,47 ± 0,16 ^{aA}	3,82 ± 0,04 ^{bB}
60	ESL	3,49 ± 0,08 ^{aA}	3,85 ± 0,02 ^{bB}
90	ESL	3,56 ± 0,07 ^{bA}	3,61 ± 0,17 ^{aB}
DMS*		0,46	0,11
30	EAU	3,09 ± 0,12 ^{aA}	3,87 ± 0,02 ^{cB}
60	EAU	3,57 ± 0,04 ^{bA}	3,84 ± 0,08 ^{bB}
90	EAU	3,61 ± 0,06 ^{bB}	3,52 ± 0,04 ^{aA}
DMS*		0,17	0,12

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias com relação ao tempo de exposição.

Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias com relação à temperatura de extração, para o mesmo tempo de exposição.

*DMS Diferença mínima significativa pelo Teste de Tukey.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 5-5, tanto as extrações EAU quanto na ESL, realizadas a 25 ° C, resultaram em uma extração menos efetiva dos açúcares solúveis no extrato líquido. Novamente, a temperatura mais alta influenciou positivamente o processo de extração, resultando em maiores quantidades de açúcares solúveis. Nesse sentido, a aplicação de EAU a 65 ° C por 30 min foi a melhor condição para extrair os açúcares solúveis do purê de banana.

A quantidade de açúcares solúveis no extrato líquido, obtido na EAU, conduzida a 65 ° C, diminuiu significativamente ($p<0,05$) com o tempo de extração, devido ao efeito da temperatura sobre o colapso das bolhas, como já discutido.

Na Tabela 5-6, para a extração assistida por ultrassom, são mostrados os valores obtidos experimentalmente para a potência ultrassônica volumétrica (*PU*), de acordo com a temperatura inicial e tempo de exposição empregados.

Tabela 5-6 Potência ultrassônica volumétrica, obtida experimentalmente na extração EAU em diferentes tempos de exposição e a temperatura inicial de 25 °C e 65 °C.

<i>t</i> (min)	<i>T</i> (°C)	<i>PU</i> (W/L)
30	25	13,02 ± 0,03
60	25	13,17 ± 0,46
90	25	13,61 ± 0,28
30	65	8,55 ± 0,16
60	65	8,14 ± 0,14
90	65	8,62 ± 0,32

Valores maiores obtidos à temperatura de 25 °C, quando comparado com a PU para 65 °C, podem ser atribuídos ao fato de que, quando as ondas ultrassônicas estão em contato com a água, um gradiente de temperatura mais elevado é produzido e, conseqüentemente, a potência volumétrica aumenta. Os resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes aos obtidos por La Fuente, Zabalaga e Tadini (2017) de (9,38 ± 0,60) W/L, a 25 °C os quais trabalharam com a mesma potência e frequência.

5.2.3 Índice de extração de sólidos solúveis ESL e EAU

A Figura 5.3 mostra um incremento significativo do índice de extração (IE) para todos os tempos a temperatura de 65 °C. O aumento da temperatura teve efeito positivo no processo de extração, provavelmente devido à redução da viscosidade do solvente e à aceleração do movimento das moléculas (Ajila et al., 2011). Vuong et al. (2013) confirmaram que o uso de temperaturas de 70 °C promoveu um aumento do teor de compostos de baixo grau de polimerização no extrato aquoso de folhas de *Carica papaya* durante o processo de extração sólido-líquido. Porém, o uso de altas temperaturas por um tempo prolongado no processo de extração pode ser um fator negativo especialmente quando tem a presença de açúcares redutores como no caso

Figura 5.3 Índice de extração (IE), expresso como quantidade de açúcares solúveis no extrato líquido (E) em relação à quantidade de açúcares solúveis no purê de banana, após ESL a 25 °C e 65 °C, nas razões amostra/solvente: 1:5 (a); 1:7 (c); 1:10 (d); em comparação com o IE após EAU a 25 °C e 65 °C e 1:5 da razão amostra/solvente (b).

Fonte: O próprio autor

Foi observado também que valores menores de açúcares solúveis foram obtidos no tempo de 90 min para todos os tratamentos. Segundo Plaza, Abrahamsson e Turner (2013) açúcares redutores como a glicose na presença de proteínas e temperaturas acima de 40 °C, e tempos prolongados podem ocasionar reações de Maillard, diminuindo o rendimento de extração de açúcares solúveis. Com os resultados obtidos, pode se afirmar que tempos prolongados de extração poderiam causar reações de Maillard nos extratos após a extração, sendo um fator negativo para o rendimento.

5.2.4 Índice de retenção

O índice de retenção médio calculado para todos os tratamentos de extração em todos os tempos para as duas técnicas de extração ESL e EAU nas duas temperaturas de 25 °C e 65 °C se encontram na Tabela 5-7 a seguir:

Tabela 5-7 Índice de retenção calculado para todos os tratamentos de extração nas razões amostra/ solvente 1:5, 1:7 e 1:10 na ESL e 1:5 para EAU à temperatura de 25 °C e 65 °C.

Técnica ESL						
T(°C)	25			65		
razão	1:5	1:7	1:10	1:5	1:7	1:10
R* (%)	52, 94 ± 15,18	43,37 ± 0,39	42,31 ± 0,29	42,72 ± 1,52	40,84 ± 0,68	41,12 ± 0,36
Técnica EAU						
Razão	1:5			1:5		
R* (%)	43, 41 ± 0,21			40,04 ± 0,57		

Foi observado que o índice de retenção para todas as condições de processo oscila entre 40 e 44 % para todas as condições exceto para 1:5 ESL a 25 °C . O resultado do índice de retenção é um fator importante para o processo de extração o qual deve ser levado em conta para a construção e volume de um extrator em escala industrial assim como na etapa de dessolventização dos refinados.

5.3 Cinética de extração

Com os resultados obtidos do conteúdo de sólidos solúveis das extrações nos diferentes tempos, temperaturas e razão amostra/solvente, foi realizado o estudo de cinética de extração usando a proporção amostra/solvente menor que 1:5 para ESL. Foi considerado o uso de menores razões de solvente para identificar o impacto na extração dos sólidos solúveis e verificar a possibilidade de diminuir a quantidade de solvente para o processo.

Assim foram selecionadas as proporções 1:5 e 1:3, mas vale ressaltar que inicialmente quatro razões amostra/solvente foram testadas (1:4, 1:3, 1:2, 1:1). Foi

encontrado que para a razão 1:4 não houve uma diferença nos resultados quando comparados aos obtidos para a razão de 1:5, portanto, essa proporção não foi considerada. Entretanto, com as proporções 1:2 e 1:1 experimentalmente foi percebido uma mistura homogênea entre o solvente e o purê de banana, não mostrando uma separação de fases (extrato e refinado), dificultando assim a amostragem por alíquotas nos diferentes tempos de extração e a filtração para a obtenção de um extrato contendo os açúcares solúveis. Deste modo, uma proporção menor de amostra/ solvente não é recomendada porque pode resultar tanto numa extração incompleta, como em maiores dificuldades de separação do extrato e o refinado.

Dessa forma, neste trabalho foi considerado que o limite de amostra/solvente para realizar o processo de extração foi a razão de 1:3 (g purê de banana/mL de solvente etanol).

Inicialmente foi realizado o estudo da cinética usando tempos de intervalos de 5 min até 90 min, porém nas curvas de sólidos solúveis em função do tempo não foi possível observar a cinética do início da extração, como pode ser observado na Figura 5.4, o que indicava que a extração ocorreu rapidamente em tempos menores a 5 min. Dessa forma, houve a necessidade de reduzir o tempo de coleta para obter valores do início da extração, com intervalos de 10 s até atingir os primeiros cinco minutos. Desta maneira foram selecionados os tempos de (10, 30, 60, 90, 120 e 180) s para a coleta de amostras do extrato e posterior quantificação de sólidos solúveis.

Após definidos os tempos e a metodologia a ser adotada usando os parâmetros de temperatura, tempo de coleta e razão amostra/solvente, outro desafio foi encontrado. Durante o andamento dos ensaios foi frequente que as triplicatas tiveram que ser repetidas na sua totalidade, devido à dificuldade da coleta de amostras com as seringas, por causa dos pequenos resíduos que obstruíam os filtros causando perda de amostra e, portanto, não havia reprodutibilidade nos resultados obtidos para cada condição. Para diminuir este efeito da filtração, as seringas contendo o extrato eram deixadas na posição vertical até a decantação ocorrer e assim realizar a filtração com o filtro de tamanho de poro 25 mm.

Na Figura 5.4 são apresentados os valores das frações mássicas de sólidos solúveis na fase extrato nas duas razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5, a temperatura de (25 e 65) °C, nos métodos de extração ESL e EAU.

Figura 5.4 Frações mássicas de sólidos solúveis (g ss/g extrato) no extrato obtido a temperatura de extração de 25 °C e 65 °C, nos métodos de extração ESL e EAU, para as razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5.

Pode ser observado na Figura 5.4 que em todos os ensaios, os sólidos solúveis presentes no purê de banana migram rapidamente para o extrato no início do processo de extração, e, então a velocidade de extração diminui, sendo que a condição de equilíbrio foi atingida ao redor dos 5 min para a ESL e em torno de 10 min para a EAU.

Dessa forma, sólidos solúveis migram cada vez menos à medida que o progresso da extração continua. Este fato foi verificado por meio dos balanços de massa realizados onde foi observado que a massa de açúcar se estabiliza e não

migra mais do purê para o extrato. Portanto, o início da extração é significativamente dependente do tempo. O comportamento da rápida extração pode ser atribuído ao fato de que, durante a primeira fase (fase inicial) de extração, quando o solvente entra em contato com o sólido, este penetra rapidamente solubilizando o soluto (sólidos solúveis), e portanto, desenvolve-se um gradiente de concentração extremamente alto, resultando em altas taxas de transferência de massa na fase líquida (CHAN; YUSOFF; NGOH, 2014b).

Resultados similares foram observados por Ho et al. (2005) na extração de compostos solúveis em água (açúcares, ácidos fenólicos, sais minerais entre outros) das flores de *Tilia*, os autores denominaram a fase inicial de extração como o processo de lixiviação onde foi obtida a maior quantidade de compostos quando o solvente entrou em contato com o sólido e rapidamente foi atingido o equilíbrio. Os autores atribuíram a rápida remoção dos compostos à força motriz da água e ao arraste dos compostos que se encontravam na superfície produto da agitação mecânica que produz cortes de cisalhamento nas flores de *Tilia*. Na segunda fase da extração prevalecendo a difusão não foram observados aumentos das quantidades de compostos solúveis.

Assim para este trabalho é observado que a transferência de sólidos solúveis para o solvente no início do processo é muito rápida, e posteriormente ocorre uma diminuição da taxa de transferência de massa até se tornar constante, correspondendo ao rendimento máximo de extração no tempo.

O método de extração teve uma influência na taxa de transferência de massa na fase inicial, efeito percebido com as diferenças do tempo de equilíbrio para os experimentos, este comportamento é explicado devido que, a agitação mecânica promove um aumento da transferência de massa o que não ocorre com as ondas de ultrassom em que o processo ocorre a uma velocidade menor.

À medida que o tempo de extração aumentou, a fração de sólidos solúveis foi se tornando constante como explicado anteriormente, porém a partir de 50 min, quantidades menores foram observadas. Segundo Hatami et al. (2012), a transferência de massa de solutos da fase sólida para o solvente torna-se mais

difícil, causada pela diminuição do gradiente de concentração entre a fase sólida e líquida. Dessa forma, à medida que o tempo de extração continua, a concentração do soluto de interesse na fase sólida também diminui e portanto, a solubilidade da mistura e a taxa de extração diminuem simultaneamente.

De acordo com Baümler, Crapiste e Carelli (2010), o rápido aumento no desempenho da extração na fase inicial do processo de extração é causado pela lavagem dos componentes que se encontram na superfície externa das partículas, que foram quebradas pela aplicação de uma força externa durante a prensagem, trituração ou outros mecanismos que rompem as paredes celulares, permitindo que o analito escape através do sistema de poros em direção ao exterior das partículas para entrar em contato com o solvente. Isso reforça a ideia de que, a extração rápida ocorre primeiro devido à exposição do composto solúvel no solvente e, posteriormente, a segunda etapa ocorre a uma taxa mais lenta devido à difusão do soluto das células intactas.

Resultados similares foram encontrados por El Belghiti e Vorobiev (2004) para a extração de açúcares de beterraba usando água como solvente, à temperatura ambiente avaliando o efeito de diferentes métodos de extração e velocidades de agitação. Os autores concluíram que o uso da agitação mecânica promove a transferência de massa de soluto para o solvente e portanto, a velocidade é maior na fase inicial, porém um efeito reduzido da velocidade de transferência de massa foi encontrado para amostras que não sofriam danos mecânicos na estrutura como por exemplo rodela submersas no solvente. Os autores também observaram que amostras que são submetidas a pulsos elétricos como pré-tratamento sofrem danos nas estruturas celulares permitindo a saída do soluto, efeito similar causado pelo ultrassom.

Por meio da análise de variância (ANOVA) multifatorial, foram analisados os principais efeitos e interações entre temperatura e tempo para as duas razões amostra/solvente 1:3 e 1:5. Foram então observadas diferenças significativas na temperatura em relação às duas frações para os dois métodos de extração, com exceção da ESL para 1:5. Pode ser visto na Figura 5.5 que, na ESL, um aumento da temperatura de 25 °C para 65 °C, na razão 1:3, favorece o aumento da fração de

sólidos solúveis, porém para na razão 1:5 ESL, isso não ocorreu. Outro parâmetro que tem diferença significativa foi o tempo para todas as condições de extração.

Na Tabela 5-8 é apresentado um resumo dos efeitos sobre a fração de sólidos solúveis obtida nos extratos.

Tabela 5-8 Efeitos das variáveis temperatura e tempo para os dois processos de extração ESL e EAU nas duas razões 1:3 e 1:5.

Condição	Efeito	Variáveis	F valor	p-valor
1:3 ESL	Principal	Temperatura (°C)	161,97	<0,0000*
		tempo (min)	247,62	<0,0000*
	Interações	T (°C) * t(min)	2,31	<0,0020*
1:3 EAU	Principal	Temperatura (°C)	8,41	<0,0046*
		tempo (min)	398,29	<0,0000*
	Interações	T (°C) * t(min)	16,94	<0,0000*
1:5 ESL	Principal	Temperatura (°C)	0,01	0,9037
		tempo (min)	133,53	<0,0000*
	Interações	T (°C) * t(min)	2,23	<0,0031*
1:5 EAU	Principal	Temperatura (°C)	51,65	<0,0000*
		tempo (min)	43,64	<0,0000*
	Interações	T (°C) * t(min)	1,20	0,2605

* Efeitos significativos ($p < 0,05$)

Para observar melhor o efeito da interação da temperatura nas duas razões para cada método de extração foram realizados os gráficos de análise de variância (Figura 5.5) uma vez que permitem observar graficamente as interações entre os fatores estudados. Observou-se que o parâmetro temperatura tem uma influência mais forte quando o solvente está em menor quantidade, ou seja na razão de 1:3 na ESL, porém na EAU na mesma razão 1:3 a 25 °C não tem diferença, o que indica que as ondas do ultrassom exercem um papel importante na extração quando comparada com a ESL. No entanto, para a razão 1:5 ESL a temperatura não apresenta efeito significativo mas a interação entre temperatura e tempo sim como foi descrito na Tabela 5-8. Porém para a extração EAU a temperatura mostrou ter um efeito significativo, pode se inferir que maior quantidade de solvente e maior temperatura na EAU tem um efeito na quantidade de sólidos solúveis extraídos.

Figura 5.5 Interações entre o fatores de temperatura e razão amostra/solvente, observadas na fração de sólidos solúveis durante o processo de extração ESL (a), EAU (b).

Para observar melhor os efeitos dos tratamentos de extração nas duas temperaturas de 25 °C e 65 °C, as razões 1:3 e 1:5, a Figura 5.6 é apresentada:

Figura 5.6 Frações mássicas de sólidos solúveis no extrato X_{ss} (g ss/g extrato) obtidas nas ESL e EAU, as temperaturas de (25 e 65) °C e razões amostra/solvente 1:3 (a); e 1:5 (b).

Efeito do ultrassom

Foi observado que a aplicação do ultrassom tem um efeito significativo na temperatura de 25 °C quando a razão é menor (1:3), já para a razão 1:5 uma melhora na extração foi percebida quando houve um aumento da temperatura e do tempo, e consequentemente maiores frações mássicas de sólido solúveis foram

obtidas. Entretanto um fenômeno interessante na EAU para observar na Figura 5.6, foi o decréscimo das frações mássicas a partir de 40 min de extração em ambas razões de 1:3 e 1:5, à temperatura de 65 °C. Segundo Charpe e Rathod (2016), comumente em processos de ESL a solubilidade de um soluto no solvente é diretamente proporcional ao aumento da temperatura, porém na EAU o parâmetro temperatura pode afetar a extração, causada pela mudança nas propriedades físicas do solvente como viscosidade, pressão de vapor, tensão superficial e consequentemente a cavitação quando a temperatura é elevada.

É de conhecimento que a transferência de massa na EAU é atribuída à propagação das ondas de ultrassom que decorrem em fenômenos de cavitação produzindo efeitos mecânicos e químicos no material, como consequência deste fenômeno um aumento da penetração de um solvente no produto ocorre, facilitando assim a saída ou entrada de um soluto nas interfaces sólido-líquido (MASON, 1996a; MEULLEMIESTRE et al., 2016; PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013).

No entanto, o fenômeno de cavitação pode ser afetado pela temperatura. Dezhkunov et al. (2005) observaram que quando o solvente é mantido a uma temperatura baixa, poucas bolhas de cavitação são formadas, mas, estas colapsam com uma relativa elevada intensidade, e, em decorrência deste processo a ruptura celular ocorre gradativamente assim como também a transferência de massa, entretanto, quando a temperatura aumenta, a formação de bolhas continua porém o colapso das mesmas ocorre com menor intensidade, decorrendo em mudanças no rendimento de extração. Dessa forma, os autores determinaram que a atividade de cavitação está determinada pela formação de bolhas que variam com a eficiência de conversão da energia elétrica em ondas de ultrassom no líquido, assim como também a variação da temperatura no processo.

Este efeito também foi observado por Tzanakis et al. (2016), medindo a intensidade de cavitação, usando um sensor cavitômetro em volumes de metal líquido (fundido) submetido a uma potencia de 5 kW e frequência de 17 kHz, e como resultado observaram que a maior intensidade de cavitação atingida no líquido fundido foi em temperaturas mais baixas de fundição (710-720) °C quando comparadas às temperaturas de (760-770) °C. Os autores verificaram que um

aumento em 10 °C da temperatura proporciona intensidades de cavitação mais baixas.

Baseado nos comportamentos das curvas cinéticas e com ANOVA realizada para todas as frações mássicas obtidas no tempo nas condições do estudo 1:3, 1:5, ESL, EAU, 25 e 65 °C, verificou-se que num tempo de 30 min possivelmente pode-se obter o máximo de teor de açúcares. Isso devido a que a partir desse tempo as médias não apresentaram diferença significativa (ver Apêndice A).

Rendimentos de extração (g ss extrato/100 g ss banana) (Tabela 5-9), calculados para o tempo de 30 min, mostraram que a condição de 1:5 ESL, a (25 e 65) °C não apresentaram diferenças significativas quando comparados com a razão menor de 1:3, a (25 e 65) °C e EAU, o que pode sugerir o uso de menor quantidade de solvente uma vez que o ultrassom pode melhorar a extração dos sólidos solúveis da banana. No entanto um maior rendimento de extração foi obtido para o ensaio 8, 1:5 EAU 65°C.

Tabela 5-9 Rendimentos de extração (g ss extrato/ 100 g ss banana) obtidos no tempo de 30 min para todos os tratamentos de extração.

Ensaio	Razão	Método de extração	T (°C)	Rendimento de extração (g ss extrato/ 100 g ss banana)
1	1:3	ESL	25	78,52 ± 0,01 ^a
2	1:3	ESL	65	88,47 ± 2,60 ^b
3	1:3	EAU	25	91,79 ± 1,36 ^c
4	1:3	EAU	65	92,96 ± 2,70 ^c
5	1:5	ESL	25	90,83 ± 1,02 ^c
6	1:5	ESL	65	93,98 ± 1,09 ^{cd}
7	1:5	EAU	25	81,36 ± 2,84 ^e
8	1:5	EAU	65	96,04 ± 3,50 ^d
DMS*				11,76

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias com relação aos diferentes ensaios.

*DMS Diferença mínima significativa pelo Teste de Tukey.

Embora o uso da EAU apresenta bons rendimentos, foi observado um aumento de 4 % e 2 % quando comparado com a ESL as razões de 1:3 e 1:5,

respectivamente, a 65 °C, o que sugere que a ESL convencional extrai os açúcares solúveis com bom rendimento e poderia ser considerado em escala piloto.

Um fator importante para destacar é que o uso do etanol com solvente permitiu a extração da água livre do purê de banana. Este efeito foi observado na cinética de extração da água apresentado na Figura 5.7. A extração da água mostrou ser extremadamente rápida ocorrendo nos primeiros 5 min de extração para todas as condições estudadas. Pode se inferir que a solubilidade dos açúcares nas primeiras etapas do processo de extração pode aumentar devido à saída da água, que pode ajudar a arrastar o soluto até o solvente, dado que a água possui maior solubilidade no etanol comparada com a dos açúcares como descrito por Johansen et al. (1996).

Figura 5.7 Frações mássicas de água X_w no extrato obtido a temperatura de extração de 25 °C e 65 °C, nos métodos de extração ESL e EAU, para as razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5.

5.4 Modelos matemáticos

O modelo de Patricelli et al. (1979), mostrado na Tabela 3-7, foi ajustado aos dados experimentais do estudo da cinética de extração dos sólidos solúveis do purê de banana. Os parâmetros do modelo obtidos (K_w e K_d) – coeficientes de transferência de massa da fase de lavagem e difusão e C_e^w e C_e^d – frações mássicas de sólidos solúveis na condição de equilíbrio para a fase lavagem e difusão, respectivamente) são apresentados na Tabela 5-10, bem como são mostrados os parâmetros do modelo de Peleg.

Na Figura 5.8, são mostradas as curvas de cinética obtidas comparadas aos modelos ajustados.

Tabela 5-10 Coeficientes de transferência de massa e frações mássicas de sólidos solúveis na condição de equilíbrio determinados pelos modelo de Patricelli et al. (1979) e Peleg (1988)

Modelo de Patricelli

Ensaio	Razão	Método de extração	T (°C)	K_w (min ⁻¹)	K_d (min ⁻¹)	C_{ew} (g ss/g extrato)	C_{ed} (g ss/g extrato)	C_e (g ss/g extrato)	r^2	RMSE $\times 10^{-2}$	$\chi^2 \times 10^{-6}$
1	1:3	ESL	25	1,490 $\pm$ 0,161	0,101 $\pm$ 0,021	0,040 $\pm$ 0,002	0,016 $\pm$ 0,002	0,056 $\pm$ 0,004	0,9738	0,19	4,13
2	1:3	ESL	65	7,176 $\pm$ 1,265	0,321 $\pm$ 0,046	0,032 $\pm$ 0,002	0,028 $\pm$ 0,002	0,060 $\pm$ 0,004	0,9724	0,20	4,91
3	1:3	EAU	25	0,192 $\pm$ 0,017	0,200 $\pm$ 0,000	0,038 $\pm$ 0,001	0,028 $\pm$ 0,000	0,065 $\pm$ 0,001	0,9791	0,31	12,1
4	1:3	EAU	65	0,579 $\pm$ 0,218	0,181 $\pm$ 0,233	0,048 $\pm$ 0,027	0,013 $\pm$ 0,027	0,061 $\pm$ 0,054	0,9690	0,33	12,8
5	1:5	ESL	25	4,338 $\pm$ 0,240	0,030 $\pm$ 0,013	0,038 $\pm$ 0,000	0,005 $\pm$ 0,001	0,043 $\pm$ 0,001	0,9778	0,07	0,64
6	1:5	ESL	65	4,035 $\pm$ 0,488	0,035 $\pm$ 0,012	0,037 $\pm$ 0,001	0,008 $\pm$ 0,001	0,045 $\pm$ 0,002	0,9881	0,22	6,01
7	1:5	EAU	25	0,224 $\pm$ 0,039	0,027 $\pm$ 0,018	0,029 $\pm$ 0,004	0,014 $\pm$ 0,003	0,042 $\pm$ 0,007	0,9758	0,13	1,96
8	1:5	EAU	65	0,372 $\pm$ 0,197	0,160 $\pm$ 0,953	0,039 $\pm$ 0,046	0,003 $\pm$ 0,046	0,042 $\pm$ 0,092	0,9730	0,15	2,68

Modelo de Peleg

Ensaio	Razão	Método de extração	T (°C)	K_1 (min. g extrato/g ss)	K_2 (g extrato/g ss)	B_0 (g ss/g extrato min ⁻¹)	C_{eq} (g ss/g extrato)	r^2	RMSE $\times 10^{-2}$	$\chi^2 \times 10^{-6}$
1	1:3	ESL	25	13,71 $\pm$ 0,664	17,60 $\pm$ 0,106	0,073	0,057	0,9752	0,19	4,15
2	1:3	ESL	65	8,99 $\pm$ 0,534	16,55 $\pm$ 0,109	0,111	0,060	0,9647	0,27	8,19
3	1:3	EAU	25	58,84 $\pm$ 4,462	14,05 $\pm$ 0,199	0,017	0,071	0,9680	0,49	26,2
4	1:3	EAU	65	22,88 $\pm$ 1,797	15,76 $\pm$ 0,188	0,044	0,063	0,9513	0,41	18,2
5	1:5	ESL	25	4,31 $\pm$ 0,533	23,72 $\pm$ 0,242	0,232	0,042	0,8948	0,09	0,85
6	1:5	ESL	65	4,92 $\pm$ 0,567	23,50 $\pm$ 0,221	0,203	0,043	0,9158	0,24	6,28
7	1:5	EAU	25	131,07 $\pm$ 9,604	23,01 $\pm$ 0,345	0,008	0,043	0,9704	0,14	2,07
8	1:5	EAU	65	47,83 $\pm$ 3,264	22,23 $\pm$ 0,253	0,021	0,045	0,9686	0,24	6,28

Figura 5.8 Curvas de cinética de extração de sólidos solúveis do purê de banana obtidas experimentalmente, e comparadas aos modelos de Patricelli et al. (1979), e Peleg (1988) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, (25 e 65 °C

Para a cinética de extração dos sólidos solúveis da banana, a predominância da fase de lavagem em relação à fase de difusão foi verificada pelos coeficientes de transferência de massa, apresentando-se assim maiores valores de K_w para todas as condições estudadas, com exceção do ensaio 3 (1:3 EAU 25 °C), em que o valor da transferência de massa na fase difusiva foi 4 % superior em relação a fase de lavagem (Tabela 5-9).

Em relação ao método de extração foi observado que os coeficientes de transferência de massa da fase de lavagem (K_w) foram superiores na ESL (ensaios 1, 2, 5, 6) em relação aos obtidos na EAU (ensaios 3, 4, 7 e 8) para as duas razões 1:3 e 1:5; esse comportamento sugere que na extração EAU a fase de difusão é predominante, observado nas curvas da cinética, em que o equilíbrio é alcançado após 10 min, enquanto que na ESL, ocorre após 5 min.

Para o ensaio 2 (1:3 ESL 65 °C) o valor K_w foi o maior obtido, comportamento também observado anteriormente nas curvas de cinética da Figura 5.6a, o aumento da temperatura exerce maior influência quando uma menor quantidade de solvente é empregada, resultando em maiores valores de fração mássica de sólidos solúveis em relação à temperatura de 25 °C.

Efeito favorável do aumento da temperatura foi verificado por Torun et al. (2015) na extração de sólidos solúveis, compostos fenólicos e flavonoides das folhas de sálvia (*Salvia fruticosa* Miller) usando água como solvente. Porém este efeito foi dependente do tempo de extração, ou seja, a taxa de transferência de massa foi regida na fase difusiva. Dessa forma, para descrever melhor a cinética, os autores aplicaram um modelo matemático de difusão desenvolvido por Spiro e Siddique (1981), obtendo um bom ajuste.

Nas Figuras 5.9 e 5.10 são mostrados os gráficos de paridade entre os dados experimentais e os calculados pelo modelo de Patricelli et al. (1979) e Peleg (1988), respectivamente, para cada um das condições testadas neste trabalho.

Figura 5.9 Diagramas de paridade entre os dados experimentais das frações de sólidos solúveis X_{ss} (g ss/g extrato) e os estimados pelo modelo de Patricelli et al. (1979) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, (25 e 65 °C).

Figura 5.10 Diagramas de paridade entre dados experimentais e teóricos das frações de sólidos solúveis X_{ss} (g ss/ g extrato) obtidos pelo modelo matemático de Peleg (1988) para todas as condições testadas: razões de 1:3 e 1:5, ESL e EAU, 25 e 65 °C.

Observa-se que o modelo de Patricelli apresentou bom ajuste para os ensaios 1, 2, 5, 6, 7 e 8, porém para os ensaios 3 e 4 o modelo não descreve bem a cinética de extração EAU, à razão 1:3, à (25 e 65) °C, pelo seus altos valores de desvio padrão e de RMSE.

Resultados similares foram obtidos por Toda, Sawada e Rodrigues (2016), aplicando o modelo de Patricelli para extração de óleo de soja usando etanol como solvente. Os autores observaram uma predominância da fase lavagem (extração rápida) ocorrendo nos primeiros 1000 s do processo, atingindo o equilíbrio em 3600 s. Esse fato foi atribuído ao coeficiente de transferência de massa ser 13 vezes maior na fase de lavagem em relação à fase de difusão. Os autores verificaram que maiores rendimentos de extração foram obtidos devido ao aumento da temperatura e o tipo de solvente empregado (etanol).

Cheung e Wu (2013) estudaram os parâmetros cinéticos da EAU de polissacarídeos solúveis em água (PSA) de fungos medicinais, e verificaram que grandes quantidades de solvente na EAU diminuíram a solubilidade dos solutos, porém melhores rendimentos foram obtidos em altas temperaturas. A extração foi regida na fase difusiva devido ao tempo prolongado de 80 min, e os dados experimentais foram ajustadas a modelos de difusão, obtendo melhor ajuste com o difusão parabólica ($r^2 > 0,98$) em relação ao da lei de potência ($r^2 > 0,92$). Esses modelos foram testados neste trabalho, porém não se ajustaram aos dados experimentais ($r^2 < 0,40$), confirmando que a fase de lavagem foi a predominante na extração de sólidos solúveis do purê de banana madura.

O modelo de Peleg (1988) tem sido amplamente estudado na área de alimentos (BUCIC-KOJIC et al., 2007; CHARPE; RATHOD, 2016; COLIVET; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016; PELEG, 1988; POOJARY; PASSAMONTI, 2015), porém este modelo se ajusta muito bem quando a extração é regida pela difusão. Apesar da taxa de transferência de massa ser menor no início da extração EAU, valores de $r^2 < 0,97$ e RMSE altos, especialmente para a razão de 1:3, em ambas temperaturas, revelaram que existe uma boa concordância entre os valores experimentais e os preditos de fração de sólidos solúveis pelo modelo de Peleg. Resultados que discordam de alguns autores na literatura.

Os modelos matemáticos de segunda ordem, Peleg e Lei de Fick, foram aplicados por Colivet, Oliveira e Carvalho (2016), para o estudo cinético de ESL de óleo de sementes de melancia, com o solvente etanol, em diferentes temperaturas e razões amostra/solvente. Os autores encontraram que todos os modelos cinéticos mostraram um bom ajuste em relação aos dados experimentais, contudo o modelo de segunda ordem previu melhor o comportamento dos dados, com um alto coeficiente de determinação ($r^2 > 0,964$) o qual permite descrever um processo de extração com predominância na fase de lavagem. O segundo modelo que mostrou um comportamento parecido com os dados experimentais foi o modelo de Peleg ($r^2 > 0,960$) quando comparado com a Lei Fick ($r^2 > 0,850$). O baixo valor deste último permitiu afirmar que a extração foi baseada numa transferência de massa rápida pela lavagem dos solutos num curto período de tempo e depois regido pela fase de difusão a qual ocorre num tempo maior.

Os parâmetros do modelo de Patricelli et al. (1979) foram ajustados aos dados experimentais da água presente no extrato e estão apresentados na Tabela 5-11. Foi observado que a fase de lavagem foi predominante para todos os tratamentos, como esperado, com a saída rápida da água nos primeiros minutos do processo de extração. Porém, nos ensaios 2, 7 e 8 o modelo de Patricelli foi ajustado aos dados usando só a primeira parte da equação, uma vez que usando a segunda parte (parte difusiva), não resultou em bom ajuste.

Tabela 5-11 Coeficientes de transferência de massa e frações mássicas de água na condição de equilíbrio determinados pelo modelo de Patricelli et al. (1979)

Modelo de Patricelli extração da água											
Ensaio	Razão	Método de extração	T (°C)	K_w (min ⁻¹)	K_d (min ⁻¹)	C_{ew} (g w/g extrato)	C_{ed} (g w/ g extrato)	C_e (g w/ g extrato)	r^2	RMSE	χ^2
1	1:3	ESL	25	11,446 ± 0,861	0,270 ± 0,021	0,166 ± 0,003	0,074 ± 0,003	0,240 ± 0,006	0,9923	0,0042	2,1×10 ⁻⁵
2	1:3	ESL	65	9,676 ± 1,241	-	0,232 ± 0,002	-	0,232 ± 0,002	0,8916	0,0163	3,2×10 ⁻⁴
3	1:3	EAU	25	0,745 ± 0,179	0,182 ± 0,000	0,155 ± 0,045	0,085 ± 0,044	0,239 ± 0,089	0,9815	0,0055	3,6×10 ⁻⁵
4	1:3	EAU	65	2,618 ± 0,221	0,276 ± 0,060	0,180 ± 0,009	0,064 ± 0,009	0,244 ± 0,019	0,9892	0,0035	1,4×10 ⁻⁵
5	1:5	ESL	25	1,339 ± 0,060	0,005 ± 1,003	0,157 ± 0,002	0,001 ± 0,078	0,158 ± 0,080	0,9820	0,0051	3,1×10 ⁻⁵
6	1:5	ESL	65	8,758 ± 0,628	0,689 ± 0,047	0,100 ± 0,003	0,063 ± 0,003	0,163 ± 0,007	0,9956	0,0020	4,7×10 ⁻⁶
7	1:5	EAU	25	0,742 ± 0,033	-	0,160 ± 0,001	-	0,160 ± 0,001	0,9654	0,0072	6,2×10 ⁻⁵
8	1:5	EAU	65	1,258 ± 0,046	-	0,161 ± 0,001	-	0,161 ± 0,001	0,9784	0,0058	3,97×10 ⁻⁵

5.5 Caracterização das frações polissacarídicas

Com a finalidade de observar o impacto na composição de polissacarídeos presentes nos refinados, foi avaliado o perfil molecular com relação à massa molar e a sua distribuição pela cromatografia de exclusão (HPSC). A partir dos resultados cromatográficos pode se observar os efeitos do método e das condições de extração sobre a quantidade remanescente das frações moleculares nos refinados. Estas análises foram realizadas para cada uma das condições de cinética estudadas e os resultados são apresentados na Figura 5.11.

Figura 5.11 Cromatogramas da fração solúvel em água obtida dos refinados após extração: ESL, razão 1:3 e 1:5, 25 °C e 65 °C (a); EAU, razão 1:3 e 1:5, 25 °C e 65 °C (b)

Segundo Cordenunsi et al. (2008), na banana madura “*in natura*” podem ser encontradas duas frações de massa molar, uma contendo entre (60-290) kDa e a de alta massa molar que pode variar de (290-7300) kDa. Foi observado que após os processos de extração estas frações de massa molar diminuíram, inferindo que a EAU pode ter degradado as cadeias poliméricas presentes na banana (Figura 5.11). A fração de baixa massa molar apresentou valores iguais 6 kDa para todas as condições, indicando que houve uma remoção de carboidratos de baixa massa molar como monossacarídeos e dissacarídeos. No entanto variações são observadas nas frações de alta massa molar.

Diaz, Anthon e Barret (2007) verificaram que com o aumento da temperatura ocorrem quebras de ligações das moléculas causando o aumento da solubilização de algumas substâncias como as pectinas. Isto demonstra que amostras que foram aquecidas, os refinados após solubilizados em água (procedimento realizado para a análise de HPSC) podem apresentar-se em maior quantidade. Entretanto, quantidades menores das frações de alta massa molar na EAU em ambas razões de 1:3 e 1:5 foram observadas.

Resultados similares foram obtidos por Zhang et al. (2016) que observaram que tempos prolongados do uso de ultrassom em extração de polissacarídeos provenientes de cebolinha chinesa, provocam a degradação dos polissacarídeos presentes na matriz sólida e conseqüentemente um menor rendimento na extração. Segundo os autores este efeito foi atribuído pela alta intensidade da energia ultrassônica, em altas temperaturas, causando uma ruptura nas cadeias ramificadas liberando seus monômeros.

Dessa forma, pode se inferir que extrações com rendimentos altos podem ser atingidos com o uso do ultrassom, porém em tempos não prolongados, fator que pode ser negativo neste trabalho devido a que o objetivo é preservar os polissacarídeos nos refinados obtidos.

Figura 5.12 Distribuição molar do conteúdo monossacarídico dos refinados após extrações nas condições estabelecidas de 1:3 e 1:5; ESL e EAU; 25 °C e 65 °C

Apesar das frações de baixa e alta massa molar terem diminuído como observado na Figura 5.11. Nos refinados, quanto ao conteúdo monossacarídico, foram observadas quantidades de glicose, seguidas de ácidos galacturônicos, manose, arabinose, xilose e galactose. Assim é possível inferir que essas frações monossacarídicas encontradas nos refinados após extração no purê de banana podem ser compostas por polissacarídeos do tipo β -glicanos, xilomananos, glucomananos, arabinogalactanos e arabinoxilanos, como descrito por Shiga et al. (2017).

Segundo Duan et al. (2008) a fração de PNs solúveis em água das bananas (*Musa spp.*) triploides (AAA) como a *Musa cavendishii* L., são compostas principalmente por monossacarídeos como galactose, ácidos galacturônicos, manose, glicose e frutose, frações molares comumente encontradas na polpa quando os frutos se encontram maduros. A galactose e os ácidos galacturônicos pertencem ao grupo das pectinas que são de grande importância no fruto, devido a que são uns dos principais componentes da parede celular primária e da lamela média no tecido vegetal do fruto.

Observando os resultados da Figura 5.12, a distribuição molar de galactose e de ácidos galacturônicos, obtidos nos refinados, foi similar para todos os tratamentos, o que sugere que a parede celular da banana após a extração dos açúcares solúveis não foi alterada e que ainda existe quantidade de pectina nos refinados.

A cromatografia de exclusão e a determinação do conteúdo monossacarídico são análises qualitativas que mostram o efeito dos processos sobre a composição dos refinados quanto à massa molar e fração molar de monossacarídeos. Porém para verificar o tipo de polissacarídeo presente no refinado, sugere-se como trabalho futuro análises de ligações glicosídicas como descrito por Shiga et al. (2017) para identificar de forma mais detalhada, sendo esta uma análise mais complexa que poderia mostrar melhores resultados.

6 CONCLUSÕES

A extração sólido-líquido (ESL) com agitação mecânica e assistida por ultrassom (EAU) permitiu a remoção de sólidos solúveis do purê de banana madura nas condições estudadas. E tanto a temperatura quanto o tempo foram as variáveis de maior efeito significativo sobre a extração dos açúcares solúveis da matriz nos dois métodos de extração (ESL e EAU).

Maiores quantidades de solvente (razões de 1:7 e 1:10) resultaram em menores rendimentos de extração de açúcares solúveis, expressos como índice de extração (IE). As melhores condições para extrair açúcares solúveis das bananas maduras foram a razão de 1:5, temperatura de 65 ° C e tempo de 30 min na ESL.

Os métodos ESL e EAU com etanol alcançaram valores satisfatórios de índices de extração acima de 85 %, o que poderia sugerir sua aplicação em escala piloto sem múltiplos passos de processo.

O uso da EAU também mostrou benefícios na obtenção dos açúcares solúveis. Porém tempos maiores de exposição pode provocar degradação da matriz sólida observada com a fração de massa molecular reduzida. Essa redução sugere que houve quebra das cadeias poliméricas, efeito que pode ser negativo para este trabalho, devido que o objetivo é preservar o refinado com um conteúdo de PNAs para seu uso potencial como ingrediente funcional.

Os altos coeficientes de transferência de massa obtidos com bom ajuste pelo modelo matemático de Patricelli indicam que a ESL foi regida pela fase de lavagem dos sólidos solúveis, com aproximadamente 85 % da extração dos sólidos solúveis no extrato. No entanto para o modelo de Peleg não houve uma boa concordância entre os valores experimentais e os valores preditos dos sólidos solúveis, dessa forma, pode se inferir que a extração não é regida pela difusão ocorrendo a máxima extração nos primeiros 15 min do processo.

Os extratos obtidos mostraram concentrações altas de açúcares solúveis como glicose, frutose e sacarose que são amplamente empregados na indústria como adoçante ou para processos de fermentação e obtenção de álcool.

O uso do etanol a 99,5 g/100 g pode ser viável para a remoção de açúcares solúveis da banana madura nas condições estudadas neste trabalho. A razão mínima de amostra/solvente que deve ser usada é 1:3 para a EAU para rendimentos similares ao obtidos a razão 1:5 em extrações ESL e EAU.

É possível a obtenção de um produto (refinado) que poderia representar uma excelente fonte de polissacarídeos não amiláceos similares à fibra alimentar, sem a presença de açúcares solúveis, que poderia ser usado como ingrediente funcional com potencial imunomodulatório, como reportado na literatura, a partir de bananas em estágios avançados de maturação sem valor comercial.

7 CONTINUIDADE DO TRABALHO

- Realizar experimentos de aumento de escala com a finalidade de validar os parâmetros estudados em escala laboratório.
- Análise de ligações glicosídicas nos refinados obtidos para determinar o tipo de polissacarídeo não amiláceo, para verificar o efeito dos métodos de extração, razão amostra/solvente, temperatura e tempo de extração, e baseado nos resultados a sua possível aplicação como ingrediente funcional.
- Baseado nos resultados obtidos realizar uma avaliação econômica da ESL e EAU, nas diferentes condições descritas neste trabalho para conhecer os custos de manufatura da obtenção de açúcares solúveis da banana madura e sua possível extração em escala piloto ou industrial. Assim como a avaliação do tempo de retorno do investimento.
- Aplicação dos parâmetros do processo de extração estudados neste trabalho para outras frutas nas quais o uso de solvente água não possa ser usado para extrair açúcares solúveis e avaliar o impacto da quantidade da água presente na amostra para verificar se tem efeitos similares aos obtidos na banana madura.
- Avaliar a utilização dos refinados como ingrediente funcional em preparações alimentícias para um possível consumo humano. Da mesma forma, avaliação dos açúcares solúveis como uma possível fonte de fermentação para obtenção de álcool, ou para seu uso como adoçante em diferentes preparações.
- Testar temperaturas no intervalo de 25 e 65 °C e observar o impacto na extração dos açúcares solúveis e nos PNAs dos refinados após o processo de extração.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADACHI, Y.; OHNO, N.; OHSAWA, M.; OIKAWA, S.; YADOMAE, T. Change of biological activities of (1---3)-beta-D-glucan from *Grifola frondosa* upon molecular weight reduction by heat treatment. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 38, n. 2, p. 477–81, fev. 1990.
- AGUILERA, J. M. Solid-Liquid Extraction. In: LIADAKIS, G., TZIA, C. **Extraction Optimization in Food Engineering**. CRC Press, New York, USA, 2003, cap 2.
- AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* - Liberation and extraction of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1071–1080, 2011.
- AKEMI, T. T.; SAWADA, M. M.; RODRIGUES, C. E. Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: Experimental data and modeling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 1–10, 2016.
- AKRAMIENE, D.; KONDROTAS, A.; DIDZIAPETRIENE, J.; KEVELAITIS, E. Effects of beta-glucans on the immune system. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 43, n. 8, p. 597–606, 2007.
- ALUPULUI, A.; CALINESCU, I.; LAVRIC, V. Ultrasonic vs. Microwave extraction intensification of active principles from medicinal plants. **Chemical Engineering Transactions**, 2009.
- ALVES, L. A.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; GIULIETTI, M. Solubility of D-glucose in water and ethanol/water mixtures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 6, p. 2166–2170, 2007.
- AMARNI, F.; KADI, H. Kinetics study of microwave-assisted solvent extraction of oil from olive cake using hexane. Comparison with the conventional extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 2, p. 322–327, 2010.
- ANDERSON, J. W.; BAIRD, P.; DAVIS JR, R. H.; FERRERI, S.; KNUDTSON, M.; KORAYM, A.; WATERS, V.; WILLIAMS, C. L. Health benefits of dietary fiber. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 4, p. 188–205, 1 abr. 2009.
- ASP, N. G. Nutritional importance and classification of food carbohydrates. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, n. 3, p. 679S-681S, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL**. 17 ed. USA: AOAC (Official Method 977.10), 2000.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (method 945.06), 2006
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**, Gaithersburg, Maryland., 1995.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BAILEY, R. W. Structural carbohydrate. In: Butler, G.W.; Bartey, R.W. **Chemistry and Biochemistry of Herbage**. Academic Press, London, 1973, p. 157-211.

BALHMANN, L. C.; LANZARINI, L. C. **Estudo reológico e físico-químico das farinhas de trigo destinadas à panificação produzidas em moinhos da região de Francisco Beltrão**. 2013. 32 f. Monografia (Trabalho de conclusão de curso superior Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; IBARZ, A. Solid-liquid extraction. In: IBARZ, A; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Unit Operations in Food Engineering**. CRC Press, Boca Raton, FL, 2003, p. 773-810.

BAÜMLER, E. R.; CRAPISTE, G. H.; CARELLI, A. A. Solvent Extraction: Kinetic Study of Major and Minor Compounds. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 87, n. 12, p. 1489–1495, 2010.

BERK, Z. Extraction. In: BERK, Z. **Food Process Engineering and Technology**. USA: Academic Press, 2009, cap. 11, p. 260-277.

BERMUDEZ-AGUIRRE, D. Ultrasound Introduction. In: BERMUDEZ-AGUIRRE, D. **Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation**. Elsevier, Academic Press, 2017, p. 15-19.

BERNABÉ, B. M. **Estudo da cinética de extração alcoólica durante o processamento de licor de banana**. 2014. 87 f. Dissertação (mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014

BOUCHARD, A.; HOFLAND, G. W.; WITKAMP, G. J. Properties of sugar, polyol, and polysaccharide water-ethanol solutions. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 5, p. 1838–1842, 2007.

BRENNAN, J. G.; GRANDINSON, A. S.; LEWIS, M. J. Separation in Food Processing. In: BRENNAN, J. G. **Food Processing Handbook**. Ed Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA 2006, cap. 14, p. 452-460.

BRUSOTTI, G.; CESARI, I.; DENTAMARO, A.; CACCIALANZA, G.; MASSOLINI, G. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 218–228, 2014.

BUCIC-KOJIC, A.; PLANINIC, M.; TOMAS, S.; BILIC, M.; VELIC, D. Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 236–242, 2007.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. **Journal of Food Engineering**, v. 59, n. 4, p. 379–389, 2003.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **The Analyst**, v. 126, n. 7, p. 1182–1193, 2001.

CAPRITA, R.; CAPRITA, A. Methodology for extraction of soluble non-starch polysaccharides and viscosity determination of aqueous extracts from wheat and barley. **Lecture Notes in Electrical Engineering**, v. 170 LNEE, p. 275–284, 2013.

CAPRITA, R.; CAPRITA, A.; JULEAN, C. Biochemical Aspects of Non-Starch Polysaccharides. **Animal Science and Biotechnologies**, v. 43, n. 1, p. 368–375, 2010.

CARCEL, J. A.; BENEDITO, J.; ROSSELLO, C.; MULET, A. Influence of ultrasound intensity on mass transfer in apple immersed in a sucrose solution. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 2, p. 472–479, 2007.

CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, J. V.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 200–207, 2012.

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, v. 3, n. 1, p. 1–30, 1993.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de fruteiras tropicais: abacaxizeiro, maracujazeiro, mangueira, bananeira e cacaueiro**. In: Nobel S. A. São Paulo: Câmara Brasileira do Livro, 1997.

CASTRO-ALVES, V. C.; DO NASCIMENTO, J. R. O. Polysaccharides from raw and cooked chayote modulate macrophage function. **Food Research International**, v. 81, p. 171–179, 2016a.

CASTRO-ALVES, V. C.; DO NASCIMENTO, J. R. O. Speeding up the Extraction of Mushroom Polysaccharides. **Food Analytical Methods**, n. January, 2016b.

CAVALCANTI, N. R. **Extração de antocianinas de resíduo de jabuticaba (*myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática**. 2013. 235 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

CHAN, C. H.; YUSOFF, R.; NGOH, G. C. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, 2014.

CHARPE, T. W.; RATHOD, V. K. Kinetics of ultrasound assisted extraction of wedelolactone from *eclipta alba*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 33, n. 4, p. 1003–1010, 2016.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**. Anais, 2011

CHEN, G. T.; MA, X. M.; LIU, S. T.; LIAO, Y. L.; ZHAO, G. Q. Isolation, purification and antioxidant activities of polysaccharides from *Grifola frondosa*. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 61–66, 2012.

CHEN, Y.; GU, X.; HUANG, S. QUAN; LI, J.; WANG, X.; TANG, J. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 4, p. 429–435, 2010.

CHEUNG, Y. C.; WU, J. Y. Kinetic models and process parameters for ultrasound-assisted extraction of water-soluble components and polysaccharides from a medicinal fungus. **Biochemical Engineering Journal**, v. 79, p. 214–220, 2013a.

CHEUNG, Y. C.; WU, J. Y. Kinetic models and process parameters for ultrasound-assisted extraction of water-soluble components and polysaccharides from a medicinal fungus. **Biochemical Engineering Journal**, v. 79, p. 214–220, 2013b.

CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. **Feed Milling International**, p. 13–26, 1997.

COLIVET, J.; OLIVEIRA, A. L.; CARVALHO, R. A. Influence of the bed height on the kinetics of watermelon seed oil extraction with pressurized ethanol. **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 187–195, 2016.

CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Starch Breakdown during Banana Ripening: Sucrose Synthase and Sucrose Phosphate Synthase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 43(2), 347–351, 1995

CORDENUNSI, B. R.; SHIGA, T. M.; LAJOLO, F. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore and Nanicão). **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 1, p. 26–31, 2008.

CUMMINGS, J. H.; ROBERFROID, M. B.; ANDERSSON, H.; BARTH, C.; FERRO-LUZZI, A.; GHOOS, Y.; GIBNEY, M.; HERMANSEN, K.; HERMONSEN, K.; JAMES, W. P.; KORVER, O.; LAIRON, D.; PASCAL, G.; VORAGEN, A. G. A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health. Paris Carbohydrate Group. **European journal of clinical nutrition**, v. 51, n. 7, p. 417–23, jul. 1997a.

CUMMINGS, J. H.; ROBERFROID, M. B.; ANDERSSON, H.; BARTH, C.; FERRO-LUZZI, A.; GHOOS, Y.; GIBNEY, M.; HERMANSEN, K.; JAMES, W. P. T.; KORVER, O.; LAIRON, D.; PASCAL, G.; VORAGEN, A. G. S. A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health. **European journal of clinical nutrition**, v. 64, p. 334, 1997b.

CUMMINGS, J. H.; STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **European journal of clinical nutrition**, v. 61 Suppl 1, p. S5–S18, 2007.

DA SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016.

DA-MOTA, V. M.; PALAU, E. Acoustic drying of onion. **Drying technology**, v. 17, n. 5, p. 855–867, 1999.

DANESI, P. R. Solvent Extraction Kinetics. In: RYDBERG, J.; COX, M.; MUSIKAS, C.; CHOPPIN, G. R. **Solvent Extraction Principles and Practice, Revised and Expanded**. 2nd Ed, Marcel Dekker, Inc, New York, USA, 2004.

DEZHKUNOV, N. V.; FRANCESCUTTO, A.; CIUTI, P.; STURMAN, F. Temperature dependence of cavitation activity at different ultrasound intensities. **Russian Acoustical Society**, p. 74–77, 2005.

DIAZ, J. V.; ANTHON, G. E.; BARRETT, D. M. Nonenzymatic Degradation of Citrus Pectin and Pectate during Prolonged Heating: Effects of pH, Temperature, and Degree of Methyl Esterification. **Food and Bioproducts Processing**, v. 82, n. 3, p. 226–230, 2007.

DIBERT, K.; CROS, E.; ANDRIEU, J. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data. **Journal of Food Engineering**, v. 10, p. 199–214, 1989.

DITCHFIELD, C. **Estudo do processamento contínuo do purê de banana (*Musa cavendishii* Lamb.)**. 2004. 268 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

DITCHFIELD, C.; TADINI, C.C. Acompanhamento do processo de amadurecimento da banana Nanicao (*Musa cavendishii* Lamb.). In: **XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2002. Porto Alegre. Disponível em <<http://sites.poli.usp.br/pqi/lea/docs/cbcta2002h.pdf>>. Acesso em 28 Jan 2014.

DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Application of ultrasound-assisted acid leaching procedures for major and trace elements determination in edible seaweed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Talanta*, v. 66, n. 4, p. 937–942, 2005.

DOU, J.; MENG, Y.; LIU, L.; LI, J.; REN, D.; GUO, Y. Purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from thinned-young apple. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 31–40, 2015.

DUAN, X.; CHENG, G.; YANG, E.; YI, C.; RUENROENGKLIN, N.; LU, W.; LUO, Y.; JIANG, Y. Modification of hemicellulose polysaccharides during ripening of postharvest banana fruit. **Food Chemistry**, v. 111, p. 144–149, 2008.

EL BELGHITI, K.; VOROBIEV, E. Mass Transfer of Sugar from Beets Enhanced by Pulsed Electric Field. **Food and Bioproducts Processing**, v. 82, n. 3, p. 226–230, 2004.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Agropecuária. **Banana**. 2008. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/Abertura.html>>. Acesso em 13 Fev. 2014.

ENGLYST, H. N.; HUDSON, G. J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry**. Anais, 1996

ENGLYST, K. N.; ENGLYST, H. N.; HUDSON, G. J.; COLE, T. J.; CUMMINGS, J. H. Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycemic response. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 448–454, 1999.

FAGGION, H. **Equilíbrio e cinética em processo de extração de solúveis da erva-mate por compressão cíclica**. f 88. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

FAN, H.; MAZZA, G.; LIAO, X. Purification, composition and antioxidant activity of polysaccharides from wolfberry, cherry, kiwi and cranberry fruits. **Croatian Journal of Food Science Technology**, v. 2, n. 1, p. 9–17, 2010.

FDA. US. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry. 2003. Disponível em <<http://www.fda.gov/cder/guidance>>. Acesso em 13 Jan. 2015.

FERREIRA, R. S. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. *Journal of Food Engineering*, v. 54, p. 263–269, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION of the United States (FAO). Carbohydrates in human nutrition. Rome, Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and

Nutrition Paper No.66. USA, 1998. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/W8079E/w8079e07.htm>, Acesso em: 4 Jul. 2016

FRANÇA, L. F.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the extraction of carotene and lipids from pressed palm oil (*Elaeis guineensis*) fibers using supercritical CO₂. **The journal of supercritical fluids**, v. 18, p. 35–47, 2000.

FRANCO, S.; SINEIRO, J.; PINELO, M.; NUÑEZ, M. J. Ethanolic extraction of *Rosa rubiginosa* soluble substances: Oil solubility equilibria and kinetic studies. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 150–157, 2007.

FREITAS, J.; DE ANDRADE, N. J.; MOTA, A.; DANTAS, M. C.; STRINGHETA, P. C.; PAES, J. B. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, v. 45, n. November, p. 36–50, 2014.

FUENTE, C. I. A. LA; TADINI, C. C. Unripe Banana Flour Produced by Air-Drying Assisted with Ultrasound – Description of the Mechanisms Involved to Enhance the Mass Transfer in Two Approaches. **International Journal of Food Engineering**, 2017.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport processes and separation process principles: includes unit operations**. 4th ed. Nova Jersey, USA: Prentice Hall editors, 2003. p. 1009.

GIANNOCCARO, E.; WANG, Y.-J.; CHEN, P. Effects of Solvent, Temperature, Time, Solvent-to-Sample Ratio, Sample Size, and Defatting on the Extraction of Soluble Sugars in Soybean, **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. C59-C64, 2006.

GIOVANNONI, J. Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 52, p. 725–749, 2001.

GONÇALVES, D. V. **Interplântio de variedades de bananeira como prática de controle de sigatoka**. 2006. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Genética e Melhoramento de Plantas)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal/SP, 2006.

GONG, X.; SHANSHAN, W.; HAIBIN, Q. Solid-Liquid Equilibria of D-Glucose, D-Fructose and Sucrose in the Mixture of Ethanol and Water from 273.2 K to 293.2 K *. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 2, p. 217–222, 2011.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Metabolism of Carbohydrates, and Formation of Adenosine Triphosphate In: HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. Elsevier, Saunders, Philadelphia, 2011, p. 829-839.

HATAMI, T.; CAVALCANTI, R.; TAKEUCHI, T.; MEIRELES, M. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from *Macela* (*Achyrocline satureioides*) flowers: Kinetic, experiments and modeling. **Journal of supercritical fluids**, v. 65, p. 71–77, 2012.

HO, Y. S.; HAROUNA-OUAROU, H. A.; FAUDUET, H.; PORTE, C. Kinetics and model building of leaching of water-soluble compounds of *Tilia* sapwood. **Separation and Purification Technology**, v. 45, n. 3, p. 169–173, 2005.

HOLDERNESS, J.; SCHEPETKIN, I. A.; FREEDMAN, B.; KIRPOTINA, L. N.; QUINN, M. T.; HEDGES, J. F.; JUTILA, M. A. Polysaccharides isolated from açai fruit induce innate immune responses. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011a.

HOLDERNESS, J.; SCHEPETKIN, I. A.; FREEDMAN, B.; KIRPOTINA, L. N.; QUINN, M. T.; HEDGES, J. F.; JUTILA, M. A. Polysaccharides isolated from Acai fruit induce innate immune responses. **PLoS One**, v. 6, n. 2, p. e17301, 2011b.

HOLTMAN, K. M.; OFFEMAN, R. D.; FRANQUI-VILLANUEVA, D.; BAYATI, A. K.; ORTS, W. J. Countercurrent extraction of soluble sugars from almond hulls and assessment of the bioenergy potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 2490–2498, 2015.

HUGH, Y.; FREEDMAN, R. A. **Ondas mecânicas**. Em: Física Universitaria –SEARS ZEMANSKY. 12 Ed. Addison-Wesley, p. 510-584, 2009.

IWASAWA, H.; YAMAZAKI, M. Differences in biological response modifier-like activities according to the strain and maturity of bananas. **Food science and technology research**, v. 15, n. 3, p. 275–282, 2009.

IZYDORCZYK, M. **FOOD CARBOHYDRATES Chemistry, Physical Properties, and Applications**. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC, 2005.

IZYDORCZYK, M. Understanding the chemistry of food carbohydrates In: CUI, S. **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties and Applications**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2005, p. 9-411.

JEDDOU, K. BEN; CHAARI, F.; MAKTOUF, S.; NOURI-ELLOUZ, O.; HELBERT, C. B.; GHORBEL, R. E. Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels. **Food Chemistry**, v. 205, p. 97–105, 2016.

JOHANSEN, H. N.; GLITS, V.; ERIK, K.; KNUDSEN, B.; GLITSØ, V. Influence of Extraction Solvent and Temperature on the Quantitative Determination of Oligosaccharides from Plant Materials by High-Performance Liquid Chromatography Influence of Extraction Solvent and Temperature on the Quantitative Determination of Oligosaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 6, p. 1470–1474, 1996.

JOUPPILA, K. Mono- and Disaccharides, Selected Physicochemical and Functional Aspects In: ELIASSON, A-C. **Carbohydrates in Food**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2017, p. 37-84.

KADAM, S. U.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P. Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 20, p. 4667–4675, 2013.

KADAM, S. U.; TIWARI, B. K.; SMYTH, T. J.; O'DONNELL, C. P. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 23, p. 308–316, 2015.

KAUFMANN, B.; CHRISTEN, P. Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 2, p. 105–113, 2002.

KELLY, G. S. Larch arabinogalactan: Clinical relevance of a novel immune-enhancing polysaccharide **Alternative Medicine Review**, 1999.

KIKUCHI, T.; UCHIDA, T. Calorimetric method for measuring high ultrasonic power using water as a heating material. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 279, p. 12012, 2011.

KIM, S.; KIM, W.; HWANG, I. K. Optimization of the extraction and purification of oligosaccharides from defatted soybean meal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 337–342, 2003.

KLEJDUS, B.; LOJKOV, L.; PLAZA, M.; NBLOV, M.; TERBOV, D. Hyphenated technique for the extraction and determination of isoflavones in algae: Ultrasound-assisted supercritical fluid extraction followed by fast chromatography with tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 51, p. 7956–7965, 2010.

KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D. U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends Food Science Technology**, v. 15 p. 261–266, 2004.

KNUDSEN, I. M. High-performance liquid chromatographic determination of oligosaccharides in leguminous seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 37, n. 6, p. 560–566, 1986.

KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKAR, H. P. S.; DE BOECK, G.; BECKER, K. Dietary Roles of Non-Starch Polysaccharides in Human Nutrition: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 10, p. 899–935, 2012.

KUMARI, B.; TIWARI, B. K.; HOSSAIN, M. B.; BRUNTON, N. P.; RAI, D. K. Recent Advances on Application of Ultrasound and Pulsed Electric Field Technologies in the Extraction of Bioactives from Agro-Industrial By-products. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1–19, 2017.

KURITA, O.; FUJIWARA, T.; YAMAZAKI, E. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate polymers**, v. 74, n. 3, p. 725–730, 2008.

LA FUENTE, C. I. A.; ZABALAGA, R. F.; TADINI, C. C. Combined effects of ultrasound and pulsed-vacuum on air-drying to obtain unripe banana flour. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 44, p. 123–130, 2017.

LA FUENTE, C. I. **Efeito combinado do ultrassom e do pulso de vácuo sobre a cinética de secagem da banana verde (*Musa cavendishii*)**. 2017. 141 f. Tese (Doutorado em ciências) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), 2017.

LERICI, C. R.; MANZOCCO, L. Biological Activity of Ethanol in Relation to its Vapour Pressure. Note 1: Inactivation of Polyphenoloxidase in Model Systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, n. 8, p. 564–569, 2000.

LII, C.-Y.; CHANG, S.-M.; YOUNG, Y.-L. Investigation of the Physical and Chemical Properties of Banana Starches. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 5, p. 1493–1497, 1982.

LINS E. Princípios de Ultrassom. Aula-material pedagógico online. Universidade Federal do ABC. Brasil, 2013. Disponível em: <http://ebm.ufabc.edu.br/wp-content/uploads/2013/11/Aula-07_Ultrassonografia.pdf> Acesso em: 7 Nov. 2016.

LIVESEY, G. Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. **Nutrition research reviews**, v. 16, n. 2, p. 163–191, 2003.

LOPEZ, O. C. **Estudio de la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad en sistemas sólido-líquido y sólido-gas. Influência en la cinética de transporte de matéria y en la estrutura de los productos**. 2013. 318 f. Tese (Doutorado em Ciencia e Tecnologia e

Gestão Alimentaria) – Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España, 2013.

LOVEGROVE, A.; EDWARDS, C. H.; DE NONI, I.; PATEL, H.; EL, S. N.; GRASSBY, T.; ZIELKE, C.; ULMUS, M.; NILSSON, L.; BUTTERWORTH, P. J.; ELLIS, P. R.; SHEWRY, P. R. Critical Reviews in Food Science and Nutrition Role of polysaccharides in food, digestion, and health Role of polysaccharides in food, digestion, and health. 2015.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound: A powerful tool for leaching TrAC - **Trends in Analytical Chemistry**, 2003.

MAFART, P.; BÉLIARD, E. Extracción. In: MAFART, P.; BÉLIARD, E. **Ingeniería Industrial Alimentaria. Vol II. Técnicas de Separación**. España: Acribia S.A, 1992, cap. 2, p. 29-75.

MARTENS, L. A. C.; NETTO, O. M. M.; FALSETTI, P. E.; OTTENGUY, I. S. M. **Obtenção de polissacarídeos não amiláceos da banana madura por extração sólido-líquido**. 2017. 97 f. Monografia (Trabalho de conclusão de curso em projeto de Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), 2017.

MASON, T. J.; PETERS, D. Dosimetry of ultrasonic systems. In: MASON, T. J.; PETERS, D. **Practical Sonochemistry: Power Ultrasound Uses and Applications**. 2nd Ed, Woodhead Publishing, Cambridge, United Kingdom, 2002

MASON, T. J.; RIERA, E.; VERCET, A.; LOPEZ-BUESA, P. **Application of Ultrasound**. In: **Emerging Technologies for Food Processing**. Elsevier, 2005. p. 323–351.

MASON, T. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 3, n. 3, p. S253–S260, 1996.

MASON, T.; LORIMER. Introduction to applied ultrasonics. In: MASON, T.; LORIMER. **Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Coventry, UK, 2002, p. 1-24.

MEDINA, J. C.; BLEINROTH, E. W.; MARTIN, Z. J. de; TRAVAGLINI, D. A.; OKADA, M.; QUAST, D. G.; HASHIZUME, T.; MORETTI, V. A.; BICUDO NETO, L. de C.; ALMEIDA, L. A. S. B.; RENESTO, O. V. **Banana: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas: ITAL, p. 302, 1985.

MEDINA, V. M.; PEREIRA, M.E.C. Pós-colheita. In: BORGES, A.L.; SOUZA. L. da S. **O Cultivo da Bananeira**. Cruz das Almas-Ba: EMBRAPA Mandioca e fruticultura, 2004, v. 1, p. 209-231.

MENEZES, E. W.; GIUNTINI, E. B.; DAN, M. C. T.; LAJOLO, F. M. New information on carbohydrates in the Brazilian Food Composition Database. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 446–452, 2009.

MENG, X.; LIANG, H.; LUO, L. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities **Carbohydrate Research**, 2016.

MEULLEMIESTRE, A.; PETITCOLAS, E.; MAACHE-REZZOUG, Z.; CHEMAT, F.; REZZOUG, S. A. Impact of ultrasound on solid-liquid extraction of phenolic compounds from maritime pine sawdust waste. Kinetics, optimization and large scale experiments. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 28, p. 230–239, 2016.

MOHAN, M.; NAIK, P. K.; BANERJEE, T.; GOUD, V. V.; PAUL, S. Solubility of glucose in tetrabutylammonium bromide based deep eutectic solvents: Experimental and molecular dynamic simulations. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 168–177, 2017.

MOURA, L. S. **Obtenção por extração supercrítica do extrato de Funcho (*Foeniculum vulgare*): determinação das isotermas de rendimento global, de parâmetros cinéticos e do equilíbrio de fases**. 2004. 141 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

NELSON, C. S.; PLOETZ, R. C.; KEPLER, K. A. Musa species (banana and plantain) Musaceae (banana family). In: **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**, v. 2.2, 2006. Disponível em: <www.traditionaltree.org>. Acesso em 22 Fev. 2012

NUHU, A. A. Bioactive Micronutrients in Coffee: Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification. **ISRN Nutrition**, v. 2014, p. 1–13, 2014.

OLIVEIRA, M. **Efeito da composição química, origem e graus de maturação sobre a cor e a crocância da banana nanica obtida por secagem HTST**. f 111. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

PATRICELLI, A.; ASSOGNA, A.; CASALAINA, A.; EMMI, E.; SODINI, G. Fattori che influenzano l'estrazione dei lipidi da semi decorticati di girasole. **Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v. 56, p. 151-154, 1979.

PELEG, M. An Empirical Model for the Description of Moisture Sorption Curves. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, p. 1216–1217, jul. 1988.

PEREIRA, A. G. **Estudos dos parâmetros de extração de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* da banana (*Musa sp*)**. 129 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2015.

PEREIRA, B. M. R.; DA SILVA, B. P.; PEREIRA, N. A.; PARENTE, J. P. Anti-inflammatory and immunologically active polysaccharides of *Periandra mediterranea*. **Phytochemistry**, v. 54, n. 4, p. 409–413, 2000.

PEREIRA, G. C.; PRADO, M. J.; MEIRELLES, A. A. J.; MEIRELLES, A. M. A.. Extração sólido-líquido. In: TADINI, C.C.; TELIS, N. V. R.; MEIRELLES, A. A. J.; PESSOA FILHO, A. P. **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos Vol II**. Brasil: LTC Livros Técnicos e Científicos Editora, 2016, cap. 18, p. 167-208.

PERES, A.; MACEDO, E. Measurement and modeling of solubilities of D-glucose in water/alcohol and alcohol/alcohol systems. **Industrial & engineering chemistry**, v. 36, p. 2816–2820, 1997.

PEREZ, E. E.; CARELLI, A. A.; CRAPISTE, G. H. Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane. 2011.

PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 593–606, 2013.

PLAZA, M.; ABRAHAMSSON, V.; TURNER, C. Extraction and neoformation of antioxidant compounds by pressurized hot water extraction from apple byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, n. 23, p. 5500–5510, 2013.

POOJARY, M. M.; PASSAMONTI, P. Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling. *Food Chemistry*, v. 173, p. 943–950, 2015.

PRADO, J. M.; FOLLEGATTI-ROMERO, L. A.; FORSTER-CARNEIRO, T.; ROSTAGNO, M. A.; MAUGERI FILHO, F.; MEIRELES, M. A. A. Hydrolysis of sugarcane bagasse in subcritical water. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 86, p. 15–22, 2014.

PRINGET, D.; FABIANO-TIXIER, A-S.; CHEMAT, F. Ultrasound-Assisted Extraction. In: ROSTAGNO, M. A.; PRADO, J. M.; KRAUS, G. A. **Natural Product Extraction: Principles and applications**. RCS, Cambridge, UK, 2013, cap. 3, p. 89-112.

RABEN, A.; MACDONALD, I. A.; FOGELHOLM, M. Health aspects of Mono - and Disaccharides In: ELIASSON, A-C. **Carbohydrates in Food**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2017, p. 93-125.

RAMBERG, J. E.; NELSON, E. D.; SINNOTT, R. A. Immunomodulatory dietary polysaccharides: A systematic review of the literature *Nutrition Journal*, v. 9, p. 2-22, 2010.

RASO, J.; MAÑ, P.; PAGÁN, R.; SALA, F. J. Influence of different factors on the output power transferred into medium by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 5, p. 157–162, 1999.

RAYO, L. M.; CHAGURI E CARVALHO, L.; SARDÁ, F. A. H.; DACANAL, G. C.; MENEZES, E. W.; TADINI, C. C. Production of instant green banana flour (*Musa cavendishii*, var. Nanicão) by a pulsed-fluidized bed agglomeration. *LWT - Food Science and Technology*, v. 63, n. 1, p. 461–469, 2015.

RIBEIRO, D. A. **Produção de banana ‘Nanicão’ (Musa SP. AAA) em clima Cwa**. 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração Fitotecnia) -Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

RIERA-FRANCO, DE SARABIA, E.; GALLEGO-JUÁREZ, J. A.; RODRÍGUEZ-CORRAL, G.; ACOSTA-APARICIO, V. M.; ANDRÉS-GALLEGOS, E. Application of high-power ultrasound for drying vegetables. *Revista de acustica*, v. 33, p. 1–6, 2002.

ROSELLO-SOTO, E.; PARNIAKOV, O.; DENG, Q.; PATRAS, A.; KOUBAA, M.; GRIMI, N.; BOUSSETTA, N.; TIWARI, B. K.; VOROBIEV, E.; LEOVKA, N.; BARBA, F. J. Application of Non-conventional Extraction Methods: Toward a Sustainable and Green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Engineering Reviews*, n. February 2016, 2015.

SAEED, F.; PASHA, I.; MUHAMMAD ANJUM, F.; TAUSEEF SULTAN, M. Critical Reviews in Food Science and Nutrition Arabinoxylans and Arabinogalactans: A Comprehensive Treatise Arabinoxylans and Arabinogalactans: A Comprehensive Treatise. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 51, p. 467–476, 2011.

SALLEH-MACK, S. Z.; ROBERTS, J. S. Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 14, n. 3, p. 323–329, 2007.

SANSONE, M. **Avaliação do perfil imunomodulador de frações polissacarídicas não-amido isoladas de banana**. 2017. 159 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

SANSONE, M.; SANSONE, A. C. M. B.; SHIGA, T. M.; NASCIMENTO, J. R. O. DO. The water-soluble non-starch polysaccharides from bananas display immunomodulatory properties on cultured macrophages. **Food Research International**, v. 87, p. 125–133, 2016.

SARDÁ, F. A. H.; GIUNTINI, E. B. Carboidratos. In: COZZOLINO, S. M.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológica da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**, Manole, Brasil, 2013.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K. M.; LATHA, L. Y. EXTRACTION , ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PLANTS ' EXTRACTS Institute for Research in Molecular Medicine (INFORM), Universiti Sains Malaysia , Minden 11800 ,. Afr J Tradit Complement AlternMed., v. 8, n. 1, p. 1–10, 2011.

SCOTT, K. P.; DUNCAN, S. H.; FLINT, H. J. Dietary fibre and the gut microbiota. **Microbial Ecology**, p. 201–211, 2008.

SHIGA, T. M.; CARPITA, N. C.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI-LYSENKO, B. R. Two banana cultivars differ in composition of potentially immunomodulatory mannan and arabinogalactan. *Carbohydrate Polymers*, v. 164, p. 31–41, 2017.

SHIGA, T. M.; PERONI-OKITA, F. H. G.; CARPITA, N. C.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Polysaccharide composition of raw and cooked chayote (*Sechium edule* Sw.) fruits and tuberous roots. *Carbohydrate Polymers*, v. 130, p. 155–165, 2015.

SHIGA, T. M.; SOARES, C. A.; NASCIMENTO, J. R.; PURGATTO, E.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Ripening-associated changes in the amounts of starch and non-starch polysaccharides and their contributions to fruit softening in three banana cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 8, p. 1511–1516, 2011.

SILVA, J. S. G. **Respostas biométricas, ecofisiológicas e nutricionais em genótipos diploides de bananeira (Musa spp) submetidos à salinidade**. 2007. Tese (Doutorado em Botânica, área de concentração em Taxonomia, Fisiologia e Ecologia dos Ecossistemas do Nordeste) Fisiologia Vegetal e Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife/PE, 2007.

SLAVIN, J.; SLAVIN, J.; GREEN, H. Dietary fibre and satiety. **British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin**, v. 32, p. 32–42, 2007.

SO, G. C.; MACDONALD, D. G. Kinetics of Oil Extraction from Canola (Rapeseed). **The Canadian Journal Of Chemical Engineering**, v. 64, n. 1, p. 80-86,1986.

SPIRO, M.; JAGANYI, D. Kinetics and equilibria of tea infusion. Part 10-The composition and structure of tea scum. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 351–357, 1994.

SPIRO, M.; SIDDIQUE, S. Kinetics and equilibria of tea infusion: Kinetics of extraction of theaflavins, thearubigins and caffeine from Koonsong broken pekoe. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 32, n. 11, p. 1135–1139, 1981.

STEVENS, G. W.; PERERA, J. M. Kinetics of solvent extraction processes. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review**, v. 17, n. 4, p. 205–226, 1997.

SU, C. H.; LAI, M. N.; NG, L. T. Effects of different extraction temperatures on the physicochemical properties of bioactive polysaccharides from *Grifola frondosa*. **Food Chemistry**, v. 220, p. 400–405, 2017.

SUSLICK, K. S.; CASADONTE, D. J.; GREEN, M. L. H.; THOMPSON, M. E. Effects of high intensity ultrasound on inorganic solids. **Ultrasonics**, v. 25, n. 1, p. 56–59, 1987.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA-USP). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tbca/>>. Acesso em: 23 Out. 2017.

TAKEUCHI, T.; PEREIRA, C.; BRAGA, M.; MAROSTICA, M.; LEAL, P.; MEIRELES, A. Low pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted and ultrasound assisted) from condimentary plants. In: MEIRELES, A. **Extracting bioactive compounds for Food Products: Theory and applications**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2009, p. 140-171.

TORUN, M.; DINCER, C.; TOPUZ, A.; SAHIN-NADEEM, H.; OZDEMIR, F. Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves. **Journal of Food Science Technology**, v. 52, n. 5, p. 2797-2805, 2015.

TRIBESS, T. B.; HERNÁNDEZ-URIBE, J. P.; MÉNDEZ-MONTEALVO, M. G. C.; MENEZES, E. W.; BELLO-PEREZ, L. A.; TADINI, C. C. Thermal properties and resistant starch content of green banana flour (*Musa cavendishii*) produced at different drying conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 1022–1025, 2009.

TZANAKIS, I.; LEBON, G. S. B.; ESKIN, D. G.; PERICLEOUS, K. Investigation of the factors influencing cavitation intensity during the ultrasonic treatment of molten aluminium. **Materials and Design**, v. 90, p. 979–983, 2016.

VAN PUTTEN, R-J. **Experimental and modelling studies on the synthesis of 5-hydroxymethylfurfural from sugars**. Tese (Doutorado em Ciências)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Groningen, Países Baixos, 2015.

VUONG, Q. V.; HIRUN, S.; ROACH, P. D.; BOWYER, M. C.; PHILLIPS, P. A.; SCARLETT, C. J. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. **Perspectives in Medicine**, v. 3, n. 3, p. 104–111, 2013.

WROLSTAD, R. E. Classifying, Identifying, Naming, and Drawing Sugars and Sugar Derivatives. In: Food Carbohydrate Chemistry. First edit ed. IOWA,: John Wiley & Sons, **Inc. and Institute of Food Technologists**, 2013. p. 1–21.

XU, H.; YAO, L.; SUN, H.; WU, Y. Chemical composition and antitumor activity of different polysaccharides from the roots of *Actinidia eriantha*. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 2, p. 316–322, 2009.

XUN, Y. Short-Chain Polysaccharide Analysis in Ethanol–Water Solutions. **Journal of AOAC International**, v. 100, n. 4, p. 1134-1136, 2017.

YAN, X. Short-Chain Polysaccharide Analysis in Ethanol–Water Solutions. *Journal of AOAC International*, v. 100, n. 4, p. 1134–1136, 1 jul. 2017.

ZAKHAROV, F. Fruits Ripening and Quality Relationships. Aula-material pedagógico online. University of California, Davis. USA, 2013. Disponível em: <http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-2494.pdf> Acesso em: 15 Jun. 2014

ZENEBON, O.; PASCUET, N.S. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos do Instituto Adolfo Lutz**. 4a ed, Brasília: IAL - Instituto Adolfo Lutz, p. 1018, 2005.

ZHANG, P; WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; HAMAKER, B. R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 443-458, 2005.

ZHANG, S.; LI, W.; SMITH, C. J.; MUSA, H. Cereal-Derived Arabinoxylans as Biological Response Modifiers: Extraction, Molecular Features, and Immune-Stimulating Properties Cereal-Derived Arabinoxylans as Biological Response Modifiers: Extraction, Molecular Features, and Immune-Stimulating Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v. 55, n. 8, p. 1035–1052, 2015.

ZHANG, Z.; KONG, F.; NI, H.; MO, Z.; WAN, J. B.; HUA, D.; YAN, C. Structural characterization, α -glucosidase inhibitory and DPPH scavenging activities of polysaccharides from guava. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 106–114, 2016.

APENDICE A

ANOVA das frações mássicas de sólidos solúveis Xss (g ss/g extrato) no extrato para extração ESL e EAU, temperatura de (25 e 65) °C, razões amostra/solvente de 1:3 e 1:5.

Condição	1:3 ESL		1:3 EAU		1:5 ESL		1:5 EAU	
T (°C)								
t (min)	25	65	25 °C	65 °C	25 °C	65 °C	25 °C	65 °C
0	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
0,167	0,0167 ± 0,001 ^b	0,0238 ± 0,003 ^b	0,0022 ± 0,000 ^a	0,0048 ± 0,000 ^b	0,0207 ± 0,002 ^b	0,0230±0,003 ^b	0,0013 ± 0,0002 ^b	0,0024 ± 0,001 ^b
0,5	0,0216 ± 0,002 ^b	0,0330 ± 0,003 ^c	0,0041 ± 0,000 ^a	0,0116 ± 0,000 ^c	0,0330 ± 0,003 ^c	0,0292±0,003 ^c	0,0032 ± 0,000 ^c	0,0053 ± 0,002 ^b
1	0,0316 ± 0,002 ^c	0,0389 ± 0,003 ^d	0,0046 ± 0,000 ^a	0,0158 ± 0,001 ^d	0,0365 ± 0,003 ^d	0,0348±0,003 ^d	0,0053 ± 0,0005 ^c	0,0120 ± 0,001 ^c
1,5	0,0396 ± 0,001 ^d	0,0424 ± 0,001 ^e	0,0080 ± 0,001 ^b	0,0332 ± 0,001 ^e	0,0376 ± 0,003 ^e	0,0386±0,001 ⁱ	0,0071 ± 0,001 ^c	0,0175 ± 0,002 ^d
2	0,0417 ± 0,001 ^d	0,0460 ± 0,001 ^f	0,0152 ± 0,001 ^c	0,0428 ± 0,003 ^f	0,0382 ± 0,003 ^e	0,0383±0,001 ^h	0,0120 ± 0,0037 ^d	0,0225 ± 0,003 ^e
3	0,0439 ± 0,002 ^f	0,0504± 0,001 ^g	0,0356 ± 0,002 ^d	0,0462 ± 0,002 ^f	0,0403± 0,001 ^f	0,0374±0,001 ^g	0,0124 ± 0,0039 ^e	0,0267 ± 0,003 ^f
5	0,0450 ± 0,002 ^f	0,0541 ± 0,002 ^h	0,0443 ± 0,006 ^d	0,0501 ± 0,002 ^g	0,0400 ± 0,000 ^f	0,0367±0,002 ^f	0,0248 ± 0,0048 ^f	0,0354 ± 0,004 ^g
10	0,0497 ± 0,002 ^g	0,0554 ± 0,001 ⁱ	0,0580 ± 0,003 ^e	0,0590 ± 0,001 ⁱ	0,0407 ± 0,000 ^f	0,0381±0,001 ^h	0,0317 ± 0,006 ^h	0,0398 ± 0,002 ^h
15	0,0543 ± 0,004 ^h	0,0550 ± 0,004 ⁱ	0,0632 ± 0,003 ^e	0,0585 ± 0,004 ⁱ	0,0406 ± 0,000 ^f	0,0412±0,004 ^j	0,0333 ± 0,0072 ^h	0,0393 ± 0,003 ^h
20	0,0554 ± 0,003 ^h	0,0574 ± 0,005 ^j	0,0643 ± 0,003 ^e	0,0619 ± 0,002 ⁱ	0,0402 ± 0,000 ^f	0,0385±0,005 ^j	0,0346 ± 0,0038 ^h	0,0391 ± 0,002 ^h
25	0,0557 ± 0,002 ^h	0,0555 ± 0,001 ^j	0,0642 ± 0,003 ^e	0,0625 ± 0,003 ⁱ	0,0408 ± 0,000 ^f	0,0432±0,001 ^{jk}	0,0382 ± 0,006 ⁱ	0,0400 ± 0,002 ^h
30	0,0552 ± 0,003 ^h	0,0608 ± 0,002 ^j	0,0642 ± 0,003 ^e	0,0632 ± 0,002 ⁱ	0,0411 ± 0,001 ^e	0,0437±0,002 ^{jk}	0,0366 ± 0,0038 ⁱ	0,0419 ± 0,001 ^h
35	0,0549 ± 0,002 ^h	0,0598 ± 0,002 ^j	0,0674 ± 0,001 ^e	0,0646 ± 0,002 ⁱ	0,0412 ± 0,001 ^e	0,0396±0,002 ^j	0,0368 ± 0,0014 ⁱ	0,0414 ± 0,002 ^h
40	0,0546 ± 0,001 ^h	0,0599 ± 0,000 ^j	0,0617 ± 0,002 ^e	0,0656 ± 0,002 ^j	0,0413 ± 0,001 ^e	0,0400±0,001 ^j	0,0396 ± 0,0056 ⁱ	0,0425 ± 0,003 ^h
45	0,0545 ± 0,002 ^h	0,0624 ± 0,005 ⁿ	0,0649 ± 0,002 ^e	0,0662 ± 0,002 ^k	0,0419 ± 0,001 ^e	0,0392±0,005 ^j	0,0382 ± 0,0032 ⁱ	0,0421 ± 0,002 ^h
50	0,0543 ± 0,001 ^h	0,0617 ± 0,002 ^m	0,0654± 0,002 ^e	0,0602 ± 0,004 ⁱ	0,0416 ± 0,001 ^e	0,0465±0,002 ^j	0,0387 ± 0,0019 ⁱ	0,0428 ± 0,002 ^h
55	0,0561 ± 0,003 ^h	0,0633 ± 0,004 ⁿ	0,0655 ± 0,003 ^e	0,0570 ± 0,002 ^h	0,0417 ± 0,000 ^e	0,0400±0,004 ^j	0,0392 ± 0,0023 ⁱ	0,0409 ± 0,003 ^h
60	0,0571 ± 0,003 ^h	0,0598 ± 0,001 ^j	0,0627 ± 0,002 ^e	0,0563 ± 0,002 ^h	0,0417 ± 0,001 ^e	0,0460±0,001 ^j	0,0396 ± 0,0017 ⁱ	0,0397 ± 0,003 ^h
65	0,0566 ± 0,004 ^h	0,0594 ± 0,003 ^j	0,0641 ± 0,002 ^e	0,0594 ± 0,004 ⁱ	0,0416 ± 0,000 ^e	0,0440±0,003 ^k	0,0392 ± 0,0013 ⁱ	0,0381 ± 0,001 ^h

70	0,0564 ± 0,001 ^h	0,0611 ± 0,003 ^l	0,0647 ± 0,002 ^e	0,0613 ± 0,005 ^l	0,0432 ± 0,000 ^g	0,0438±0,003 ^k	0,0408 ± 0,0012 ^l	0,0374 ± 0,004 ^g
75	0,0575 ± 0,002 ^l	0,0587 ± 0,001 ^l	0,0651 ± 0,002 ^e	0,0568 ± 0,002 ^h	0,0428 ± 0,000 ^g	0,0436±0,001 ^k	0,0394 ± 0,0041 ^l	0,0419 ± 0,003 ^h
80	0,0572 ± 0,002 ⁱ	0,0618 ± 0,001 ^m	0,0648 ± 0,001 ^e	0,0595 ± 0,002 ⁱ	0,0430 ± 0,000 ^g	0,0457±0,001 ^l	0,0395 ± 0,0017 ^l	0,0442 ± 0,001 ⁱ
85	0,0571 ± 0,004 ^h	0,0616 ± 0,003 ^m	0,0647 ± 0,002 ^e	0,0598 ± 0,002 ⁱ	0,0429 ± 0,001 ^g	0,0426±0,003 ^k	0,0408 ± 0,0015 ^l	0,0417 ± 0,004 ^h
90	0,0569 ± 0,001 ^h	0,0613 ± 0,000 ^m	0,0661 ± 0,000 ^e	0,0613 ± 0,003 ^l	0,0434 ± 0,002 ^g	0,0230±0,003 ^b	0,0416 ± 0,0015 ^l	0,0413 ± 0,004 ^h
DMS*	0,0075	0,0070	0,0096	0,0075	0,0044	0,0076	0,010	0,026

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (teste de Tukey, $p>0,05$) entre as médias com relação ao tempo de exposição.

*DMS Diferença mínima significativa pelo Teste de Tukey.

APENDICE B

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:5 ESL 25 °C

t (min)	X _w	X _{ss}	X _{et}	m _A	m _{ss} (acumulado)	m _w (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,788	171,90
0,167	0,053	0,021	0,927	0,728	3,98	10,12	176,90
0,5	0,067	0,033	0,900	0,746	6,32	12,78	186,48
1	0,114	0,037	0,850	0,787	6,97	21,72	190,40
1,5	0,134	0,038	0,828	0,835	7,14	25,47	193,54
2	0,151	0,038	0,811	0,815	7,22	28,52	194,63
3	0,155	0,040	0,804	0,869	7,58	29,25	195,15
5	0,158	0,040	0,802	1,006	7,74	29,61	195,21
10	0,157	0,041	0,802	1,110	7,81	29,35	195,25
15	0,156	0,041	0,803	1,091	7,84	29,15	196,06
20	0,160	0,041	0,799	1,165	7,68	29,97	196,11
25	0,156	0,041	0,803	1,127	7,73	29,95	196,11
30	0,156	0,041	0,803	0,999	7,69	28,94	196,11
35	0,156	0,041	0,803	0,978	7,66	28,94	196,14
40	0,156	0,041	0,802	1,137	7,62	28,96	196,41
45	0,156	0,042	0,802	1,066	7,68	29,18	196,41
50	0,156	0,042	0,802	1,144	7,59	29,16	196,47
55	0,156	0,041	0,802	1,124	7,50	29,22	196,47
60	0,156	0,042	0,802	1,000	7,48	28,97	196,47
65	0,156	0,042	0,802	1,055	7,46	28,97	196,56
70	0,156	0,042	0,801	1,048	7,55	28,97	196,59
75	0,156	0,043	0,801	1,001	7,54	29,00	196,74
80	0,156	0,043	0,801	0,978	7,53	29,15	196,96
85	0,156	0,043	0,801	1,050	7,47	29,37	197,87
90	0,162	0,043	0,795	1,058	7,51	30,24	171,90

APENDICE C

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:5 ESL 65 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	m _A	mss (acumulado)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,788	157,79
0,167	0,084	0,023	0,893	0,866	4,42	16,16	177,59
0,5	0,115	0,029	0,856	0,870	4,40	21,97	183,40
1	0,135	0,035	0,830	0,880	5,57	25,68	188,27
1,5	0,139	0,039	0,822	0,925	6,61	26,39	190,03
2	0,148	0,038	0,813	0,892	7,29	28,02	192,34
3	0,155	0,037	0,807	0,902	7,20	29,19	193,50
5	0,156	0,037	0,808	0,940	7,04	29,10	193,50
10	0,157	0,038	0,805	1,124	7,28	29,35	193,99
15	0,162	0,041	0,796	1,064	7,82	30,34	195,52
20	0,163	0,038	0,799	1,103	7,26	30,42	195,60
25	0,163	0,043	0,794	1,107	8,11	30,42	196,45
30	0,164	0,044	0,793	0,976	8,15	30,48	196,55
35	0,164	0,040	0,797	0,953	7,34	30,48	196,55
40	0,163	0,040	0,797	1,131	7,39	30,40	196,60
45	0,164	0,039	0,797	1,062	7,17	30,48	196,68
50	0,163	0,047	0,790	0,998	8,49	30,44	198,00
55	0,164	0,040	0,796	1,031	7,26	30,48	198,04
60	0,164	0,046	0,790	1,090	8,30	30,45	199,08
65	0,164	0,044	0,792	1,040	7,90	30,46	199,08
70	0,164	0,044	0,792	0,905	7,81	30,46	199,08
75	0,164	0,044	0,793	0,987	7,74	30,45	199,08
80	0,164	0,046	0,790	1,024	8,05	30,46	199,39
85	0,164	0,043	0,794	1,137	7,47	30,46	199,39
90	0,164	0,043	0,793	1,055	7,51	30,50	199,49

APENDICE D

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:5 EAU 25 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulad o)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,79	157,79
0,167	0,049	0,001	0,949	0,823	0,26	9,49	166,74
0,5	0,060	0,003	0,937	0,821	0,62	11,48	169,10
1	0,080	0,005	0,914	0,789	1,02	15,38	173,40
1,5	0,105	0,007	0,888	0,847	1,35	20,01	178,36
2	0,119	0,012	0,869	0,728	2,27	22,61	181,88
3	0,132	0,012	0,855	0,844	2,34	24,99	184,34
5	0,150	0,025	0,825	0,855	4,76	28,22	189,99
10	0,159	0,032	0,809	0,854	6,07	29,95	193,02
15	0,162	0,033	0,805	0,860	6,34	30,44	193,77
20	0,162	0,035	0,804	0,925	6,56	30,41	194,00
25	0,162	0,038	0,800	0,788	7,20	30,41	194,64
30	0,161	0,037	0,803	0,883	6,88	30,41	194,64
35	0,161	0,037	0,802	0,891	6,88	30,61	194,84
40	0,161	0,040	0,800	0,862	7,38	30,61	195,34
45	0,161	0,038	0,801	0,788	7,07	30,61	195,34
50	0,161	0,039	0,800	0,873	7,14	30,61	195,41
55	0,161	0,039	0,800	0,908	7,20	30,61	195,47
60	0,158	0,040	0,802	0,883	7,24	29,89	195,51
65	0,158	0,039	0,803	0,898	7,14	30,50	196,11
70	0,158	0,041	0,801	0,903	7,37	30,50	196,35
75	0,158	0,039	0,802	0,799	7,09	30,50	196,35
80	0,158	0,040	0,802	0,849	7,08	30,50	196,35
85	0,160	0,041	0,799	0,950	7,28	30,86	196,91
90	0,160	0,042	0,798	0,886	7,38	30,51	197,01

APENDICE E

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:5 EAU 65 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulado)	mw (acumulada)	E
0	0,056	0,000	0,995	0,000	0	8,86	157,79
0,167	0,071	0,002	0,927	0,852	0,47	10,87	160,28
0,5	0,116	0,005	0,879	0,758	1,03	13,62	163,59
1	0,127	0,012	0,861	0,741	2,31	22,19	173,44
1,5	0,147	0,018	0,836	0,757	3,36	24,25	176,54
2	0,156	0,022	0,821	0,795	4,29	27,94	181,16
3	0,161	0,027	0,812	0,836	5,08	29,68	183,69
5	0,161	0,036	0,803	0,884	6,97	30,49	186,39
10	0,161	0,040	0,799	0,957	7,78	30,49	187,20
15	0,161	0,040	0,799	0,902	7,65	30,36	187,20
20	0,161	0,043	0,796	0,931	8,10	30,48	187,66
25	0,161	0,044	0,795	0,926	8,25	30,48	187,80
30	0,161	0,044	0,795	1,015	8,34	30,51	187,89
35	0,161	0,043	0,796	0,920	8,13	30,40	187,89
40	0,161	0,044	0,795	0,947	8,28	30,40	188,04
45	0,161	0,044	0,795	1,015	8,12	30,40	188,04
50	0,161	0,044	0,795	0,970	8,16	30,40	188,08
55	0,158	0,041	0,801	1,030	7,61	30,40	188,08
60	0,158	0,040	0,802	0,928	7,37	29,68	188,08
65	0,158	0,039	0,803	0,943	7,07	29,79	188,20
70	0,158	0,039	0,804	0,964	6,96	29,79	188,20
75	0,158	0,042	0,801	1,008	7,47	29,79	188,70
80	0,160	0,040	0,801	0,935	7,07	29,79	188,70
85	0,160	0,040	0,800	0,909	7,11	30,14	189,09
90	0,000	0,042	0,958	0,980	7,42	29,98	189,41

APENDICE F

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:3 ESL 25 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulado)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,47	94,64
0,167	0,145	0,017	0,838	0,737	2,18	18,92	115,27
0,5	0,165	0,022	0,813	0,764	2,80	21,42	118,39
1	0,191	0,032	0,777	0,853	4,07	24,64	122,88
1,5	0,195	0,040	0,765	0,896	5,08	24,94	124,18
2	0,197	0,042	0,761	0,898	5,30	25,10	124,57
3	0,202	0,044	0,754	0,981	5,54	25,53	125,23
5	0,222	0,045	0,733	1,066	5,80	27,85	127,82
10	0,228	0,050	0,722	1,080	6,35	28,59	129,11
15	0,239	0,054	0,706	1,036	6,88	29,95	131,00
20	0,244	0,055	0,701	1,096	6,96	30,47	131,60
25	0,244	0,056	0,701	1,054	6,94	30,47	131,60
30	0,233	0,055	0,712	1,043	6,82	29,72	131,60
35	0,233	0,055	0,712	1,065	6,73	29,72	131,60
40	0,233	0,055	0,712	1,072	6,63	29,72	131,60
45	0,233	0,054	0,712	1,075	6,56	29,72	131,60
50	0,233	0,054	0,712	1,058	6,49	29,72	131,60
55	0,233	0,056	0,711	1,098	6,64	29,72	131,75
60	0,241	0,057	0,702	1,111	6,69	30,37	132,45
65	0,241	0,057	0,703	1,164	6,57	30,37	132,45
70	0,241	0,056	0,703	1,116	6,48	30,37	132,45
75	0,241	0,058	0,702	1,110	6,55	30,37	132,52
80	0,241	0,057	0,702	1,124	6,45	30,37	132,52
85	0,241	0,057	0,702	1,117	6,37	30,37	132,52
90	0,243	0,057	0,700	1,182	6,28	30,47	132,63

APENDICE G

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:3 ESL 65 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulado)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,47	94,64
0,167	0,190	0,024	0,786	0,931	3,09	24,66	121,91
0,5	0,197	0,033	0,770	0,837	4,25	25,36	123,78
1	0,198	0,039	0,763	0,874	4,99	25,38	124,54
1,5	0,199	0,042	0,759	0,839	5,39	25,25	124,94
2	0,203	0,046	0,751	0,869	5,81	25,63	125,74
3	0,205	0,050	0,744	0,871	6,33	25,76	126,39
5	0,236	0,054	0,710	0,782	7,05	29,37	130,72
10	0,238	0,055	0,706	0,870	7,18	29,80	131,27
15	0,243	0,055	0,702	0,832	7,08	30,34	131,81
20	0,244	0,057	0,698	0,871	7,34	30,35	132,09
25	0,244	0,056	0,700	0,823	7,05	30,35	132,09
30	0,238	0,061	0,701	0,842	7,67	30,27	132,71
35	0,238	0,060	0,702	0,842	7,49	30,27	132,71
40	0,238	0,060	0,702	0,856	7,46	30,27	132,71
45	0,238	0,062	0,700	0,823	7,71	30,27	132,96
50	0,238	0,062	0,701	0,885	7,57	30,27	132,96
55	0,238	0,063	0,699	0,871	7,72	30,27	133,10
60	0,241	0,060	0,699	0,833	7,24	30,47	133,31
65	0,241	0,059	0,700	0,856	7,15	30,47	133,31
70	0,241	0,061	0,698	0,839	7,30	30,47	133,45
75	0,241	0,059	0,700	0,899	6,96	30,47	133,45
80	0,241	0,062	0,697	0,860	7,27	30,47	133,76
85	0,241	0,062	0,697	0,877	7,20	30,47	133,76
90	0,238	0,061	0,701	0,897	7,10	29,89	133,76

APENDICE H

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:3 EAU 25 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulado)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,47	94,64
0,167	0,041	0,002	0,957	0,710	0,29	5,35	99,80
0,5	0,057	0,004	0,939	0,746	0,53	7,41	102,12
1	0,090	0,005	0,906	0,764	0,60	11,59	106,35
1,5	0,118	0,008	0,874	0,679	1,04	15,11	110,31
2	0,144	0,015	0,841	0,757	1,94	18,38	114,49
3	0,185	0,036	0,780	0,751	4,51	23,45	122,13
5	0,192	0,044	0,764	0,941	5,73	24,24	124,14
10	0,215	0,058	0,727	1,050	7,44	27,18	128,79
15	0,236	0,063	0,700	1,126	8,04	29,88	132,09
20	0,242	0,064	0,694	1,023	8,11	30,52	132,80
25	0,242	0,064	0,694	1,034	8,03	30,56	132,84
30	0,235	0,064	0,701	1,041	7,97	30,50	132,84
35	0,235	0,067	0,698	1,067	8,29	30,50	133,16
40	0,235	0,068	0,698	1,020	8,24	30,50	133,16
45	0,235	0,065	0,700	1,115	7,85	30,50	133,16
50	0,235	0,065	0,700	1,110	7,84	30,50	133,16
55	0,238	0,066	0,697	1,108	7,78	30,38	133,16
60	0,238	0,063	0,700	1,036	7,38	30,38	133,16
65	0,238	0,064	0,698	1,040	7,47	30,38	133,26
70	0,238	0,065	0,698	1,115	7,48	30,38	133,26
75	0,238	0,065	0,697	1,105	7,45	30,38	133,26
80	0,238	0,065	0,698	0,997	7,35	30,38	133,26
85	0,240	0,065	0,695	1,058	7,27	30,47	133,35
90	0,000	0,066	0,934	1,150	7,35	30,48	133,43

APENDICE I

Dados experimentais e calculados do balanço de massa no extrato para a condição: 1:3 EAU 65 °C

t (min)	Xw	Xss	Xet	mA	mss (acumulad o)	mw (acumulada)	E
0	0,005	0,000	0,995	0,000	0	0,47	94,64
0,167	0,064	0,005	0,931	0,729	0,63	8,36	103,16
0,5	0,138	0,012	0,850	0,763	1,50	17,88	113,55
1	0,182	0,016	0,802	0,717	2,03	23,50	119,70
1,5	0,200	0,033	0,767	0,737	4,25	25,56	123,98
2	0,202	0,043	0,755	0,704	5,46	25,72	125,35
3	0,207	0,046	0,747	0,807	5,86	26,19	126,22
5	0,237	0,050	0,713	0,864	6,52	29,76	130,45
10	0,241	0,059	0,700	0,938	7,63	30,38	132,18
15	0,251	0,059	0,691	0,922	7,51	31,53	133,33
20	0,243	0,062	0,695	0,905	7,90	30,52	133,71
25	0,243	0,063	0,694	0,908	7,92	30,52	133,73
30	0,241	0,063	0,696	0,851	7,95	30,47	133,76
35	0,241	0,065	0,694	0,946	8,07	30,47	133,89
40	0,241	0,066	0,693	0,929	8,14	30,47	133,95
45	0,241	0,066	0,693	0,912	8,15	30,47	133,96
50	0,241	0,060	0,699	0,878	7,35	30,47	133,96
55	0,241	0,057	0,702	0,951	6,91	30,47	133,96
60	0,242	0,056	0,702	0,927	6,76	30,38	133,96
65	0,242	0,059	0,699	0,894	7,09	30,38	134,28
70	0,242	0,061	0,697	0,919	7,26	30,38	134,46
75	0,242	0,057	0,701	1,021	6,68	30,38	134,46
80	0,242	0,060	0,699	0,924	6,93	30,38	134,71
85	0,242	0,060	0,698	0,946	6,92	30,38	134,71
90	0,240	0,061	0,699	0,926	7,02	29,59	134,82