



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARA

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FÁBIO GOMES MOURA

**ADSORÇÃO SELETIVA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS EM SISTEMAS
DE BATELADA**

BELÉM

2010



FÁBIO GOMES MOURA

**ADSORÇÃO SELETIVA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS EM SISTEMAS
DE BATELADA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Hervé Rogez

Co-orientador: Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva

BELÉM

2010

FÁBIO GOMES MOURA

**ADSORÇÃO SELETIVA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS EM SISTEMAS
DE BATELADA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

DATA DA AVALIAÇÃO: _____/_____/_____

CONCEITO: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hervé Louis Ghislain Rogez
(UFPA/ITEC/PPGCTA – Orientador)

Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva
(UFPA/ITEC/ PPGCTA – Co - orientador)

Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza
(UFPA/ITEC/ PPGCTA – Membro)

Prof. Dr. Roberto de Freitas Neves
(UFPA/ITEC/PPEQ – Membro)

“Já lhe dei meu corpo
Minha alegria
Já estanquei meu sangue
Quando fervia
Olha a voz que me resta
Olha a veia que salta
Olha a gota que falta
Pro desfecho da festa
Por favor...”

Gota d'água, Chico Buarque (1975)

AGRADECIMENTOS

Gostaria nesse primeiro momento relembrar as palavras de José Alencar, vice-presidente da República em um programa da TV Cultura: “A todo momento, peço a Deus para me conceder a graça da humildade”. Essa frase simplifica o que todos devem fazer, ou ao menos, tentar fazer, pois essa virtude está sendo esquecida pela sociedade dita “moderna”.

Pois bem, voltando aos agradecimentos, tenho que citar a minha família (que agora cresceu legal em Janeiro) em primeiro lugar, pois é o pilar que me sustenta e nessa árdua lida desses 8 anos de vida acadêmica. Minha mãe Terezinha, minha irmã Luciana e minha esposa que amo muito Michele.

Agradeço enormemente ao educador Prof. Hervé Rogez por ter deixado a sua terra natal e adotado o Brasil como segunda nação. Digo isso pelo fato da grande contribuição dedicada pelo mesmo a alavancar a C&T na Amazônia, contribuindo para o surgimento do curso de Engenharia de Alimentos e seu respectivo mestrado. Sem essa concretização não seria hoje Engenheiro de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Concordo também que essa batalha não foi de um homem só, logo todos que contribuíram para essa realização possuem meu apreço.

Gostaria de agradecer a todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFPA) e da Faculdade de Engenharia de Alimentos pela ajuda ao meu crescimento intelectual, em especial aos professores Jesus Nazareno e Evaldo Silva pela grande ajuda e tempo dedicado nesse trabalho de dissertação e durante muitos anos de ensinamentos na minha iniciação científica. Agradeço também ao profº Roberto Neves (PPEQ - UFPA) que também auxiliou neste trabalho desde seu início.

Aos novos professores Darly Pompeu (UEPA) e Carissa Bichara (UFRA) os quais são exemplos de dedicação e luta no alcance de seus objetivos, isto me inspira a não desistir dos meus também.

Gostaria de agradecer também aos colegas de curso e profissão, em especial a Anne Suellen, Camila Travassos, Evelyn Damasceno e Lorena

Maciel. Também aos colegas de laboratório: Aécio Dias, Audrya Almeida, Braz Sarubi, Caroline Santos, Fagner Aguiar, Francimônica Solto, Ivonete Quaresma, Jonas Mangabeira, Karina Lins, Leandro Marinho, Marcelo Rodrigues, Marília Cavalcante, Maurício Castro, Rebeca Souza, Sharlés Bezerra, Socorro Lopez (valeu Help!), Stephano Leão.

E aos que contribuíram de forma direta ou indiretamente na realização desse trabalho, muito obrigado.

RESUMO

Compostos fenólicos consistem em uma gama de mais de 10.000 compostos. Devido a sua diversidade química, estes compostos apresentam uma grande variedade de funções no organismo, propriedades antioxidantes e espectrais. O processo de adsorção utilizando resinas macroporosas vem ganhando destaque na recuperação de compostos fenólicos de extratos vegetais nas indústrias de produtos naturais e de alimentos. A fim de conhecer a capacidade de adsorção de sete tipos de resinas (XAD 2, XAD 761, XAD 16, XAD 1180, XAD 7, EXA 45 e EXA 118) sobre uma mistura equimolar de dez compostos fenólicos puros (ácido gálico, ácido siríngico, ácido ferrúlico, catequina, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, rutina, quercetina, naringenina e apigenina) foram realizados testes em batelada a pH 3,5 e 7,5. Nesse estudo não foi possível isolar compostos individuais, porém uma purificação parcial de classes de compostos fenólicos de polaridade semelhante foi verificada quando se utiliza uma seqüência de resinas em pH ácido. As resinas XAD 2 ou XAD 761 para adsorver um total de 38% dos compostos fenólicos totais, dos quais 81% são compostos apolares; XAD 1180 ou EXA 45 adsorvem 20% dos compostos fenólicos, sendo desse total 62,5% apolares; EXA 118 ou XAD16 para adsorver 20% de compostos fenólicos totais dos quais 85% são polares. Foram ajustados três modelos cinéticos (pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e difusão intrapartícula) aos dados experimentais para as resinas XAD 2 e EXA 118 a pH 3,5. Todos os modelos cinéticos se ajustaram bem aos dados experimentais ($0,819 \leq R^2 \leq 0,999$), com destaque para o modelo de pseudo segunda ordem. Um tempo de 50 minutos de contato para a resina EXA 118 foi necessário para o alcance do equilíbrio de massa da maioria dos compostos fenólicos, enquanto que para a XAD 2 um tempo de 90 minutos foi suficiente. Esse estudo obteve uma concentração de 50% das principais antocianinas de um extrato de frutos de açaí. Finalmente, este estudo possibilita fracionar extratos fenólicos de acordo com suas polaridades para a utilização desses em diferentes setores industriais, como o alimentar (corantes e conservantes) e farmacêutico (dermocosméticos).

ABSTRACT

Phenolic compounds consist of a range of more than 10,000 compounds. Due to their chemical diversity, these compounds show a wide variety of functions in the body, antioxidant and spectral properties. The adsorption process using macroporous resins has gained attention in the recovery of phenolic compounds of plant extracts in the industries of natural products and foods. In order to know the adsorption capacity of seven types of resins (XAD 2, XAD 761, XAD 16, XAD 1180, XAD 7, EXA 45 and EXA 118) present in an equimolar mixture of ten pure phenolic compounds (gallic acid, syringic acid, ferrulic acid, catechin, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, rutin, quercetin, naringenin and apigenin), tests were carried out in batch at pH 3.5 and 7.5. The isolation of individual compounds was not possible, but a partial purification of phenolic compound classes of similar polarity was observed when using a sequence of resins at acidic pH. The XAD 2 or XAD 761 resin that will adsorb around 38% of the phenolic compounds, of which 81% are nonpolar compounds; on a second step, XAD 1180 or EXA 45 resin to adsorb 20% of phenolic compounds, 62.5% of these compounds being nonpolar; and finally EXA 118 or XAD 16 resin to adsorb 20% of total phenolic compounds, mainly (85%) polar. Three kinetics models (pseudo first order, pseudo second order and intraparticle diffusion) were set to the experimental data for the resins XAD 2 and EXA 118. All kinetics models fitted well to experimental data ($0.819 \leq R^2 \leq 0.999$), especially the pseudo second order model. A time of 50 minutes of contact was enough to achieve the adsorption equilibrium for the EXA 118 resin, while a longer time of 90 minutes was necessary for the XAD 2 resin. This study found a 50% concentration of the main anthocyanins in the extracts of açai fruits. Finally, this study demonstrates the possibility to fractionate phenolic extracts according to their polarity for using in various industrial sectors such as food, e.g. dyes and preservatives, and pharmacy, e.g. skin care sector.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Rota de formação dos ácidos fenólicos e flavonóides. PAL – fenilalanina amonialiase, TAL – Tirosina amonialiase e CoA – Coenzima A.....17
- FIGURA 2** Perfil cromatográfico típico de CLAE para 28 compostos fenólicos. A eluição das diferentes classes desses compostos são apresentadas na parte superior do cromatograma.....24
- FIGURA 3** Açazeiros (a) e frutos de açai (b).....24
- FIGURA 4** Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos não antociânicos presentes no açai a 280 nm. Os números correspondem aos seguintes compostos: 1, ácido protocatecuico; 2, ácido p-hidroxibenzóico; 3, (+)-catequina; 4, ácido vanílico; 5, luteonina di-glicosídeo; 6, ácido siríngico; 7, apigenina di-glicosídeo; 8, (-)-epicatequina; 9, taxifolina derivativa; 10, isoorientina; 11, orientina; 12, isovitexina derivativa; 13, ácido ferrúlico; 14, taxifolina deoxyhexose; 15 e 18, dímeros de procianidina; 16, isovitexina; 17, scoparina; 19 e 20, trímeros de procianidinas.....25
- FIGURA 5** Modos de contato no processo de adsorção. (a) batelada (b) Leito fixo.....30
- FIGURA 6** Reação de copolimerização para a formação de uma resina macroporosa.....32
- FIGURA 7** Visualização progressiva da estrutura de uma resina genérica, a partir de uma unidade macroscópica e as cadeias poliméricas que a compõem até a fórmula molecular de um determinado polímero.....32
- FIGURA 8** Estrutura química das resinas da série Amberlite® XAD. (a): aromática, (b): acrílica e (c): fenólica.....33
- FIGURA 9** Classificação das isotermas de adsorção. S: Spherical, L: Langmuir, H: High affinity e C: Constant partition.....35
- FIGURA 10** Curvas de eluição isocrática de compostos fenólicos em resina HP20SS com diferentes concentrações de etanol.....39
- FIGURA 11** Esquemas propostos para as forças de ligação envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em resinas macroporosas (a) ácido gálico, (b) (+)-catequina e (c) ácido ferrúlico.....40
- FIGURA 12** Capacidade de adsorção para 50mg/L de rutina (a) e (+)-catequina (b) sobre a resina XAD 16HP dependendo da quantidade de resina, temperatura e pH do meio.....41
- FIGURA 13** Esquema proposto das interações por ponte de hidrogênio com a (+)-catequina e a resina PMVBU.....42
- FIGURA 14** Estrutura esquemática da resinas PVP-DEGMA-TAIC macroporosa sintetizada.....43

FIGURA 15 Esquema proposto das forças de ligação envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em resinas macroporosas sintetizadas.....43

FIGURA 16 Cromatograma apresentando os dez compostos fenólicos separados pela coluna Gemini C18. Os compostos são: ác. gálico (1), cianidina-3-glicosídeo (2), cianidina-3-rutinosídeo (3), catequina (4), ác. siríngico (5), rutina (6), ác. ferrúlico (7), quercetina (8), naringenina (9) e apigenina (10). Os comprimentos de onda estão apresentados nas cores preta (280 nm), azul (320 nm), verde (370 nm) e vermelha (515 nm).....49

FIGURA 17 Cromatograma apresentando os dez compostos fenólicos separados pela coluna kinetex Core-Shell. Os compostos são: ác. gálico (1), catequina (2), ác. siríngico (3), cianidina-3-glicosídeo (4), cianidina-3-rutinosídeo (5), ác. ferrúlico (6), rutina (7), quercetina (8), naringenina (9) e apigenina (10). Os comprimentos de onda estão apresentados nas cores preta (280 nm), azul (320 nm), verde (370 nm) e vermelha (515 nm).....51

FIGURA 18 Capacidade de adsorção (%) de dez compostos fenólicos puros sobre sete resinas macroporosas nas condições de pH 3,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. ácido gálico (AG), ácido siríngico (AS), ácido ferrúlico (AF), (+)-catequina (CAT), cianidina-3-glicosídeo (C-3-G), cianidina-3-rutinosídeo (C-3-R), rutina (RUT), quercetina (QUE), (±)-naringenina (NAR) e apigenina (API) (n = 3).....55

FIGURA 19 Capacidade de adsorção (%) de dez compostos fenólicos puros sobre sete resinas macroporosas nas condições de pH 7,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. ácido gálico (AG), ácido siríngico (AS), ácido ferrúlico (AF), (+)-catequina (CAT), cianidina-3-glicosídeo (C-3-G), cianidina-3-rutinosídeo (C-3-R), rutina (RUT), quercetina (QUE), (±)-naringenina (NAR) e apigenina (API) (n = 3).....55

FIGURA 20 Capacidade de adsorção (%) de compostos fenólicos puros em função da área específica de cinco resinas macroporosas nas condições de pH 3,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. Rutina (×), ácido siríngico (■), cianidina-3-rutinosídeo (◆), (+)-catequina (▲).....56

FIGURA 21 Esquemas propostos de dissociação de ácidos fenólicos (a) e flavonóides (b).....57

FIGURA 22 Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de duas classes de compostos fenólicos em sete resinas macroporosas a dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Ácido ferrúlico (☞), Ácido siríngico (☛) e Ácido gálico (☞).As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).....62

FIGURA 23 Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de dois compostos fenólicos da classe das antocianinas em sete resinas macroporosas a dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Cianidina-3-rutinosídeo (☛) e Cianidina-3-glicosídeo (☞).As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).....62

FIGURA 24 Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de três classes de compostos fenólicos em sete resinas macroporosas e em dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Naringenina (☛), Apigenina (☞) e Catequina (☞).As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).....63

FIGURA 25 Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de dois compostos fenólicos da classe dos flavonóis em sete resinas macroporosas e em dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Quercetina (■) e Rutina (◆). As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).....63

FIGURA 26 Cinética de adsorção de sete compostos fenólicos nas resinas EXA 118 (a) e XAD 2 (b), nas condições de T = 25°C, pH = 3,5, rotação de 50 rpm e razão resina/solução de 5 g/L. C = concentração a um determinado tempo, C0 = Concentração inicial. ácido gálico (■), ácido siríngico (×), ácido ferrúlico (+), catequina (▲), rutina (◆), cianidina-3-glicosídeo (✱) e cianidina-3-rutinosídeo (●).....64

FIGURA 27 Formação de zonas de adsorção no interior da resina.....71

FIGURA 28 Cromatogramas de um extrato de *E. oleracea* obtidos antes do processo de adsorção em seqüência sobre três resinas diferentes XAD 2, EXA 45 e EXA 118. 280 nm (linha preta) e 515 nm (linha vermelha).....73

FIGURA 29 Cromatogramas de um extrato de *E. oleracea* obtidos após processo de adsorção em seqüência sobre três resinas diferentes XAD 2, EXA 45 e EXA 118. 280 nm (linha preta) e 515 nm (linha vermelha).....73

LISTA DE QUADRO

QUADRO 1 Comparação entre a adsorção física e química.....	29
QUADRO 2 Dados típicos e exemplos de aplicação comercial de alguns adsorventes.....	31
QUADRO 3 Características físico-químicas das resinas da série Amberlite® XAD da empresa Rohm and Haas.....	34
QUADRO 4 Características químicas dos compostos fenólicos estudados.....	44
QUADRO 5 Estrutura química e propriedades físicas dos adsorventes.....	47

LISTA DE TABELA

TABELA 1 Conteúdo de compostos fenólicos em diversas fontes alimentícias divididos de acordo com suas classes.....	22
TABELA 2 Parâmetros utilizados na separação e quantificação dos compostos fenólicos em cromatografia líquida de alta eficiência utilizando uma coluna Gemini C18.....	50
TABELA 3 Parâmetros utilizados na separação e quantificação dos compostos fenólicos em cromatografia líquida de alta eficiência utilizando uma coluna kinetex Core-Shell.....	51
TABELA 4 Conteúdo de água adsorvida de sete tipos de resinas macroporosas.....	54
TABELA 5 Valor da primeira constante de dissociação ácida (pKa) para alguns compostos fenólicos.....	57
TABELA 6 Constantes cinéticas dos modelos de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem para sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.....	68
TABELA 7 Constantes cinéticas do modelo de difusão intrapartícula para sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.....	69
TABELA 8 Coeficientes de difusão no filme (Df) e intrapartícula (Dp) de sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.....	69
TABELA 9 Capacidade de adsorção de um extrato de frutos de <i>E. oleracea</i> em batelada e empregando uma seqüência de três resinas macroporosas.....	72

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. COMPOSTOS FENÓLICOS	16
2.1.1. Conceitos gerais	16
2.1.2. Principais classes de compostos fenólicos	18
2.1.2.1. Ácidos benzóicos	18
2.1.2.2. Ácidos cinâmicos	18
2.1.2.3. Flavanonas.....	18
2.1.2.4. Flavonas.....	19
2.1.2.5. Isoflavonas.....	19
2.1.2.6. Flavonóis.....	19
2.1.2.7. Flavanóis.....	20
2.1.2.8. Antocianidinas.....	20
2.1.3. Fontes alimentícias de compostos fenólicos	20
2.1.4. Separação e quantificação dos compostos fenólicos.....	23
2.1.5. Matriz Amazônica rica em compostos fenólicos	24
2.2. ADSORÇÃO	26
2.2.1. Conceitos gerais	26
2.2.2. Contexto histórico.....	27
2.2.3. Mecanismos de adsorção	28
2.2.4. Materiais adsorventes.....	30
2.2.5. Isotermas de equilíbrio de adsorção.....	34
2.2.5.1. Isotermas do tipo S.....	35
2.2.5.2. Isotermas do tipo L.....	35
2.2.5.3. Isotermas do tipo H	35
2.2.5.4. Isotermas do tipo C	36

2.2.6.	Cinética de adsorção.....	36
2.2.6.1.	Modelo cinético de pseudo 1ª ordem.....	36
2.2.6.2.	Modelo cinético de pseudo 2ª ordem.....	37
2.2.6.3.	Modelo cinético de Weber-Morris ou de difusão intrapartícula.....	37
2.2.7.	Adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas.....	38
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1.	MATÉRIA – PRIMA	44
3.1.1.	Padrões de compostos fenólicos.....	38
3.1.2.	Obtenção de extrato de <i>Euterpe oleracea</i>.....	38
3.1.3.	Material adsorvente.....	38
3.2.	DETERMINAÇÃO DO PERCENTUAL DE HIDRATAÇÃO DAS RESINAS.....	47
3.3.	ESTUDO DA SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE UMA MISTURA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS	47
3.4.	DETERMINAÇÃO DAS CINÉTICAS DE ADSORÇÃO	48
3.5.	ADSORÇÃO DE UM EXTRATO AMAZÔNICOS EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS	48
3.6.	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTO DESEMPENHO ACOPLADA A UM DETECTOR UV/VIS	49
3.7.	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	53
4.1.	PARÂMETROS DE HIDRATAÇÃO DAS RESINAS.....	53
4.2.	SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE UMA MISTURA DE DEZ COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE SETE RESINAS MACROPOROSAS	54
4.3.	SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE CLASSES DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE SETE RESINAS MACROPOROSAS	60
4.4.	CINÉTICA DE ADSORÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS.....	64
4.5.	TRANSPOSIÇÃO DAS CONDIÇÕES OTIMIZADAS DE ADSORÇÃO PARA EXTRATO DE <i>EUTERPE OLERACEA</i>	72
5.	CONCLUSÃO.....	74
	BIBLIOGRAFIA.....	75

1. INTRODUÇÃO

A procura por um estilo de vida natural e saudável tem aumentado o interesse por compostos bioativos naturais, os quais podem ser introduzidos na dieta ou usados como drogas naturais. Nesse contexto, os compostos fenólicos por apresentarem elevada capacidade antioxidante (pequenas concentrações desses compostos quando comparadas ao substrato oxidável retardam ou previnem significativamente a oxidação do mesmo) são um grupo promissor de moléculas. O aumento no número de investigações sobre os compostos fenólicos é devido à grande capacidade de neutralização de radicais livres, atividade vasodilatadora, anticarcinogênica, antiinflamatória, antibacteriana, antialérgica, entre outras atribuídas a esses compostos.

O mercado de compostos fenólicos vem crescendo ao longo das últimas décadas. De acordo com a agência “analyse & realize”, especializada em consultoria de negócios na área de nutracêuticos, suplementos dietéticos, ervas e alimentos funcionais, o mercado global de remédios e suplementos alimentícios herbáceo ficou em torno de \$83 bilhões em 2006. O mercado global ainda está muito distante de alcançar a plenitude de seu potencial. Isto é caracterizado pela expansão dos alimentos funcionais, ocasionado principalmente pelos consumidores que ainda não entendiam os benefícios desses produtos naturais, porém agora possuem esta informação e passaram a comprá-los (GRUENWALD, 2008).

A Amazônia possui um grande potencial a ser explorado de maneira sustentável como fornecedora de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante. Esta afirmação pode ser corroborada pela existência, em pleno século 21, de pessoas que ainda utilizam os chamados ‘remédios caseiros’, muitas vezes preparados a partir de plantas regionais. Dessa forma, oferecer possibilidades de exploração econômica de produtos naturais da Amazônia poderia agregar valor a produtos abundantes e atualmente não valorizados.

Para potencializar a utilização destes compostos fenólicos obtidos das mais variadas fontes, pode-se recorrer a vários processos visando sua concentração/purificação. A adsorção é uma operação unitária que vem ganhando destaque neste setor em virtude dos baixos custos operacionais, por apresentar a possibilidade de reciclagem do material adsorvente, e é um processo seletivo. Em virtude disso, diversos processos tecnológicos de purificação de compostos fenólicos em material vegetal foram patenteados utilizando a adsorção, indicando, assim, o interesse das empresas na proteção intelectual dessa tecnologia.

Diante do exposto, este trabalho visa analisar o comportamento da adsorção de uma mistura equimolar de diferentes compostos fenólicos puros sobre sete resinas sintéticas macroporosas no intuito de se obter diversas sub-frações parcialmente purificadas e, por fim, aplicar a tecnologia para um extrato de *Euterpe oleracea*, o qual é rico nesses compostos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. COMPOSTOS FENÓLICOS

2.1.1. Conceitos gerais

Os compostos fenólicos são substâncias originárias do metabolismo secundário das plantas. Os fenóis vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos identificados. Devido a sua diversidade química, estes compostos apresentam uma grande variedade de funções (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O interesse nos compostos fenólicos aumentou pelo fato da elevada capacidade desses compostos em seqüestrarem radicais livres, os quais são associados a várias doenças. Esta propriedade foi evidenciada por um grande número de testes *in vitro* (CAO; PRIOR, 1998; NIJVELDT *e col.* 2001). Notavelmente, alguns estudos têm reportado que os compostos fenólicos inibem a peroxidação lipídica e a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (SANCHEZ-MORENO; JIMENEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2000; SANG *e col.* 2003). Além disso, dados experimentais *in vitro* também sugerem que os compostos fenólicos possuem propriedades antiinflamatórias, antialérgica, antiviral e anticancerígena (NIJVELDT *e col.* 2001, YANG *e col.* 2001).

Os compostos fenólicos são biossintetizados por diferentes rotas. Por esse motivo, eles são um grupo muito heterogêneo em termos metabólicos. No entanto, duas rotas metabólicas são de grande importância: a rota do ácido chiquímico e a do ácido malônico. A rota do ácido chiquímico converte precursores de carboidratos, resultantes da glicólise e da rota da pentose fosfato, em aminoácidos aromáticos. Este caminho está presente nas plantas, fungos e bactérias, mas não é encontrada em animais, que não são capazes de sintetizar aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A Figura 1 apresenta a rota de biossíntese dos compostos fenólicos pela rota do ácido chiquímico. A classe mais abundante de compostos fenólicos secundários em plantas é derivada da fenilalanina, que por meio da eliminação de uma molécula de amônia forma o

ácido *trans*-cinâmico. Essa reação é catalisada pela fenilalanina amonialiase (PAL) (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em certas plantas, a tirosina pode ser convertida em ácido *p*-cumárico por intermédio da tirosina amonialiase (TAL) (MARTIN; ANDRIANTSITOHAINA, 2002; SAKIHAMA *e col.* 2002).

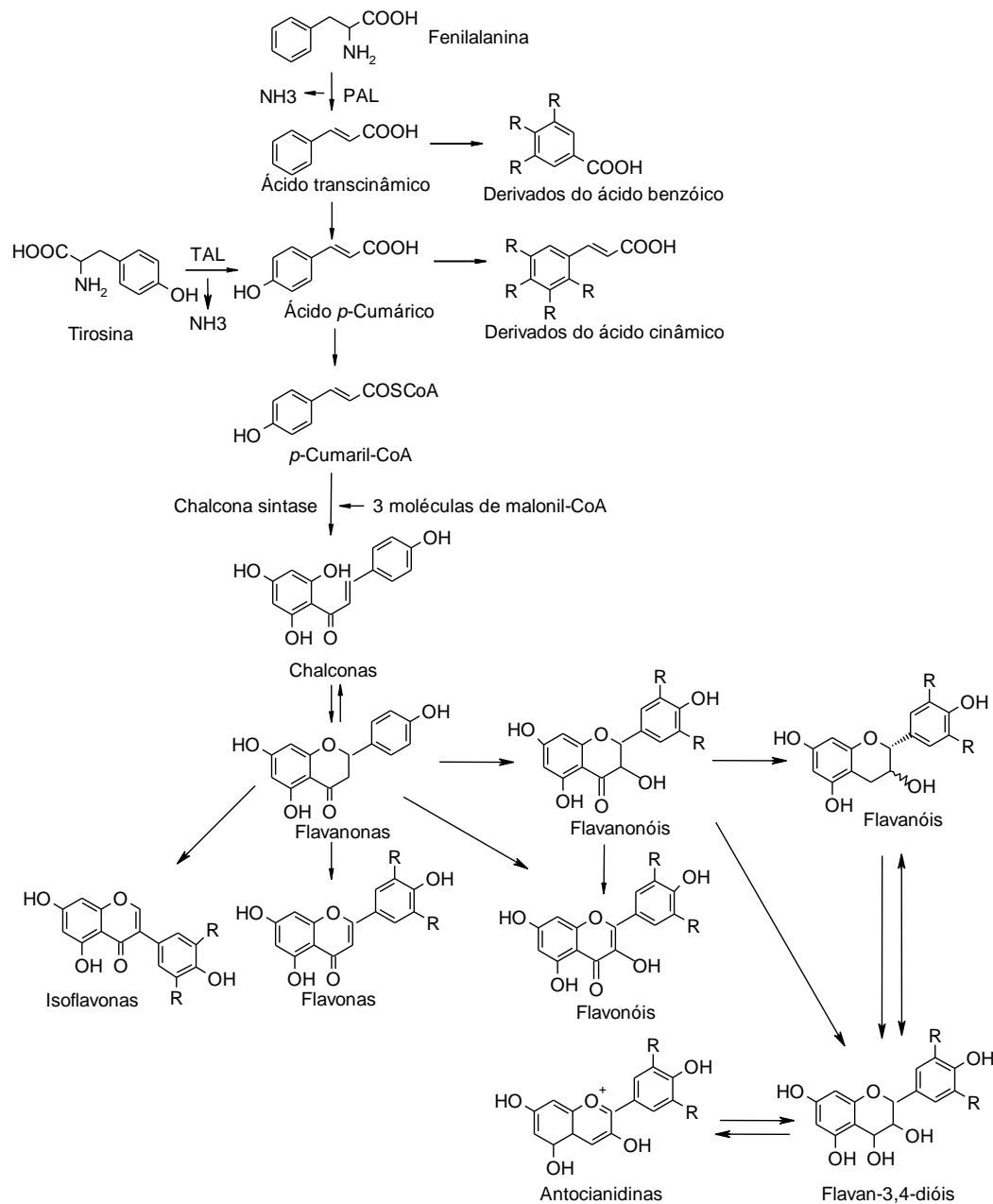


FIGURA 1. Rota de formação dos ácidos fenólicos e flavonóides. PAL – fenilalanina amonialiase, TAL – Tirosina amonialiase e CoA – Coenzima A.

Fonte: adaptado de RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997; ROBARDS e col. 1999 e TAIZ; ZEIGER, 2004).

As reações subseqüentes àquelas catalisadas pela PAL e TAL levam à adição de mais grupos hidroxilas e outros substituintes. Os ácidos *trans*-cinâmicos e *p*-cumárico e seus derivados são compostos fenólicos simples chamados fenilpropanóides por conter um anel benzênico e uma cadeia lateral de três carbonos. Os fenilpropanóides são importantes unidades básicas para a formação de compostos fenólicos mais complexos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

2.1.2. Principais classes de compostos fenólicos

2.1.2.1. Ácidos benzóicos

Os ácidos benzóicos apresentam uma estrutura C6-C1. Eles são amplamente distribuídos na natureza, possivelmente por sua simplicidade estrutural química e por estarem no início da síntese dos compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER, 2004; ROBARDS *e col.* 1999). Apresentam espectro de absorção na região do ultravioleta (250 a 285 nm), com pico de absorção variando entre 270 e 280 nm (ROBARDS *e col.* 1999). Os ácidos benzóicos, juntamente com os ácidos cinâmicos, representam cerca de um terço da dieta humana em compostos fenólicos (YANG *e col.* 2001).

2.1.2.2. Ácidos cinâmicos

Os ácidos cinâmicos apresentam uma estrutura química C6-C3. Assim como os ácidos benzóicos, eles são amplamente distribuídos na natureza. Apresentam duas bandas de absorção no ultravioleta, uma variando entre 290 e 300 nm e outra entre 305 e 330 nm (ROBARDS *e col.* 1999).

Os ácidos cinâmicos mais encontrados são os ácidos caféico e ferrúlico (YANG *e col.* 2001), os quais são presentes, praticamente, em todas as partes das plantas: folhas, frutos, casca e raiz (ROBARDS *e col.* 1999). Muitas plantas produzem ácidos cinâmicos e os liberam no solo para inibir o crescimento e a germinação de outras plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

2.1.2.3. Flavanonas

As flavanonas são caracterizadas pela presença de uma ligação C₂ – C₃ saturada e de um grupo ceto na posição C₄. Por isto, podem ser chamados de dihidroxiflavonas. Possuem um centro assimétrico na posição C₂ e duas formas de estéreoisômeros encontram-se na

natureza. A grande maioria das flavanonas encontradas nas plantas são levóginas (-) ou (2S) (HARBONE, 1994).

Esta classe apresenta duas bandas de absorção no ultravioleta, uma variando entre 270 e 295 nm e outra entre 300 e 320 nm. Em termos de evolução genética, as chalconas são os precursores imediatos das flavanonas (Figura 1) e esta última classe é a intermediária da biossíntese da maioria dos outros grupos de flavonóides (ROBARDS *e col.* 1999).

2.1.2.4 Flavonas

As flavonas são caracterizadas pela presença de uma dupla ligação nos carbonos C₂ – C₃. Este grupo é, algumas vezes, designado com o nome de 3-desoxiflavonol (HARBONE, 1994). As flavonas apresentam duas bandas de absorção no ultravioleta, uma variando entre 250 e 270 nm e outra entre 330 e 350 nm (ROBARDS *e col.* 1999).

2.1.2.5 Isoflavonas

A classe das isoflavonas tem como característica a ligação do anel B na posição C₃ em vez da C₂, como é de particularidade em todas as outras classes de flavonóides. As isoflavonas são presentes quase que exclusivamente em legumes e soja, onde a genisteína e a daidzeína predominam (HARBORNE, 1994).

As isoflavonas apresentam duas bandas de absorção no ultravioleta, uma variando entre 245 e 270 nm e outra entre 300 e 340 nm (ROBARDS *e col.* 1999).

2.1.2.6 Flavonóis

A característica primordial dessa classe de compostos fenólicos é o fato de possuírem uma dupla ligação entre os carbonos C₂ e C₃, e também a existência de um grupo hidroxila na posição C₃, sendo, por isto, chamados de 3-hidroxi-flavonas.

Da classe dos flavonóis os compostos mais comuns são o campeferol, a miricetina e a quercetina e seus derivados. A quercetina e seus derivados são os principais flavonóis da dieta humana, estão presentes em vários legumes, particularmente em cebolas, verduras e frutas (ROSS; KASSUM, 2002; YANG *e col.* 2001). Os flavonóis apresentam duas bandas de absorção no ultravioleta, uma variando entre 250 e 270 nm e outra entre 350 e 380 nm (ROBARDS *e col.* 1999).

2.1.2.7 Flavanóis

A classe dos flavanóis, também conhecida como flavan-3-ol ou catequinas é caracterizada pela presença de uma ligação C₂–C₃ saturada e de um grupo hidroxila na posição C₃. A catequina e a epicatequina são os compostos mais característicos dessa classe e são freqüentemente encontrados associados ao ácido gálico, formando a epicatequina galato ou a epigallocatequina galato (HARBORNE, 1994; ROBARDS *e col.* 1999).

Esta classe é bastante abundante em folhas de vegetais, chá, vinho tinto, chocolate e maçã (ROSS; KASSUM, 2002; YANG *e col.* 2001). Os flavanóis apresentam bandas de absorção no ultravioleta variando entre 270 e 280 nm (ROBARDS *e col.* 1999).

2.1.2.8 Antocianidinas

A classe das antocianidinas é caracterizada por conter o cátion flavilium, o qual possui insaturações nas ligações 1-2 e 3-4, e um grupo hidroxila na posição C₃. As antocianinas são derivadas das antocianidinas por conterem na sua estrutura um ou mais açúcares ligados principalmente na posição C₃ e estão presentes em muitas flores e frutos. As antocianidinas e as antocianinas são responsáveis pelas cores vermelho, azul, roxo e violeta da maioria das plantas (FRANCIS, 1989; ROBARDS *e col.* 1999; HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

Há vinte antocianidinas que são produzidas naturalmente, mas apenas seis são importantes para o uso alimentar: a pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e a malvinidina. As antocianidinas e antocianinas apresentam bandas de absorção características, duas no ultravioleta variando entre 240 e 280 nm e 315 e 325 nm e uma no visível entre 500 a 550 nm (ROBARDS *e col.* 1999; HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

2.1.3. Fontes alimentícias de compostos fenólicos

A quercetina e seus derivados são os flavonoides mais consumidos na dieta humana, a ingestão diária estimada varia de 50 a 500 mg (DESCHNER *e col.* 1991). Isto possivelmente se deve ao fato desse composto estar presente em vários legumes como a cebola, bem como em verduras e frutas (YANG *e col.* 2001; ROSS; KASSUM, 2002).

A classe dos flavanois e flavonois são abundantes entre as frutas, já as flavonas e as flavanonas são quase que restritas nas variedades cítricas, como a laranja e o limão. Em

algumas frutas, (por exemplo, maçã) os flavonoides estão principalmente presentes na casca e se esta for retirada para o consumo os níveis nesses compostos ficam demasiadamente pequenos quando comparados aos outros compostos fenólicos encontrados no resto da fruta (ANDERSEN; MARKHAM, 2006).

Dentre a classe dos flavanois a catequina e a epicatequina se destacam entre as frutas. Os ésteres de ácido gálico de catequina, (-)-epigallocatequina, (-)-epigallocatequina galato, e (-)-epicatequina galato são relativamente incomuns em frutas, onde pequenas concentrações podem ser encontradas em bagas e uvas (ANDERSEN; MARKHAM, 2006). Os flavanóis, que estão representados principalmente pela catequina são freqüentemente encontrados nas folhas e caules de vegetais, chá, vinho tinto, chocolate e maçã (YANG *et al.* 2001)

O Allium (por exemplo, cebola), a Brassica (por exemplo, brócolis e couve), a Lactuca (por exemplo, alface) e o tomate são abundantes fontes de compostos fenólicos, principalmente da classe dos flavonois como a quercetina e campeferol. O tomate também possui a classe das flavanonas como a naringenina (ANDERSEN; MARKHAM, 2006).

Arabbi, Genovese e Lajolo, (2004) demonstraram que as maiores fontes alimentícias de flavonoides no Brasil são a laranja (70%), o alface (9%) e o tomate (2,5%). Neste mesmo estudo, o composto fenólico que se apresentou mais difundido entre as fontes alimentícias estudadas foram os derivados da quercetina. Outro ponto focado no trabalho foi a média de ingestão de flavonóides, a qual ficou em 79 mg/dia para mulheres e 86 mg/dia para homens.

A Tabela 1 apresenta um resumo simplificado dos principais grupos de flavonóides em algumas fontes alimentícias.

TABELA 1. Conteúdo de compostos fenólicos em diversas fontes alimentícias divididos de acordo com suas classes.

Fonte		Classes de compostos fenólicos										
Frutas	Ácidos fenólicos ^a			Flavonois ^b		Flavona ^b		Flavanois ^b		Flavanonas ^b		Antocianinas ^b
	Ga	Fe	Qu	Ka	Mi	Lu	Ap	Ca	Ec	Na	He	Cy/Dp/Mv/Pn
Maçã	-	Tr-9	2,0-7,2	Tr-0,5	Tr	-	-	0,8	6,3	-	-	0,1-0,2
Mirtilo	1-2	Tr-10	2,1-7,3	Tr	Tr-2,5	-	-	0,4-1,3	0,1-1,1	-	-	0,8-2,8
Amora	8-67	2-6	0,2-1,9	Tr-0,2	Tr	-	-	0,5-1,0	2,4-18,1	-	-	0,3-1,1
Groselha negra	30-62	1-15	3,7-7,9	Tr-1,7	Tr-13,1	-	-	0,7	0,5	-	-	1,3-4,0
Cereja	-	Tr-13	1,0-1,5	Tr	-	-	-	0,6-2,2	2,5-9,5	-	-	2,4
Oxicoco			7,3-17,2	Tr-0,2	0,4-14,2	-	-	Nd	4,2	-	-	0,1-3,6
Uva preta		0,98-65	1,5-3,7	-	Tr-0,5	-	-	0,8-8,9	0,7-8,6	-	-	
Uva verde	Tr-0,46		0,2-1,2	-	-	-	-	0,4-2,5	0,1-1,0	-	-	0,7-1,1
Limão			1,3	Nq	Nq	Tr-1,5	Nq	-	-	0,5-1,3	17,0-20,6	-
Laranja			6,0-12,2	-	-	Nd	-	-	-	11,0-14,5	31,0-43,2	2
Azeitona			6,0-12,2	-	-	6,0-12,2	2,0-7,1	-	-	-	-	-
Ameixa	-	1-34	0,9-1,5	-	-	-	-	2,8-4,4	-	-	-	0,02-0,3
Framboesa			0,5-5,1	Nq	-	-	-	1,4-8,3	-	-	-	0,3-1,2
Morango	11-44	Tr-2	0,4-0,9	0,5-1,2	-	Nq	Nq	3,0	-	-	-	0,1-3,8
Verdura/Legume												
Feijão			Tr-2,0	0,4	2,6	Tr	-	12,8-16,2	22,5-37,6	-	-	
Feijão verde			1,3-3,9	0,2-2,0	-	-	-	-	Tr-2,6	-	-	
Alface			0,9-8,4	Tr	Nq	Tr-0,3	-	-	-	-	-	
Cebola			12,4-118,7	Tr-1,0	Nq	Nq	-	-	-	-	-	
Cebola vermelha			15,6-191,7	15,4-190,0	Nq	Nq	Nq	-	-	-	-	0,2
Tomate			0,6-2,1	Tr-0,1	-	-	-	-	-	0,6-1,5	Nq	

^a Fonte 1, ^b Fonte 2, ^α Ácidos fenólicos após hidrólise mg/ kg peso fresco, ^β Aglicona mg/100 g peso fresco, ^χ mg/100 g parte comestível.

Notas: Ga – ácido gálico, Fe – ácido ferrúlico, Qu – Quercetina, Ka – Campferol, Mi – Miricetina, Lu – Luteolina, Ap – Apigenina, Ca – Catequina, Ec – Epicatequina, Na – Naringenina, He – Hesperidina, Cy – Cianidina glicosilada, Dp – Delfinidina glicosilada, Mv – Malvidina glicosilada, Pn, Peonidina glicosilada, Tr – Traços, - Não é conhecida a presença, Nq – Não quantificado.

Fonte: (1) RICE-EVANS; PACKER, 1998; (2) ANDERSEN; MARKHAM, 2006.

2.1.4. Separação e quantificação dos compostos fenólicos

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode ser utilizada como uma técnica analítica para a identificação e quantificação de compostos (CLAE analítico) ou como uma técnica de isolamento (CLAE semi-preparativa e preparativa) (CASS; DEGANI, 2001). Esta técnica surgiu na década de 60 baseando-se na teoria da cromatografia gasosa de que a eficiência de uma separação aumenta com a diminuição do tamanho da partícula da fase estacionária. Desse modo, são utilizadas para essa técnica fases estacionárias com partículas de 10, 5 ou 3 μm . Um sistema CLAE é geralmente composto por uma bomba de alta pressão, um injetor, uma coluna, um detector e um sistema de integração (CASS; DEGANI, 2001).

Para análises de compostos fenólicos são utilizados os modos de separação em fase reversa e fase normal (utilizada para compostos fenólicos mais apolares) (NATSUME *e col.* 2000). Em CLAE fase reversa, a fase móvel é mais polar que a fase estacionária, este modo de separação é o mais utilizado para compostos fenólicos, pois permite a separação de uma grande variedade de compostos (CASS; DEGANI, 2001). A CLAE fase reversa é o método de referência usado para as análises de compostos fenólicos (ROBARDS *e col.* 1999). A fase normal é raramente utilizada, a não ser para a análise de flavonóides agliconas fracamente polares, de flavonas polimetoxiladas, de flavanonas, de isoflavonas, entre outros (COUNET *e col.* 2004; ANDERSEN; MARKHAM, 2006).

Os fatores que explicam a separação dos compostos fenólicos são a estereoquímica das moléculas e a polaridade total, influenciada, principalmente, pelas substituições dos anéis, pela natureza, posição e número de açúcares ligados e pela acilação desses açúcares. Dessa maneira, para a fase reversa, os compostos glicosilados são eluídos mais rapidamente que os seus respectivos compostos agliconas. Os compostos que apresentam mais grupamentos hidroxilas também apresentam um tempo de eluição mais curto que os seus análogos menos substituídos. Logo, os compostos que apresentam *o*-metilação e acilação aumentam seus tempos de eluição em relação aos seus análogos que não possuem essas substituições (SAKAKIBARA *e col.* 2003; TSAO; YANG, 2003; ANDERSEN; MARKHAM, 2006).

Sakakibara *e col.* (2003) estudaram um método de determinação de compostos fenólicos de diversas fontes alimentares por separação cromatográfica utilizando CLAE e quantificação por um sistema de detecção a arranjos de diodo. Neste trabalho um banco de dados foi desenvolvido com aproximadamente 100 padrões de compostos fenólicos.

Um perfil cromatográfico de diferentes padrões de compostos fenólicos identificando suas classes foi apresentado pelos autores como pode ser visualizado na Figura 2.

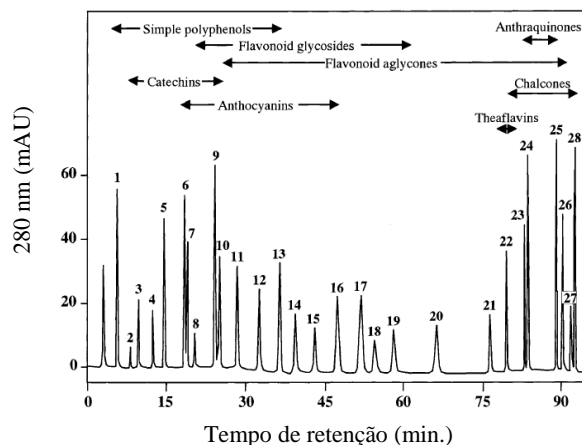


FIGURA 2. Perfil cromatográfico típico de CLAE para 28 compostos fenólicos. A eluição das diferentes classes desses compostos são apresentadas na parte superior do cromatograma.

Fonte: SAKAKIBARA *et al.* (2003).

2.1.5. Matriz Amazônica rica em compostos fenólicos

A palmeira *Euterpe oleracea* é vulgarmente conhecida no Brasil e na região Amazônica como açazeiro. Esta palmeira pode atingir uma altura de 25 metros (Figura 3a) e possui um caule de 15 a 25 centímetros de diâmetro e ocorre geralmente formando touceiras com vários estipes. (CALVAZARA, 1972). O fruto do açazeiro (Figura 3b) tem uma forma globulosa arredondada e é composto por caroço e polpa, com diâmetro de 1 a 2 centímetros e um peso médio de 0,8 a 2,3 gramas (CAVALCANTE, 1991).

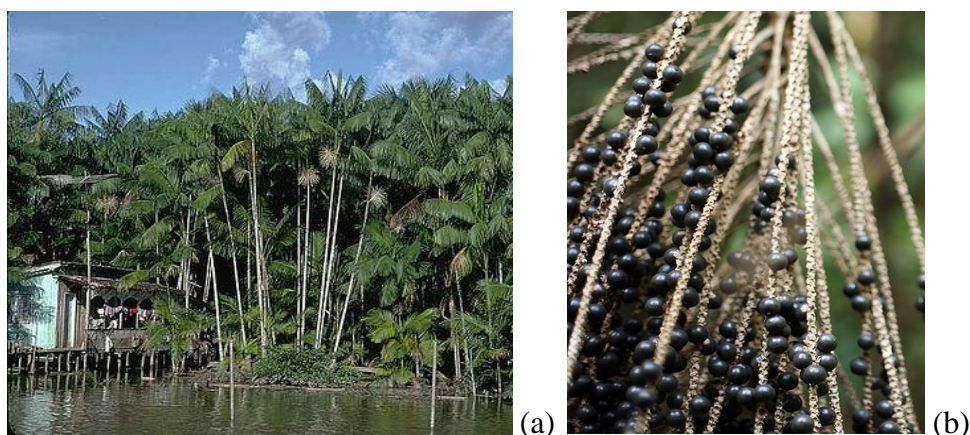


FIGURA 3. Açazeiros (a) e frutos de açaí (b).

Existem algumas variedades de fruto como o Preto, o Tinga e o Verde. O Preto (ou roxo) é a variedade predominante: os seus frutos quando maduros possuem uma polpa escura e brilhante (devido a presença de antocianinas). Os frutos das variedades Verde (ou branco) e Tinga (ou Una) produzem uma polpa de cor esverdeada e conseqüentemente um suco verde claro (amarelado, sem antocianinas), sendo menos encontrado e pouco consumido no mercado paraense (ROGEZ, 2000).

Segundo Rogez (2000), o teor de antocianinas varia de 300 a 2000 mg/kg de frutos. A distribuição das antocianinas no açaí permitiu a identificação de dois tipos: cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo. Estes pigmentos estão presentes em uma proporção média de 38% para a primeira e 62% para a segunda (SOUZA, 2000).

Outros compostos fenólicos já foram identificados no açaí como os ácidos protocatechuico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico e ferrúlico, as flavonas homoorientina, orientina, taxifolina derivativa e isovitexina e os flavanois derivativos como a (+)-catequina, (-)-epicatequina, dímeros e trímeros de procianidinas (Figura 4) (PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009).

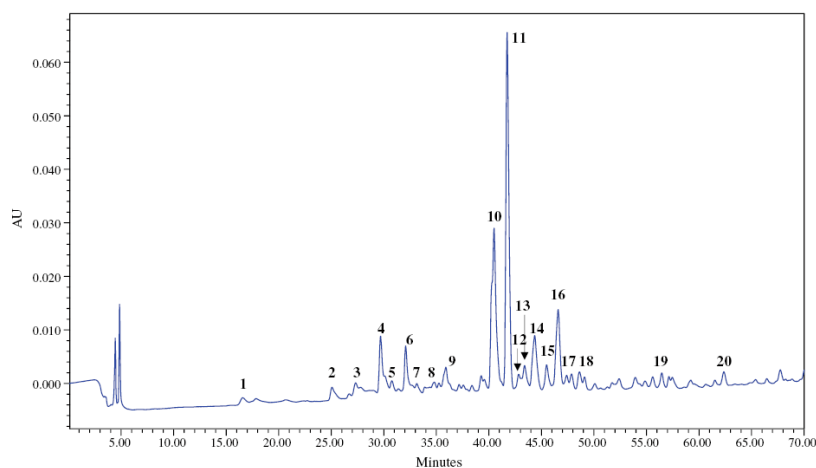


FIGURA 4. Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos não antociânicos presentes no açaí a 280 nm. Os números correspondem aos seguintes compostos: 1, ácido protocatechuico; 2, ácido *p*-hidroxibenzóico; 3, (+)-catequina; 4, ácido vanílico; 5, luteonina di-glicosídeo; 6, ácido sirínico; 7, apigenina di-glicosídeo; 8, (-)-epicatequina; 9, taxifolina derivativa; 10, isoorientina; 11, orientina; 12, isovitexina derivativa; 13, ácido ferrúlico; 14, taxifolina deoxyhexose; 15 e 18, dímeros de procianidina; 16, isovitexina; 17, scoparina; 19 e 20, trímeros de procianidinas.

Fonte: PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009.

Diversos trabalhos científicos já demonstraram a elevada capacidade antioxidante tanto do suco de açaí quanto de extratos de açaí. Um estudo pioneiro de Silva (2002), obteve um valor $ORAC_{Fluoresceína}$ em suco de açaí de $150 \pm 9,55 \mu\text{mol}_{TE}/\text{g}$ de matéria seca, já Pacheco-Palencia, Duncan e Talcott, (2009) apresentaram um valor $ORAC_{Fluoresceína}$ de $87,4 \pm 4,4 \mu\text{mol}_{TE}/\text{g}$ de matéria seca e desta quantidade, $82,4 \pm 2,3 \mu\text{mol}_{TE}/\text{g}$ de matéria seca para a fração antociânica e $3,7 \pm 0,34 \mu\text{mol}_{TE}/\text{g}$ de matéria seca para a fração não antociânica. Para extratos de frutos de açaí, Hogan *e col.* (2010), apresentaram um valor $ORAC_{Fluoresceína}$ de $2589 \pm 63,1 \mu\text{mol}_{TE}/\text{g}$ de matéria seca.

2.2. ADSORÇÃO

2.2.1. Conceitos gerais

A adsorção é uma operação de transferência de massa do tipo sólido – fluido na qual se explora a habilidade de certos sólidos em concentrar na sua superfície determinadas substâncias existentes em soluções, sejam estas líquidas ou gasosas, permitindo separá-las dos demais compostos dessas soluções (GOMIDE, 1988). A substância a ser concentrada na superfície é definida como adsorbato e o material em que o adsorbato se acumula é definido como adsorvente (HINES; MADDOX, 1985).

A adsorção envolve um fluido e um sólido, o qual pode ser modificado ou não. Este processo é extremamente útil na recuperação de solutos tóxicos presentes em soluções diluídas devido a problemas ambientais. A velocidade em que ocorre a adsorção pode depender de alguns fatores como o tamanho e estrutura da molécula do adsorbato, natureza do adsorvente e propriedades físicas e químicas do adsorvente (GREGS; SING, 1967).

O mecanismo de adsorção pode ser representado por uma seqüência de quatro etapas (HALL *e col.* 1966; MCKAY; OTTERBURN; SWEENEY, 1980; HINES; MADDOX, 1985; SLEJKO, 1985; DO, 1998; SCORDINO *e col.* 2003):

- 1) Transferência de massa do adsorbato no filme externo;
- 2) Difusão da fase líquida contendo o adsorbato nos poros do adsorvente;
- 3) Formação da camada de adsorbato sobre a superfície do adsorvente;
- 4) Transferência de massa do adsorbato e sua precipitação nos poros do adsorvente.

Nos estudos sobre a adsorção o arranjo experimental é fundamental para verificar o comportamento do adsorvente frente à fase fluida. Com a aplicação dos dados experimentais aos modelos matemáticos existentes é possível determinar, por exemplo, as constantes de cinéticas de velocidade, massa máxima adsorvida do adsorbato por grama do adsorvente, parâmetros energéticos entre a fase sólida e líquida e taxa de adsorção sobre os adsorventes que é uma variável controlada pelo processo de transporte do soluto até a superfície e/ou para dentro dos poros da fase sólida (SING *e col.* 1985).

2.2.2. Contexto histórico

O primeiro registro quantitativo do processo de adsorção foi observado por Scheele em 1773 e posteriormente Fontana em 1777 onde foram reportados alguns experimentos de recuperação de gases por carvão e argilas. Em 1785 um estudo de Lowitz foi realizado utilizando carvão para descolorir alguns líquidos contendo ácido tartárico. Estudos sistemáticos da adsorção foram iniciados por Saussure em 1814 onde o mesmo descobriu a adsorção de vários gases por substâncias porosas (carvão, cortiça, amianto, entre outros) e o caráter exotérmico do processo (FRAISSARD; CONNER, 1997; DĄBROWSKI, 2001).

O termo “adsorção” foi proposto por Bois-Reymond, mas introduzido na literatura por Kayser em 1881. Este autor também desenvolveu alguns conceitos teóricos que deram a base para a teoria da adsorção monomolecular. McBain em 1909 introduziu o termo “absorção” e posteriormente atribuiu o termo “sorção” para os processos de adsorção e absorção. Em 1903, Tswett descobriu a adsorção seletiva, separando clorofila de outros componentes da plantas por meio de sílica. Esta técnica proposta por Tswett foi chamada de “cromatografia de adsorção em coluna sólido - líquido” e abriu um novo campo de pesquisa sobre fenômenos de superfície (FRAISSARD; CONNER, 1997; DĄBROWSKI, 2001).

Uma equação empírica sobre a adsorção foi proposta por Boedecker em 1895, porém ficou conhecida por Freundlich, e a esta equação foi dado o seu nome. Langmuir em 1918 desenvolveu uma teoria de adsorção de gases em superfícies sólidas adotando conceitos claros de “adsorção monomolecular” e “superfície energeticamente homogênea”, introduzindo também a teoria de adsorção física e química (FRAISSARD; CONNER, 1997; DĄBROWSKI, 2001).

Brunauer, Emmett e Teller, em 1938, desenvolveram um modelo de adsorção para multicamadas, conhecido como modelo BET. Já Dubinin-Radushkevich, em 1946, propuseram um modelo para diferenciar a adsorção física da química com base no potencial de adsorção introduzido por Eucken e Polanyi (FRAISSARD; CONNER, 1997; DAŁBROWSKI, 2001).

O período de desenvolvimento do processo de adsorção terminou por volta dos anos 40 e 50, quando suas teorias (por exemplo, condensação capilar, potencial de Polanyi) e as equações desenvolvidas (Freundlich, Langmuir, BET, Dubinin-Radushkevich) foram intensamente verificadas experimentalmente (DAŁBROWSKI, 2001).

Atualmente, o processo de adsorção é amplamente utilizado na separação e purificação de gases e líquidos em diversos campos da indústria, como a petrolífera, petroquímica, química, ambiental, farmacêutica, alimentícia, entre outras. As aplicações típicas são nas produções de gases industriais, na separação de hidrocarbonetos, no tratamento do ar, da água e dos resíduos industriais, na produção de medicamentos e na recuperação de compostos de alto valor agregado (SUM; MEUNIER, 2003).

2.2.3. Mecanismos de adsorção

Dependendo dos tipos de ligações formadas entre o adsorbato e a superfície do adsorvente, a adsorção é descrita como adsorção física ou adsorção química.

A adsorção física ou de van der Waals resulta quando um adsorbato se adere em uma superfície por forças de van der Waals (por exemplo, forças de dispersão e Coulômbica). Embora um deslocamento de elétrons possa existir, os elétrons não são compartilhados entre o adsorvente e o adsorbato (HINES; MADDOX, 1985). Em virtude da pequena energia envolvida na adsorção física (5 – 40 KJ/mol), o equilíbrio entre as moléculas do adsorbato e da fase fluida é atingido lentamente no decorrer do processo (THOMAS; THOMAS, 1997; INGLEZAKIS; POULOPOULOS, 2006; SOMASUNDARAN, 2006).

A diferença primária da adsorção química ou quimiosorção com a adsorção física é a natureza da ligação que é formada entre a molécula do adsorbato e a superfície do adsorvente. A quimiosorção é caracterizada pelo compartilhamento de elétrons entre o adsorbato e o adsorvente e que resulta na liberação de uma quantidade de calor próxima ao calor de reação. (HINES; MADDOX, 1985). Essa energia gerada pela quimiosorção fica na ordem de

grandeza de 80 – 400 KJ/mol (THOMAS; THOMAS, 1997; INGLEZAKIS; POULOPOULOS, 2006; SOMASUNDARAN, 2006).

As diferenças nesses dois tipos de adsorção são apresentadas no Quadro 1 (HOUGHEN; WATSON; RAGATZ, 1984).

QUADRO 1. Comparação entre a adsorção física e química.

Item	Adsorção física	Adsorção Química
Calor de adsorção	Pequeno, da mesma ordem que a liquefação normal	Elevado, muitas vezes, maior do que o calor normal de liquefação
Velocidade de adsorção	Regulada pela resistência ao transporte de massa	Regulada pela resistência à reação superficial
Especificidade	Baixa. Toda a superfície disponível para a adsorção física	Elevada. Limitada aos sítios ativos na superfície
Cobertura da superfície	Completa e extensível a várias camadas	Incompleta e limitada a uma camada unimolecular
Energia de ativação	Baixa, quase desprezível	Elevada, que corresponde a uma reação química
Quantidades adsorvidas por unidade de massa	Elevadas	Baixas

Fonte: HOUGHEN; WATSON; RAGATZ, 1984.

Considerando que a adsorção é aplicada em processos de purificação e separação, existem dois processos industriais de adsorção que podem ser empregados: a) Leito pulsado, batelada ou *bath*, que consiste no contato, sob agitação, de um adsorvente com baixa granulometria, com um fluido geralmente líquido; o adsorvente é separado por filtração após certo tempo, enquanto que um incremento de adsorvente novo é adicionado simultaneamente (Figura 5a); b) Leito fixo, que consiste na passagem de um líquido ou gás em fluxo contínuo por meio de um reator, onde internamente existe uma massa fixa de adsorvente (fase estacionária) até atingir o equilíbrio. Então, o adsorvente modificado é removido do reator e

trocado por um outro ou regenerado, esta etapa é dita como dessorção (Figura 5b) (CIOLA, 1981).

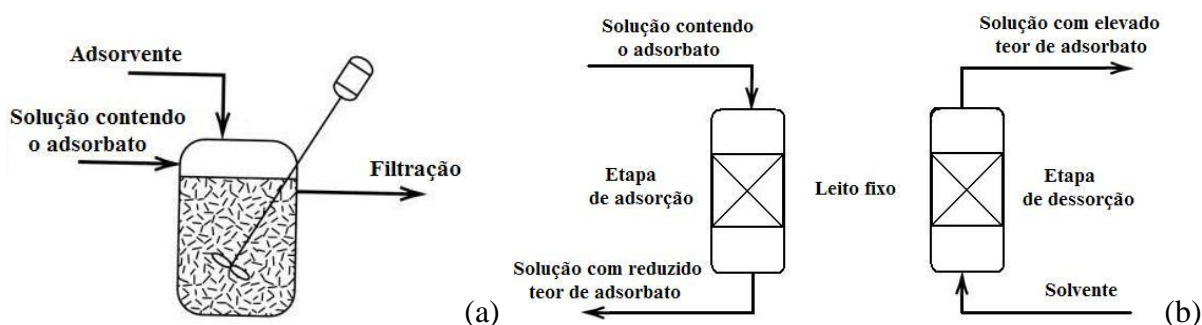


FIGURA 5. Modos de contato no processo de adsorção. (a) batelada (b) Leito fixo.

Fonte: Adaptado de SEADER; HENLEY, 1998.

2.2.4. Materiais adsorventes

Os adsorventes são materiais altamente porosos, o que faz com que a adsorção ocorra primeiramente nas paredes destes poros ou em lugares específicos do interior da partícula, chamados sítios de adsorção. Estes poros são, geralmente, muito pequenos, então a área superficial interna destes poros é de uma ordem de grandeza superior a área externa, sendo que alguns adsorventes chegam a $1.000 \text{ m}^2/\text{g}$ (McCABE; SMITH; HARRIOT, 2001).

Estes sólidos porosos podem ser classificados em: microporosos (diâmetro dos poros inferior a 2 nm), mesoporosos (diâmetro dos poros superior a 2 nm e inferior a 50 nm) e macroporosos (diâmetro dos poros superior a 50 nm) Apesar desta classificação ser freqüentemente aceita, ela é arbitrária e foi desenvolvida baseada na adsorção de nitrogênio numa ampla faixa de sólidos porosos (DO, 1998).

Para ser comercialmente importante, um adsorvente deve reunir uma série de características favoráveis de eficiência, seletividade, resistência mecânica, perda de carga, custo, aglomeração, inércia química e densidade, porém a propriedade mais importante é a área específica (área externa mais área dos poros), pois quanto maior for a área interfacial do sólido, mais favorável será a adsorção (GOMIDE, 1988).

Os adsorventes são convenientemente divididos em três classes: carbonos, material inorgânico e polímeros sintéticos (CUSSLER, 1997). O Quadro 2 fornece alguns adsorventes com suas especificações e usos.

QUADRO 2. Dados típicos e exemplos de aplicação comercial de alguns adsorventes.

Classe	Adsorvente	Tamanho (mm)	Área (m ² /g)	Exemplos de aplicação
Carbono	Carbono ativado	0,6-5	600-1600	Tratamento de água, purificação de gás, recuperação de solvente
Material inorgânico	Óxido de alumínio	0,7-25	50-250	Secagem de gases e líquidos
	Sílica gel	0,1-3	320-900	Secagem de gases
	Terra Fuller e argilas	<0,07	130-250	Purificação de óleo vegetal e animal
Polímeros sintéticos	Resinas	0,25-0,84	330-1200	Purificação de aminoácidos e peptídeos e remoção e recuperação de compostos fenólicos de produtos e subprodutos de plantas, e outros compostos orgânicos.

Fonte: LYDERSEN, 1985 e SCORDINO, *e col.* (2004).

Os carbonos possuem superfícies não polares que são usadas para adsorver moléculas apolares, especialmente hidrocarbonetos. Esses adsorventes são produzidos por material orgânico e inorgânico, incluindo carvão, coque de petróleo, madeira e casca de coco. Materiais inorgânicos variam muito, a alumina ativada possui uma superfície polar; a sílica gel consiste em um dióxido de silicone amorfo e as zeólitas, sendo aluminossilicatos cristalinos com tamanhos de poros específicos (CUSSLER, 1997).

As resinas adsorventes de polímeros sintéticos são apolar (estirenodivinilbenzeno - SDVB) ou ligeiramente hidrofílicas (acrílica), possuem uma alta capacidade de adsorção com possível recuperação das moléculas adsorvidas, relativo baixo custo e fácil regeneração (SCORDINO *e col.* 2004). Polímeros trocadores de íons com carga fixa negativa geralmente são feitos pelo tratamento de copolímeros de estirenodivinilbenzeno tratado com ácido sulfúrico (CUSSLER, 1997).

A copolimerização de estireno com um agente de ligação cruzada como o divinilbenzeno produz uma estrutura tridimensional de ligações cruzadas (Figura 6). De acordo com o percentual utilizado de divinilbenzeno na síntese da resina o grau de ligações cruzadas é definido (SEADER; HENLEY, 1998).

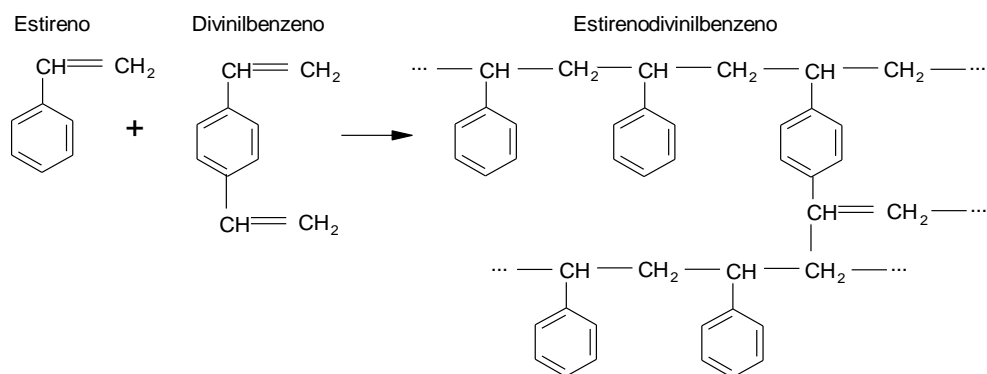


FIGURA 6. Reação de copolimerização para a formação de uma resina macroporosa.

Fonte: SEADER; HENLEY, 1998.

Uma resina polimérica pode ser descrita como uma estrutura complexa, a qual é formada por polímeros retilíneos compostos por unidades monoméricas constantes formando uma espécie de rede como ilustrado na Figura 7 (MARQUARDT; EIFLER-LIMA, 2001).

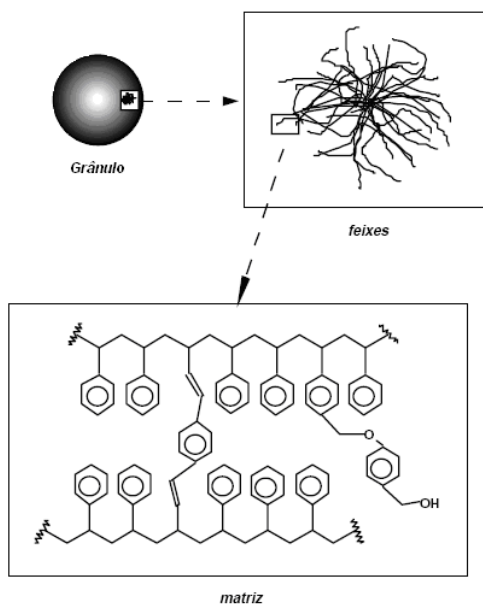


FIGURA 7. Visualização progressiva da estrutura de uma resina genérica, a partir de uma unidade macroscópica e as cadeias poliméricas que a compõem até a fórmula molecular de um determinado polímero.

Fonte: MARQUARDT; EIFLER-LIMA, 2001.

Existem diversos tipos de resinas poliméricas a venda no mercado e, constantemente, novas formas de fabricação são desenvolvidas gerando os mais variados tipos de resinas macroporosas com características físicas e químicas bem distintas. Pode-se citar a série Amberlite® XAD da *Röhm and Haas* como as mais conhecidas e usadas por possuírem diversas funcionalidades como: aditivos na produção de plásticos, remoção de poluentes orgânicos, recuperação e purificação de antibióticos, enzimas, aminoácidos, proteínas e corantes naturais (ROHM AND HAAS, 2008).

A série Amberlite® XAD são esferas poliméricas que diferem entre si de acordo com suas características físicas e químicas, como: porosidade, área específica, tamanho da partícula, volume, diâmetro dos poros, composição química, grau de polaridade, entre outros (ROHM AND HAAS, 2008). Essas características influenciam diretamente na velocidade dos processos de adsorção, pois esse é regido pela difusão de alguma espécie através da matriz polimérica da resina (HINES; MADDOX, 1985).

Existem três tipos de estruturas químicas atribuídas às resinas da série Amberlite® XAD, estas são: aromática (SDVB), acrílica e fenólica (Figura 8). O Quadro 3 apresenta algumas características físico-químicas das resinas XAD segundo seu fabricante.

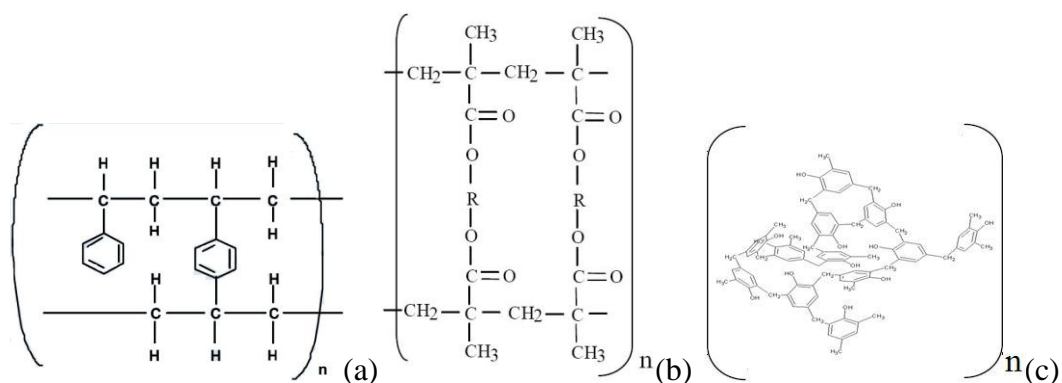


FIGURA 8. Estrutura química das resinas da série Amberlite® XAD. (a): aromática, (b): acrílica e (c): fenólica.

Fonte: ROHM AND HAAS, 2008.

QUADRO 3. Características físico-químicas das resinas da série Amberlite® XAD da empresa Rohm and Haas.

Resina	Estrutura Química	Área superficial (m²/g)	Raio do poro (Å)	Porosidade (mL/mL)	Tamanho da partícula (mm)
XAD 2	Aromática	300 (min.) ^a	45	≥ 0,50	0,2 – 1,0
XAD 4	Aromática	750 (min.)	55 – 80	≥ 0,50	0,2 – 1,2
XAD 16	Aromática	800 (min.)	200 – 250	≥ 0,55	0,2 – 1,2
XAD 16HP	Aromática	800 (min.)	200 – 250	≥ 0,55	0,2 – 1,2
XAD 1180	Aromática	500 (min.)	400 – 450	≥ 0,60	0,2 – 1,9
XAD 1600	Aromática	800 (min.)	80 – 120	≥ 0,55	0,4
XAD 7HP	Acrílica	380 (min.)	450 – 500	≥ 0,50	0,2 – 1,2
XAD 761	Fenólica	150 – 250	55 – 80	0,95 – 1,18	0,2 – 1,2

^a Valor mínimo. Fonte: ROHM AND HAAS, 2008

2.2.5. Isotermas de equilíbrio de adsorção

Isotermas de adsorção são curvas obtidas a partir da quantidade de soluto adsorvido por unidade de massa do adsorvente em função da concentração desse soluto na solução de equilíbrio. Giles, D’Silva e Easton (1974) e Giles, Smith e Huitson (1974) dividiram as isotermas de adsorção em quatro principais classes (Figura 9), de acordo com sua inclinação inicial. Cada classe, por sua vez, foi subdividida em vários subgrupos, baseados na forma das partes superiores da curva. As quatro classes foram nomeadas de isotermas do tipo S ("Spherical"), L ("Langmuir"), H ("High affinity") e C ("Constant partition").

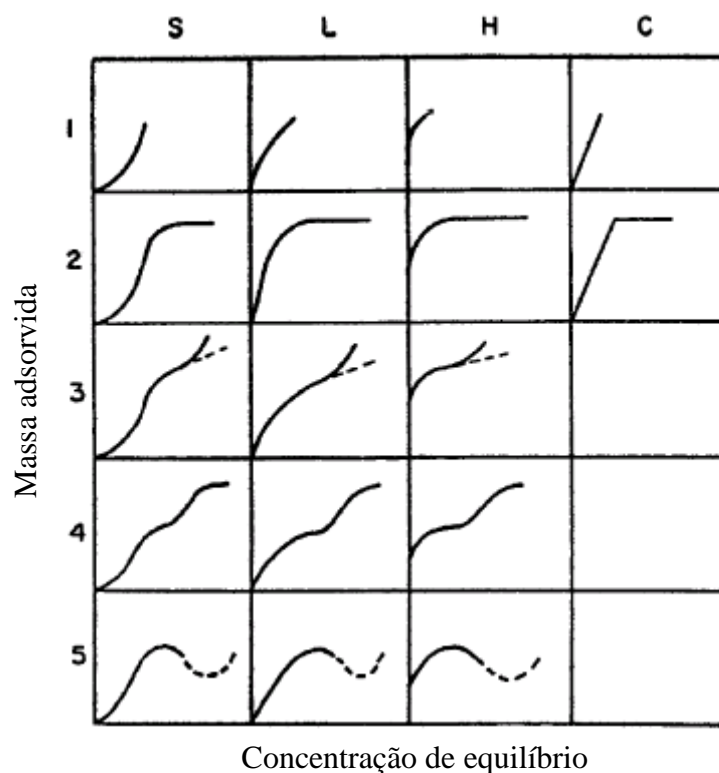


FIGURA 9. Classificação das isotermas de adsorção. S: Spherical, L: Langmuir, H: High affinity e C: Constant partition.

Fonte: GILES; D'SILVA; EASTON, 1974; GILES; SMITH; HUITSON, 1974.

2.2.5.1. Isotermas do tipo S

Este tipo de isoterma tem inclinação linear e convexa em relação à abscissa. A adsorção inicial é baixa e aumenta à medida que o número de moléculas adsorvidas aumenta. Isto significa que houve uma associação entre moléculas adsorvidas, que pode ser chamada de adsorção cooperativa.

2.2.5.2. Isotermas do tipo L

A forma L possui inclinação não linear e côncava em relação à abscissa. Nesse caso, há uma diminuição da disponibilidade dos sítios de adsorção quando a concentração da solução aumenta. Este tipo de isoterma sugere que não há competição entre o solvente e o adsorbato pelos sítios de adsorção dos adsorventes.

2.2.5.3. Isotermas do tipo H

Trata-se de um caso especial de curva do tipo L e é observada quando a superfície do adsorvente possui alta afinidade pelo soluto adsorvido.

2.2.5.4. Isotermas do tipo C

Corresponde a uma partição constante do soluto entre a solução e o adsorvente, dando à curva um aspecto linear. As condições que favorecem as curvas do tipo C são substratos porosos flexíveis e regiões de diferentes graus de solubilidade para o soluto.

As isotermas do tipo C e L são frequentemente muito próximas, podendo em muitos casos serem consideradas do mesmo tipo.

2.2.6. Cinética de adsorção

A elucidação da cinética de adsorção é um pré-requisito básico para se adequar qualquer processo desse tipo ao nível industrial. As cinéticas de adsorção predizem a taxa em que um processo de adsorção ocorre objetivando, assim, a relação custo/eficiência no projeto de elaboração de equipamentos. Na cinética de adsorção é possível prever o tempo mínimo necessário de contato entre o adsorbato e o adsorvente a fim de se obter uma concentração máxima na fase sólida (HO, 2006).

Outro propósito em determinar a cinética de um processo de adsorção é ter idéia dos mecanismos pelos quais a adsorção ocorre, tal como a difusão externa ou no filme, difusão na matriz porosa e a adsorção na superfície do poro ou a combinação destas. Em função da forma como se dá este processo vários modelos cinéticos são sugeridos. Os vários modelos cinéticos descrevem a ordem da reação e se baseiam, em todos os casos, na concentração da solução remanescente (HO, 2006). Os modelos mais adotados para caracterizar a cinética de adsorção são: o modelo de pseudo 1ª ordem, pseudo 2ª ordem e o modelo de Weber-Morris ou de difusão intrapartícula.

2.2.6.1. Modelo cinético de pseudo 1ª ordem.

Em 1898, Lagergren apresentou a equação cinética de pseudo primeira ordem para a adsorção de ácido malônico e ácido oxálico em carvão ativado. A equação pode ter sido a primeira a descrever um modelo cinético para sistemas de adsorção líquido-sólido baseada na capacidade de adsorção. A equação de Lagergren pode ser representada matematicamente como na Equação 1 (HO, 2006; HO; McKAY, 1999):

$$\frac{dq_e}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (1)$$

Onde q_e (mM/g_{resina}) é a capacidade de adsorção no equilíbrio, q_t (mM/g_{resina}) é a capacidade de adsorção no tempo t (min.), k_1 é a constante de cinética da taxa de adsorção de primeira ordem (min.⁻¹). A forma linearizada dessa equação denota a Equação 2.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (2)$$

2.2.6.2. Modelo cinético de pseudo 2ª ordem

Recentemente, Ho e Mckay (1999) propuseram um modelo cinético de segunda ordem para a adsorção de íons metálicos divalente em partículas de turfa (material fóssil originado da decomposição de restos vegetais). Com o objetivo de diferenciar a cinética da taxa de adsorção de segunda ordem, baseada na concentração do adsorbato, os autores chamaram o modelo de pseudo segunda ordem (KUMAR; SIVANESAN, 2006). O modelo cinético de pseudo segunda ordem é dado pela Equação 3:

$$\frac{dq_e}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (3)$$

Onde q_e e q_t (mM/g de resina) representam a concentração do adsorbato adsorvido no equilíbrio e no tempo t (min.), respectivamente e k_2 é a taxa constante de adsorção de segunda ordem. A forma linearizada dessa equação nos apresenta a Equação 4:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (4)$$

2.2.6.3. Modelo cinético de Weber-Morris ou de difusão intrapartícula

O transporte do adsorbato presente na fase líquida ou gasosa à superfície das partículas do adsorvente pode ocorrer em diversas etapas. O processo total de adsorção pode ser controlado por uma ou mais etapa, por exemplo, difusão na película ou difusão no filme, difusão no poro ou uma combinação de mais de uma etapa (BILGILI, 2006; SRIVASTAVA e col. 2006). Geralmente, um processo de adsorção é controlado pela difusão se sua taxa for dependente da taxa em que os componentes difundem para os poros do adsorvente. Este modelo foi empregado inicialmente por Weber e Morris (1963).

$$q_t = k_{id} t^{1/2} + C \quad (5)$$

Onde k_{id} é a constante cinética do modelo de difusão intrapartícula ($\text{mM/g}_{\text{resina}} \text{min}^{1/2}$), t é o tempo (min.) e C é a constante que sugere a espessura da camada limite ($\text{mM/g}_{\text{resina}}$).

Na plotagem dessa equação duas fases sugerem que o processo de adsorção provém de duas etapas: difusão no filme e difusão no poro. A curvatura inicial do gráfico sugere a difusão no filme ($D_f - \text{m}^2/\text{s}$) e a posterior, a difusão no poro ($D_p - \text{m}^2/\text{s}$) do adsorbato. Crank, (1975) assumiu que se a equação de difusão intrapartícula segue a Lei de Fick e o que material adsorvente possa ser considerado uma esfera de raio ($r - \text{m}$) a equação da difusão, para tempos curtos de processo, se reduz a Equação 6. Já para tempos elevados a equação da difusão fica como apresentado na Equação 7.

$$\frac{q_t}{q_e} = 6 \left(\frac{D_f}{\pi r^2} \right)^{1/2} t^{1/2} \quad (6)$$

$$\ln \left(1 - \frac{q_t}{q_e} \right) = \ln \frac{6}{\pi^2} - \left(\frac{D_p \pi^2}{r^2} \right) t \quad (7)$$

2.2.7. Adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas.

O processo tecnológico usando resinas macroporosas não iônicas na purificação de extratos vegetais e sucos tem se mostrado de grande interesse na última década. Diversas literaturas científicas abordam o uso da adsorção na remoção de compostos amargos de sucos cítricos, de produtos que geram reações de escurecimento em sucos, de compostos indesejáveis para o produto final e na purificação de compostos de alto valor econômico.

Em relação à purificação de compostos de elevado valor econômico, os compostos fenólicos são alvo de recentes pesquisas na área da adsorção tanto para determinar e otimizar quais fatores regem esse processo quanto para elucidar quais materiais adsorventes são mais adequados para esse processo. Um trabalho pioneiro na separação qualitativa de diferentes classes de compostos fenólicos foi desenvolvido por Tomás-Barberán *e col.* (1992). Neste trabalho, uma solução aquosa contendo 0,08 mg/mL de cada flavonóide estudado (quercetina, rutina, naringenina, tangeretina e naringina) foi preparada e passada em um leito fixo de dois tipos de resinas macroporosas não iônicas XAD 2, XAD 4 e XAD 16 (estirenodivinilbenzeno) ou ligeiramente hidrofílicas XAD 7 e XAD 8 (acrílica). Os resultados indicaram que entre os tipos de resinas as de estirenodivinilbenzeno (XAD 2, principalmente) se destacaram em

relação as acrílicas no fracionamento dos diferentes compostos fenólicos quando se usou soluções de metanol em diferentes concentrações na etapa de dessorção.

Yamamoto *e col.* (2007) determinaram as propriedades de equilíbrio na separação cromatográfica de dois flavonoides (catequina e epigalocatequina galato) utilizando resinas macroporosas de estirenodivinilbenzeno como fase estacionária e solução de etanol como fase móvel. O fator de retenção (k) foi obtido para cada concentração de etanol na fase móvel, com isto a melhor resolução cromatografia para a separação dos dois compostos fenólicos foi quando a concentração de etanol na solução era abaixo de 25%, como mostrado na Figura 10.

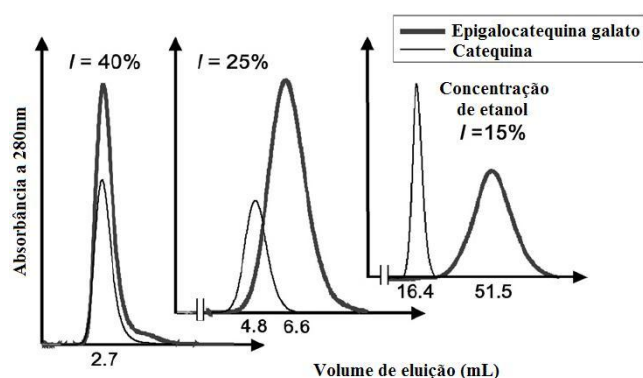


FIGURA 10. Curvas de eluição isocrática de compostos fenólicos em resina HP20SS com diferentes concentrações de etanol.

Fonte: Yamamoto *e col.* (2007).

Pompeu *e col.* (2010) estudaram a adsorção de quatro classes de compostos fenólicos (ácido benzóico, cinâmico, flavanois e flavonoides) em resinas sintéticas macroporosas de estirenodivinilbenzeno (EXA 118, EXA 90 e XAD16) e acrílica (XAD 7). Os resultados indicaram que a seqüência de adsorção segundo os dados de adsorvidade do soluto (K_L) do modelo de Langmuir foi: rutina (EXA 118 > XAD 16 > XAD 7 ~ EXA 90), ácido ferrúlico (XAD 16 ~ EXA 118 > EXA 90 ~ XAD 7), ácido caféico (EXA 118 > EXA 90 ~ XAD 16 ~ XAD 7), (+)-catequina (EXA 118 > XAD 7 ~ XAD 16 > EXA 90) e ácido gálico (EXA 118 ~ XAD 7 > XAD 16 > EXA 90). Neste mesmo trabalho foi apresentado um esquema das forças de ligação envolvidas na adsorção, estas foram principalmente: pontes de hidrogênio, “empilhamento π - π ” (π - π stacking, em inglês) e interações hidrofóbicas (Figura 11).

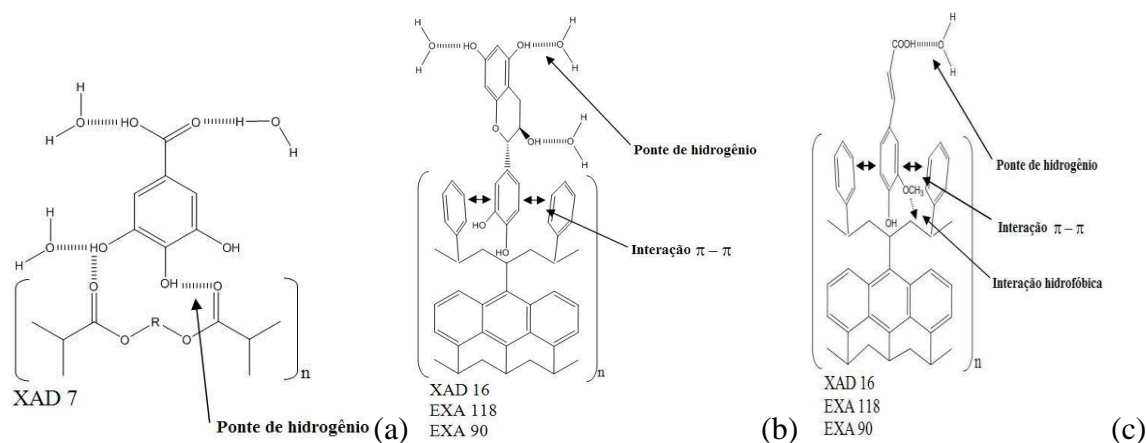


FIGURA 11. Esquemas propostos para as forças de ligação envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em resinas macroporosas (a) ácido gálico, (b) (+)-catequina e (c) ácido ferrúlico.

Fonte: Pompeu *e col.* (2010).

Bretag *e col.* (2009a e 2009b) desenvolveram uma equação através de um design matemático (*D-optimal*) que rege a adsorção de flavonóides (rutina, ácido caféico, ácido clorogênico, (+)-catequina e florizina) sobre uma resina macroporosa de estirenodivinilbenzeno (XAD 16HP) em diferentes condições de concentração do adsorbato, pH, temperatura e quantidade de resina (Figura 12). Os resultados indicaram, por exemplo, que as melhores condições apresentadas para a adsorção de 94,3% de rutina foram: concentração de 50mg/L, pH de 1, temperatura de 40°C e 0,15g de resina. Já as condições otimizadas para a adsorção de 75,2% de (+)-catequina foram: concentração de 50mg/L, pH de 1, temperatura de 20°C e 0,25g de resina. Os autores sugeriram que o fracionamento de compostos fenólicos em extratos pode ser obtido ajustando as condições do mesmo processo às ótimas determinadas para o composto de interesse.

Diversos trabalhos também foram publicados sobre a purificação de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas. Fu *e col.* (2006) estudaram a adsorção de luteonina presente em extrato de folhas de guandu (*Cajanus cajan*) e obtiveram uma concentração de mais de 20 vezes de luteolina. Já Fu *e col.* (2007) estudando também extratos de folhas de guandu encontraram uma concentração dos compostos vitexina (apigenina-8-C-glicosídeo) e isovitexina (apigenina-6-C-glicosídeo) de 4 e 11 vezes, respectivamente quando submetidos a resina de natureza apolar ADS-5. Um trabalho com a mesma matriz foi desenvolvido por Liu *e col.* (2010), onde estudaram a purificação de genisteína e apigenina com o uso de onze resinas e obtiveram um acréscimo de 9,36 vezes para a primeira e 11,09 vezes para a segunda. Outro estudo foi o de Ying *e col.* (2007) o qual avaliou a capacidade adsorptiva de nove

resinas na adsorção dos flavonóides quercetina, rutina, hiperina e quercitrina presentes em extratos de *Houttuynia cordata*, seus resultados indicaram a resina apolar D101 como melhor adsorvente por apresentar um recuperação de 93% desses compostos.

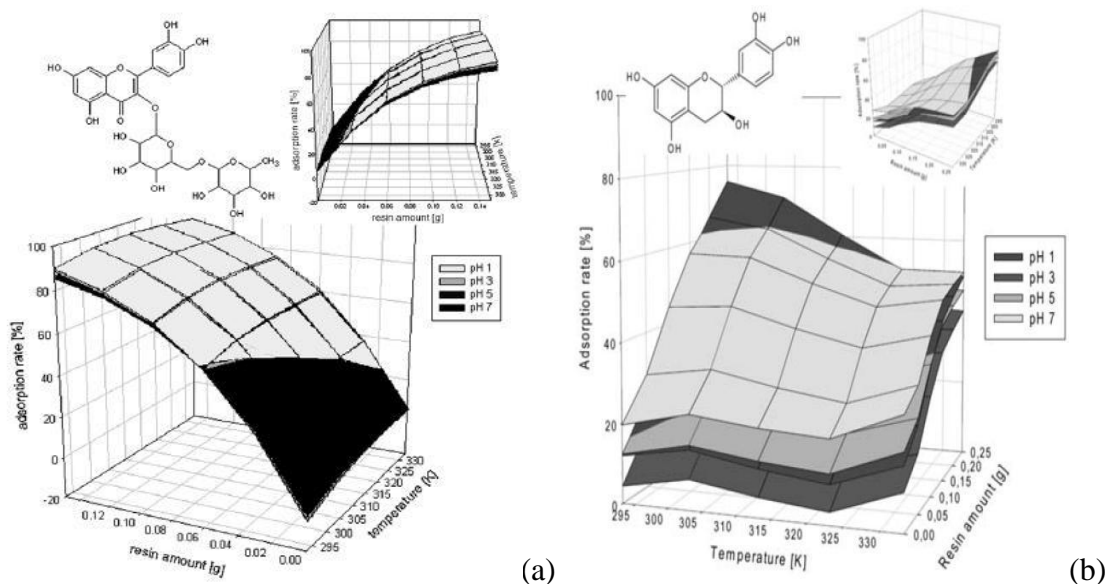


FIGURA 12. Capacidade de adsorção para 50mg/L de rutina (a) e (+)-catequina (b) sobre a resina XAD 16HP dependendo da quantidade de resina, temperatura e pH do meio.

Fonte: Bretag *e col.*(2009a e 2009b).

Minghui e Shiyang (2007) estudaram a adsorção de salidroside (2-(4-hidroxifenil)etil β -D-glicopiranosídeo) em extratos de *Rhodiola sachalinensis*, em quatro tipos de adsorventes de polaridades diferentes, obtiveram uma recuperação de 13,8% desse composto no produto final utilizando a resina DA201 a qual apresentava a maior polaridade dentre as testadas. Na tentativa de purificar flavonóides (quantificados como fenóis totais) presentes em extratos de folhas de amoreira (*Morus alba*) Wang *e col.*(2008) estudaram a utilização 10 resinas comerciais e obteve um percentual de adsorção de 76,33% quando utilizou a resina H103. No mesmo intuito de purificar flavonóides presentes em extratos, só que de folhas de bambu preto (*Phyllostachys nigra* var. hemonis), Zhang *e col.* (2008) utilizaram um leito fixo preenchido com a resina AB-8 de natureza química aromática e passaram 5 L de extrato para depois dessorver utilizando uma solução de etanol a 50% (v/v). Os resultados indicaram uma concentração dos flavonóides vitexina (0,25%), orientina (0,75%), isovitexina (0,95%) e homoorientina (2,18%).

Trabalhos recentes de Huang *e col.* (2007), Zhao *e col.* (2008), Ren *e col.* (2008) e Geng *e col.* (2009) apresentam uma nova “tendência” em separar compostos fenólicos de matrizes alimentares. Huang *e col.* (2007) confeccionaram três adsorventes com diferentes grupos funcionais (PMVBA, PMVBU e PMA) e testaram suas capacidades de adsorção com polifenóis do chá. Os resultados alcançados indicaram que o processo de adsorção foi regido por interações fracas como as pontes de hidrogênio, as hidrofóbicas e as interações por “empilhamento π - π ”. A Figura 13 apresenta um esquema proposto para a interação entre as (+)-catequinas do chá com a resina PMVBU desenvolvida.

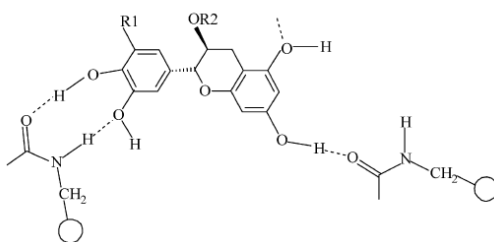


FIGURA 13. Esquema proposto das interações por ponte de hidrogênio com a (+)-catequina e a resina PMVBU.

Fonte: Huang *e col.* (2007).

O trabalho de Zhao *e col.* (2008), desenvolveram um adsorvente macroporoso com moderada hidrofobicidade e bastantes grupos funcionais para atuarem com pontes de hidrogênio junto aos polifenóis do chá. O esquema da estrutura proposta pelos autores pode ser verificado na Figura 14. Já Ren *e col.* (2008) sintetizaram as resinas macroporosas de modo que fosse testado o comportamento da adsorção com a variação de grupos funcionais (éster, amida e amino) e da quantidade de agente de ligação cruzada, no caso, estirenodivinilbenzeno (15, 12, 8 e 6%). Com isto, os autores apresentaram um esquema do mecanismo de adsorção (Figura 15) dos flavonóis glicosilados estudados.

Seguindo a mesma linha de raciocínio de Ren *e col.* (2008), Geng *e col.* (2009) comparam resinas comerciais (XAD 4, AB-8, D 380, ADS 21 e ADS 17) com outras sintetizadas pelos autores contendo grupos funcionais (éster, amida e amino) com diferentes teores (5 – 25% de etileno glicol dimetacrilato) do agente de ligação cruzada na adsorção de extratos de *S. barbata*, *G. biloba* L., *H. perforatum* L. e *R. puerariae*, os quais contém diversos flavonóides. Os resultados indicaram que a resina com grupamento amida a 15% de agente de ligação cruzada houve uma purificação de 50% dos compostos fenólicos nos

extratos finais, por isto os autores concluíram que as resinas modificadas foram mais efetivas na purificação de flavonóides de quatro extratos vegetais quando comparadas as resinas comerciais por conseguirem realizar mais interações, no caso específico, as interações por pontes de hidrogênio.

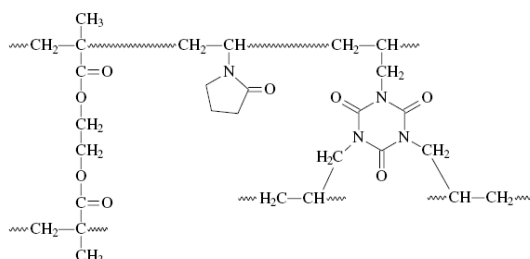


FIGURA 14. Estrutura esquemática da resinas PVP-DEGMA-TAIC macroporosa sintetizada.

Fonte: Zhao e col. (2008).

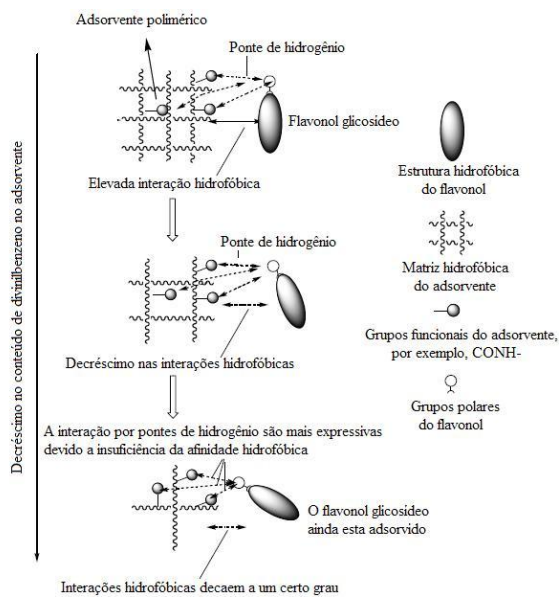


FIGURA 15. Esquema proposto das forças de ligação envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em resinas macroporosas sintetizadas.

Fonte: Ren e col. (2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

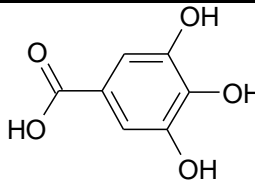
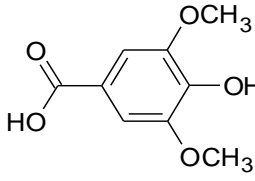
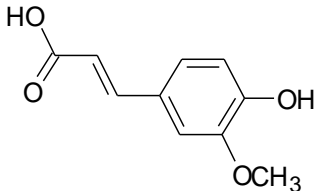
3.1. MATÉRIA – PRIMA

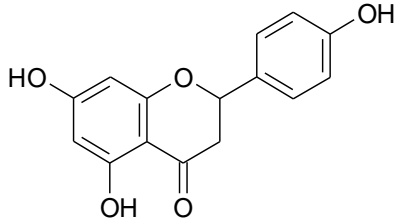
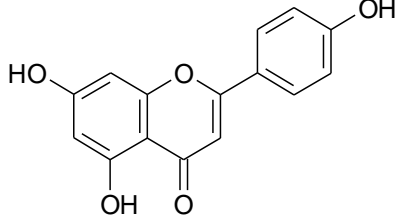
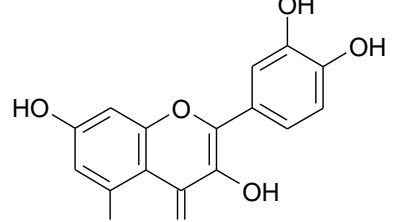
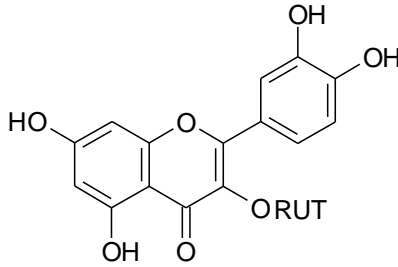
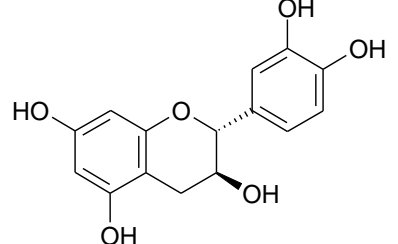
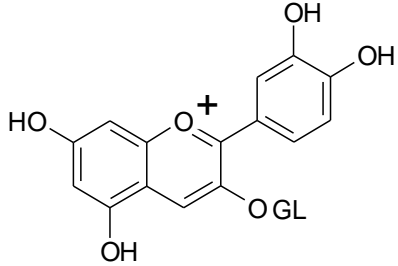
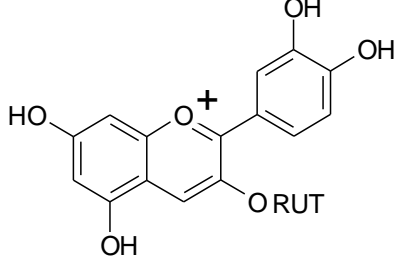
3.1.1. Padrões de compostos fenólicos e reagentes

Os dez padrões de compostos fenólicos utilizados neste trabalho com suas respectivas purezas e fabricantes são: ácido gálico (96%; Aldrich, DE), ácido siríngico ($\geq 97\%$; Fluka, SUI), ácido ferrúlico (99%; Aldrich, DE), (\pm)-naringenina (95%; Sigma, DE), apigenina ($\geq 95\%$; Sigma, DE), quercetina (95%; Aldrich, DE), rutina (95%; Sigma, DE), (+)-catequina ($\geq 96\%$; Fluka, SUI), cianidina-3-*O*-glicosídeo (99,5%; Extrasynthese, FR) e cianidina-3-*O*-rutinosídeo (97,7%; Extrasynthese, FR). No Quadro 4, estão apresentadas algumas características químicas dos compostos fenólicos estudados nesse trabalho.

Os reagentes ácido cítrico, fosfato de potássio dibásico, fosfato ácido de potássio e fosfato dissódico, ambos de grau analítico, foram adquiridos pela Synth (São Paulo, BR). A água ultrapura utilizada foi preparada usando o sistema Elga Maxima CS (Elga, High Wycomb, GB). Os reagentes para a análise cromatográfica (acetonitrila, metanol e ác. fórmico) e para o tratamento para o uso das resinas (etanol) foram comprados da empresa Tedia (Rio de Janeiro, BR), sendo todos de grau HPLC.

QUADRO 4. Características químicas dos compostos fenólicos estudados

Composto fenólico	Classe	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Estrutura química
Ácido gálico	Ácidos benzóicos	C ₇ H ₆ O ₅	170,10	
Ácido siríngico	Ácidos benzóicos	C ₉ H ₁₀ O ₅	198,18	
Ácido ferrúlico	Ácidos cinâmicos	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,20	

(±)-Naringenina	Flavanonas	$C_{15}H_{12}O_5$	272,27	
Apigenina	Flavonas	$C_{15}H_{10}O_5$	270,24	
Quercetina	Flavonol	$C_{15}H_{10}O_7$	302,24	
Rutina	Flavonol	$C_{27}H_{30}O_{16}$	664,60	
(+)-Catequina	Flavanol	$C_{15}H_{14}O_6$	290,28	
Cianidina-3-glicosídeo	Antocianinas	$C_{21}H_{21}O_{11}^+$	449,30	
Cianidina-3-rutinosídeo	Antocianinas	$C_{27}H_{31}O_{15}^+$	595,52	

3.1.2. Obtenção do extrato de *Euterpe oleracea*

O extrato dos frutos de de *E. oleracea* foram cedidos gentilmente pela empresa Amazon Dreams Ind. e Com. LTDA. Os respectivos teores em compostos fenólicos totais (método de Folin Ciocalteu) e antocianinas totais (método do pH diferencial) para o extrato estão apresentados no laudo técnico, o qual pode ser visualizado no Anexo deste trabalho.

3.1.3. Material adsorvente

Sete resinas sintéticas macroporosas de diferentes marcas comerciais Amberlite[®] e Relite[®] foram utilizadas no estudo de adsorção dos compostos fenólicos puros e estão apresentadas e caracterizadas no Quadro 5. As resinas XAD 2, XAD 7, XAD 16, XAD 761, XAD 1180 foram adquiridas pela Sigma (Steinheim, DE) e as resinas EXA 45 e EXA 118 foram gentilmente cedidas pela empresa Residion, Mitsubishi Chem. Co. (Milão, IT). Suas utilizações são permitidas para aplicações alimentares pelo código de regulamentação da Comunidade Européia e da Food and Drug Administration (Di MAURO *e col.* 2002; SCORDINO *e col.* 2003 e 2004).

Para o uso correto das resinas é necessário a realização de um pré-tratamento para a retirada das possíveis impurezas e sais presentes e posteriormente uma hidratação deve ser realizada para um melhor umedecimento e abertura dos poros. Para isto, foi realizada uma lavagem em abundancia da resina com água ultrapura e depois uma secagem a 70°C por 24h. As resinas secas foram mantidas em dessecador para posterior hidratação, onde 4 mL de etanol foram adicionados às resinas (10 mg) por 12h e no momento do processo de adsorção uma lavagem (2 x 4 mL) foi realizada com água ultrapura aquecida (40°C) para a remoção do solvente

QUADRO 5. Estrutura química e propriedades físicas dos adsorventes.

Nome comercial ^a	Estrutura química	Área específica (m ² /g)	Raio do poro (Å)	Porosidade (mL/g)	Tamanho da partícula (mm)
XAD 2	SDVB ^b	330	45	0,65	0,25 – 0,84
XAD 7	Acrílica	450	45	1,14	0,25 – 0,84
XAD 16	SDVB	800	50	1,82	0,25 – 0,84
XAD 761	Fenólica	150 – 250	300	0,95 – 1,18	0,56 – 0,76
XAD 1180	SDVB	600	150	1,68	0,25 – 0,84
EXA 45	SDVB	1000	38	1,20	0,25
EXA 118	SDVB	1200	90	2,30	0,25

^a XAD e EXA são marcas comerciais das respectivas companhias que as produzem. ^b SDVB – estirenodivinilbenzeno.

3.2. DETERMINAÇÃO DO PERCENTUAL DE HIDRATAÇÃO DAS RESINAS

As resinas passaram pela etapa de hidratação como descrito no item 3.1.3 e posteriormente pesadas em balança analítica de precisão (Mod. AS 200, Marte, São Paulo, BR). Após essa etapa, a resina hidratada passou por uma secagem a 110°C em estufa de circulação de ar forçado (Mod. Q-314M223, Quimis, São Paulo, BR) até peso constante. A Equação 8 foi usada para calcular o percentual de água retida pelas resinas.

$$\alpha = \frac{M_h - M_s}{M_s} \times 100\% \quad (8)$$

Onde, α é o percentual de água adsorvida pela resina, M_h é a massa de resina hidratada (g) e M_s é a massa de resina seca (g). O percentual de hidratação das resinas foi medido em triplicata e o valor médio juntamente com o desvio padrão foi calculado.

3.3. ESTUDO DA SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE UMA MISTURA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS

Um processo de adsorção em batelada foi realizado em uma mistura equimolar de dez compostos fenólicos sobre sete resinas. A solução de compostos fenólicos a pH= 3,5 e 7,5 com aproximadamente 2 mM foi obtida através da pesagem dos dez padrões, com uma massa referente a 12 x a concentração de estudo, e sua solubilização em etanol para assim se ter uma “solução mãe” de trabalho. Esta “solução mãe” foi então diluída 12 x nos tampões ác. cítrico/citrato (pH=3,5; 2 mM) e fosfato (pH=7,5; 2 mM). A concentração de etanol na solução de trabalho foi de 8,3%.

Uma massa de 10 mg de resina seca foi pesada em garrafas âmbar de plástico de 10 mL e, após pré-condicionamento realizado nas mesmas (item 3.1.3), 2 mL de uma solução equimolar dos composto fenólicos foi adicionada e imediatamente as garrafas foram saturadas com gás nitrogênio (N₂). O processo de adsorção ocorreu por 60 min. à temperatura de 25°C e sob a agitação orbital de 50rpm (Mod. Q 225 M2, Quimis, São Paulo, BR). O percentual de compostos fenólicos adsorvidos sobre a resina foi calculado pela diferença de concentração na solução inicial e após o processo de adsorção. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.4. DETERMINAÇÃO DAS CINÉTICAS DE ADSORÇÃO

O estudo do comportamento cinético da adsorção em batelada de uma mistura equimolar de compostos fenólicos puros sobre dois tipos de resinas macroporosas (XAD 2 e EXA 118) foi realizado a partir do preparo de uma “solução mãe” com concentração equimolar de compostos fenólicos (7,12 mM), a qual foi preparada com etanol e posteriormente diluída 13 x com tampão ác. cítrico/citrato (pH=3,5; 2 mM) para a obtenção da solução de trabalho a uma concentração de 0,55mM contendo 7,7% de etanol.

Uma massa de 5 mg da resina seca foi pesada em garrafas âmbar de plástico (10 mL) e, após seu pré-tratamento (item 3.1.3), 1 mL de solução de trabalho foi posta em contato e imediatamente saturada com N₂. Nos tempos de 1, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 e 180 min. o teor de compostos fenólicos foi determinado pela diferença de concentração na solução inicial e após o processo de adsorção. Um branco (solução de compostos fenólicos sem a presença das resinas) foi realizado no tempo de 180 min. para verificar o quanto cada composto sofreu degradação. As condições de temperatura e agitação foram as mesmas do item 3.3. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.5. ADSORÇÃO DE UM EXTRATO AMAZÔNICO EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS

Um extrato dos frutos de *E. oleracea* foi submetido as condições otimizadas de adsorção dos compostos fenólicos puros. Para isto, foi realizado um processo de adsorção usando três tipos de resinas macroporosas em seqüência XAD 2, EXA 45 e EXA 118. Uma massa de 0,125 g de cada resina foi pré-acondicionada (item 3.1.3) e posteriormente 25 mL de extrato foi adicionado em garrafa âmbar de vidro (50 mL) e rapidamente a amostra foi saturada com N₂.

O extrato de *E. oleracea* foi deixado em contato por um tempo de 60 minutos com cada resina e alíquotas de 1 mL foram retiradas de uma batelada para outra. O percentual de adsorção foi obtido pela diferença de concentração na solução inicial e após cada processo de adsorção. As concentrações em antocianinas totais desse extrato estão apresentadas no Anexo desse trabalho.

3.6. QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A UM DETECTOR UV/VIS

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada pelo sistema CLAE da série Shimadzu LC-10Avp (Tokyo, Japan) equipado com um software Class VP, com auto-injetor SIL-10AF, um forno para a coluna CTO-10AS, e um sistema de detecção a arranjos de diodo SPD-M20A o qual monitorou todos os comprimentos de onda na faixa de 200 a 600nm. A coluna utilizada para o experimento do item 3.3 foi a Gemini C18 (5 μ m, 250 \times 4.6 mm), acoplada a uma pré-coluna Gemini C18 (3,0 \times 4,0 mm) (Phenomenex, Torrance, CA). O fluxo empregado foi de 1 mL/min. a 30°C. A fase móvel consistia de água ultrapura com 1% de ác. fórmico (eluente A) e acetonitrila com 1% de ác. fórmico (eluente B) usando o seguinte gradiente (90% A para 80% A (8 min.), 80% A para 35% A (12 min.), 35% A para 25% A (5 min.), 25% A para 90% A (5 min.) e 90% A (5min.)). O tempo total da corrida foi de 35 min. O cromatograma obtido nos comprimentos de onda máximos de cada composto fenólico esta representado na Figura 16. O parâmetro cromatográfico tempo de retenção (TR) juntamente com os valores da curva de calibração estão apresentados na Tabela 2.

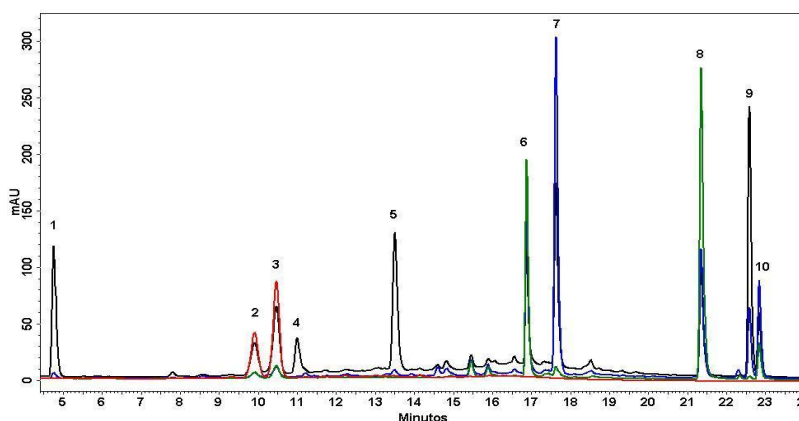


FIGURA 16. Cromatograma apresentando os dez compostos fenólicos separados pela coluna Gemini C18. Os compostos são: ác. gálico (1), cianidina-3-glicosídeo (2), cianidina-3-rutinisídeo (3), catequina (4), ác. siríngico (5), rutina (6), ác. ferrúlico (7), quercetina (8), naringenina (9) e apigenina (10). Os comprimentos de onda estão apresentados nas cores preta (280 nm), azul (320 nm), verde (370 nm) e vermelha (515 nm).

TABELA 2. Parâmetros utilizados na separação e quantificação dos compostos fenólicos em cromatografia líquida de alta eficiência utilizando uma coluna Gemini C18.

Composto fenólico	TR ^a (min.) ^b	Faixa de concentração (µM)	Equação da reta ^c	n ^d	R ^{2e}
Ácido gálico	4,82 ± 0,005	13 – 225	y = 9456x-85749	6	0,994
Cianidina-3-glicosídeo	9,89 ± 0,031	25 – 200	y = 20477x-235812	5	0,995
Cianidina-3-rutinosídeo	10,70 ± 0,009	7 – 80	y = 12900x+40273	5	0,995
Catequina	11,22 ± 0,012	10 – 165	y = 4200x-15483	6	0,999
Ácido siríngico	13,70 ± 0,011	10 – 160	y = 15221x-49450	6	0,999
Rutina	16,97 ± 0,002	12 – 200	y = 13972x-63915	6	0,999
Ácido ferrúlico	17,74 ± 0,003	10 – 180	y = 26989x-14073	6	0,999
Quercetina	21,43 ± 0,001	22 – 180	y = 27250x-50632	5	0,997
Naringenina	22,64 ± 0,004	10 – 176	y = 20597x-21812	6	0,997
Apigenina	22,90 ± 0,003	15 – 117	y = 27488x-35453	5	0,996

^a Tempo de retenção; ^b Valores médios ± desvio padrão; ^c y é a unidade de área relativa e x é a concentração em µM; ^d Número de pontos da reta; ^e Coeficiente de determinação.

A quantificação dos compostos fenólicos para os itens 3.4, 3.5 e 3.6 foi através do mesmo sistema cromatográfico, porém com uma coluna Kinetex Core-Shell (2,6 µm, 100 × 4,6 mm). O fluxo empregado foi de 1,5 mL/min. a 30°C. A fase móvel consistia de água ultrapura com 1% de ác. fórmico (elute A) e acetonitrila com 1% de ác. fórmico (elute B) usando o seguinte gradiente (95% A para 90% A (5 min.), 90% A para 85% A (5 min.), 85% A para 50% A (3 min.), 50% A para 30% A (4 min.), 30% A para 95% A (3min.) e 95% A (6 min.)). O tempo total da corrida foi de 26 min. O cromatograma obtido nos comprimentos de onda máximos de cada composto fenólico esta representado na Figura 17. Os parâmetro cromatográfico tempo de retenção (TR) juntamente com os valores da curva de calibração estão apresentados na Tabela 3.

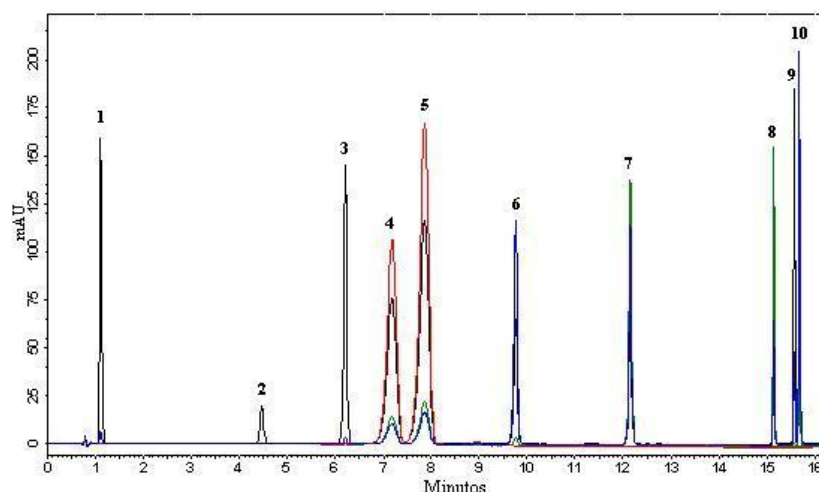


FIGURA 17. Cromatograma apresentando os dez compostos fenólicos separados pela coluna kinetex Core-Shell. Os compostos são: ác. gálico (1), catequina (2), ác. siríngico (3), cianidina-3-glicosídeo (4), cianidina-3-rutinosídeo (5), ác. ferrúlico (6), rutina (7), quercetina (8), naringenina (9) e apigenina (10). Os comprimentos de onda estão apresentados nas cores preta (280 nm), azul (320 nm), verde (370 nm) e vermelha (515 nm).

TABELA 3. Parâmetros utilizados na separação e quantificação dos compostos fenólicos em cromatografia líquida de alta eficiência utilizando uma coluna kinetex Core-Shell.

Composto fenólico	TR ^a (min.) ^b	Faixa de concentração (µM)	Equação da reta ^c	n ^d	R ^{2e}
Ácido gálico	1,12 ± 0,022	4,7 – 73	y = 7815x-4208	5	0,999
Catequina	4,56 ± 0,204	5 – 120	y = 1812x+1537	6	0,999
Ácido siríngico	6,57 ± 0,065	5,5 – 69	y = 7273x-640	5	0,999
Cianidina-3-glicosídeo	7,82 ± 0,060	5,6 – 70	y = 20259x-7418	5	0,999
Cianidina-3-rutinosídeo	8,57 ± 0,047	4,5 – 71	y = 16921x-7629	5	0,999
Ácido ferrúlico	10,38 ± 0,026	5,6 – 70	y = 20714x-5903	5	0,999
Rutina	13,11 ± 0,023	5,7 – 71	y = 9204x-2208	5	0,999
Quercetina	15,22 ± 0,005	5,6 – 70	y = 14295x-56429	5	0,999
Naringenina	15,65 ± 0,006	4,4 – 68	y = 14083x-6619	5	0,999
Apigenina	15,75 ± 0,006	4,7 – 73	y = 16521x-56123	5	0,998

^a Tempo de retenção; ^b Valores médios ± desvio padrão; ^c y é a unidade de área relativa e x é a concentração em µM; ^d Número de pontos da reta; ^e Coeficiente de determinação.

3.7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados experimentais obtidos foram analisados com auxílio do software STATISTICA Release 7.1 para Windows 2007 (StatSoft, Inc., Tulsa, Ok). e Microsoft Office Excel para Windows 2007.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. PARÂMETROS DE HIDRATAÇÃO DAS RESINAS

Este estudo foi realizado no intuito de classificar as resinas de acordo com o percentual de ligações cruzadas envolvido no processo de fabricação das mesmas, com isto uma hierarquização das resinas será proposta em relação ao percentual de retenção de água, o qual é correlacionado com o grau de polaridade das resinas. De acordo com a Rohm and Haas (2008) as resinas são classificadas de acordo com seu grau de polaridade sendo este parâmetro intrinsecamente ligado ao tipo de estrutura química da resina, onde o valor de 0,4 debye (D) são referentes às resinas de SDVB, já o valor de 1,63 D é atribuído as resinas fenólicas e 1,83 D para as resinas acrílicas.

A Tabela 4 apresenta os valores do percentual de água retido pelas resinas em estudo. A resina que apresentou o menor percentual de retenção de água foi a XAD 2, caracterizando assim como a de menor polaridade. As resinas XAD 1180, EXA 118 e XAD 7 foram as que apresentaram uma maior capacidade de retenção de água, pois não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) e são os adsorventes de maior polaridade desse estudo. O aumento do grau de polaridade das resinas pode ser hierarquizado como: $XAD\ 2 < EXA\ 45 < XAD\ 761 \approx XAD\ 16 < XAD\ 1180 \approx EXA\ 118 \approx XAD\ 7$.

Este resultado indicou que não há uma relação estreita entre os valores em debye atribuídos pelos fabricantes e a estrutura química das resinas, pois as resinas de SDVB (XAD 1180 e EXA 118) que, teoricamente, deveriam possuir uma reduzida capacidade de retenção de água se equipararam com a XAD 7 (acrílica) nesse estudo. Por isto, diversos trabalhos estão se propondo em hierarquizar as resinas de acordo com o percentual de água retida para melhor correlacionar com os resultados de adsorção obtidos (REN *e col.* 2008; ZHAO *e col.* 2008).

TABELA 4. Conteúdo de água adsorvida de sete tipos de resinas macroporosas.

Resinas	Água adsorvida (%)[*]
XAD 2	61,0±0,1 ^a
EXA 45	68,2±0,1 ^b
XAD 761	73,0±0,4 ^c
XAD 16	75,1±1,2 ^c
XAD 1180	77,5±0,5 ^d
EXA 118	77,8±0,2 ^d
XAD 7	78,6±0,2 ^d

* Médias ± desvio padrão. Médias com letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Trabalhos como os de Ren *e col.* (2008) e Geng *e col.* (2009) realizaram esse tipo de hierarquização da polaridade das resinas para atribuir uma melhor ou pior capacidade de adsorção dos compostos fenólicos estudados perante as resinas sintetizadas com diferentes grupamentos funcionais. Os resultados desses autores indicaram que houve uma retenção de água pelas resinas entre 61% e 83%, a qual aumentou, principalmente, com a diminuição do percentual de agente de ligação cruzada (divinilbenzeno ou etileno glicol dimetacrilato) adicionado na confecção das resinas que ficou na faixa de 5 a 25%.

A Figura 15 (pag. 43) apresenta um esquema proposto por Ren *e col.* (2008) o qual ilustra que as interações dos compostos fenólicos com o material adsorvente são influenciadas tanto pelo percentual de ligações cruzadas quanto pelos grupamentos funcionais presentes. A partir disso, o trabalho proposto nessa dissertação também irá correlacionar uma melhor ou pior capacidade de adsorção dos diversos compostos fenólicos com as diferentes características físico-químicas (Quadro 5, pag. 47, e Tabela 4) das resinas macroporosas.

4.2. SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE UMA MISTURA DE DEZ COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE SETE RESINAS MACROPOROSAS

Um estudo para se obter uma possível seletividade no processo de adsorção de uma solução equimolar (0,2 mM) de padrões de compostos fenólicos sobre resinas comerciais foi desenvolvido. As Figuras 18 e 19 apresentam a capacidade de adsorção individual para os dez compostos fenólicos puros sobre sete resinas em dois pH (3,5 e 7,5).

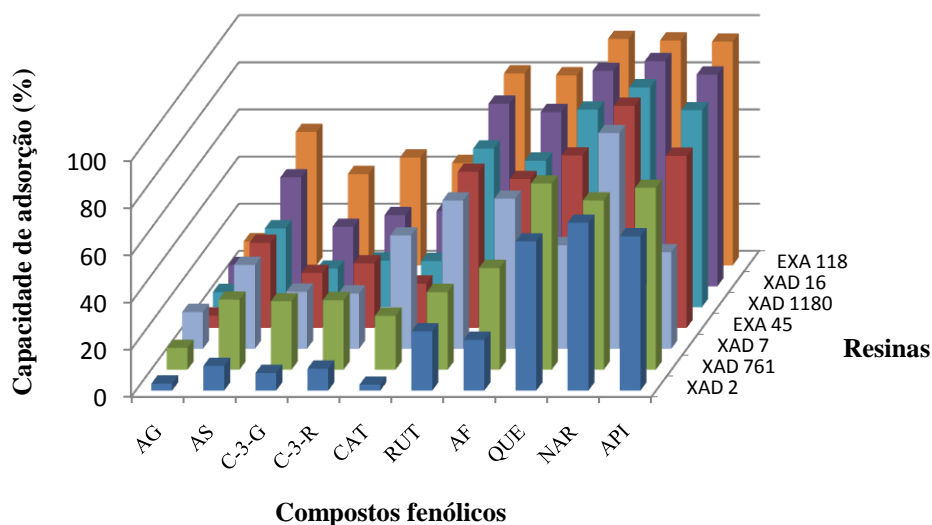


FIGURA 18. Capacidade de adsorção (%) de compostos fenólicos puros sobre resinas macroporosas nas condições de pH 3,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. ácido gálico (AG), ácido sirínico (AS), ácido ferrúlico (AF), (+)-catequina (CAT), cianidina-3-glicosídeo (C-3-G), cianidina-3-rutinosídeo (C-3-R), rutina (RUT), quercetina (QUE), (±)-naringenina (NAR) e apigenina (API) (n = 3).

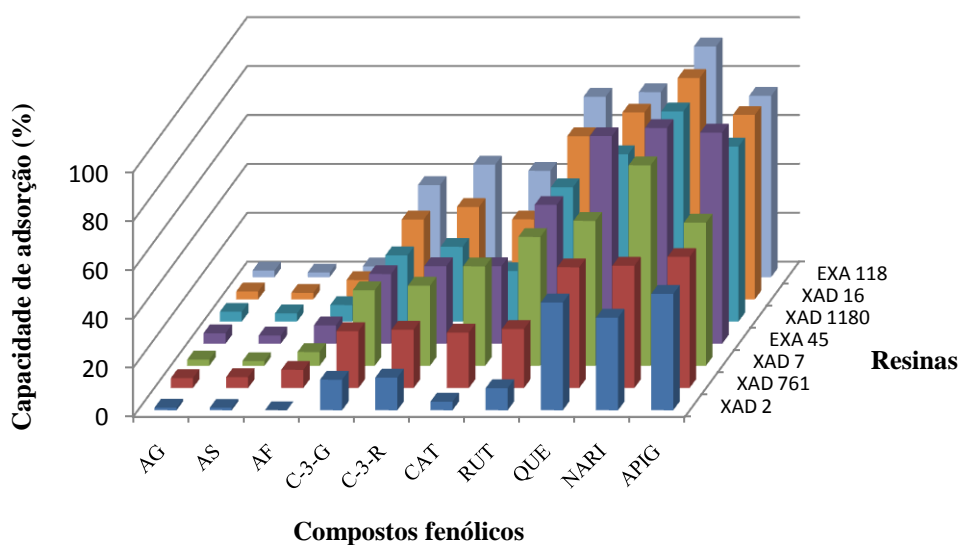


FIGURA 19. Capacidade de adsorção (%) de compostos fenólicos puros sobre resinas macroporosas nas condições de pH 7,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. ácido gálico (AG), ácido sirínico (AS), ácido ferrúlico (AF), (+)-catequina (CAT), cianidina-3-glicosídeo (C-3-G), cianidina-3-rutinosídeo (C-3-R), rutina (RUT), quercetina (QUE), (±)-naringenina (NAR) e apigenina (API) (n = 3).

Os resultados indicaram que a resina EXA 118 apresenta o melhor percentual de adsorção para todos os compostos fenólicos, em contrapartida a resina XAD 2 é a pior quando comparada com as demais. Essa relação pode ser explicada pelas características físico-químicas das resinas, principalmente pela área específica, pois esta variável foi a que mais teve peso sobre a capacidade de adsorção. A hidrofobicidade das resinas também teve um efeito na capacidade de adsorção, porém de menor intensidade já que as resinas XAD 1180 e XAD 7 não adsorveram tanto quanto a EXA 118 (Quadro 5, pag. 47, e Tabela 4).

De maneira geral houve uma correlação, sendo em alguns casos significativa, ($p < 0,05$) no aumento da capacidade de adsorção com o aumento da área específica das resinas de estrutura química SDVB (Figura 20). Isto corrobora que esta propriedade física das resinas influi sobremaneira na capacidade de adsorção dos compostos fenólicos.

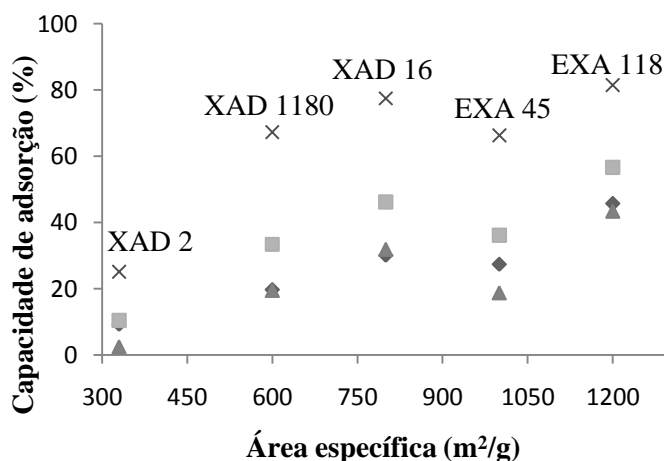


FIGURA 20. Capacidade de adsorção (%) de compostos fenólicos puros em função da área específica de cinco resinas macroporosas nas condições de pH 3,50, temperatura 25°C, agitação 50 rpm e com duração de 1 h. Rutina (×), ácido siríngico (■), cianidina-3-rutinosídeo (◆), (+)-catequina (▲).

Os compostos fenólicos quercetina, naringenina e apigenina foram os mais adsorvidos por quase todas as resinas estudadas nos dois valores de pH, ficando com percentuais aproximados ou acima de 50%. Isto pode ter ocorrido devido estes compostos serem os mais apolares, levando uma maior interação pela resina do que com a solução que estavam presentes.

Ao analisar a influência do pH na capacidade de adsorção dos compostos fenólicos é notório que os ácidos são os mais afetados, pois com o aumento de 3,5 para 7,5 o percentual de adsorção desses compostos decai para valores abaixo de 10%. Esta elevação no valor do pH também influencia na queda da capacidade de adsorção na maioria dos outros compostos a níveis significativos ($p < 0,05$), com exceção das cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo que nas resinas XAD 2, EXA 45 (para a primeira), XAD 16, XAD 1180 e XAD 7 (para a segunda) a capacidade de adsorção foi superior ($p < 0,05$).

Esta tendência no decréscimo da capacidade de adsorção desses compostos pode ser explicado pelo valor da constante de acidez na forma do pK_a que nada mais é que o cologaritmo da constante de dissociação do ácido fraco de cada composto fenólico (Tabela 5).

TABELA 5. Valor da primeira constante de dissociação ácida (pK_a) para alguns compostos fenólicos.

Composto fenólico	pK_1
Ácido gálico	4,26 ^a
Ácido siríngico	4,20 ^b
Ácido ferrúlico	4,52 ^c
Cianidina-3-glicosídeo	4,40 ^d
Naringenina	6,7 ^e
Quercetina	6,74 ^e
Rutina	7,1 ^e
Catequina	8,64 ^e
Apigenina	8,54 ^f

Fonte: ^a IUPAC, (1979). ^b ERDEMGIL, *e col.*(2007). ^c SMITH; MARTELL, (1989). ^d SMYK; PLISZKA; DRABENT, (2008). ^e JOVANOVIC *e col.*(1994). ^f LEMAŃSKA, *e col.*(2001).

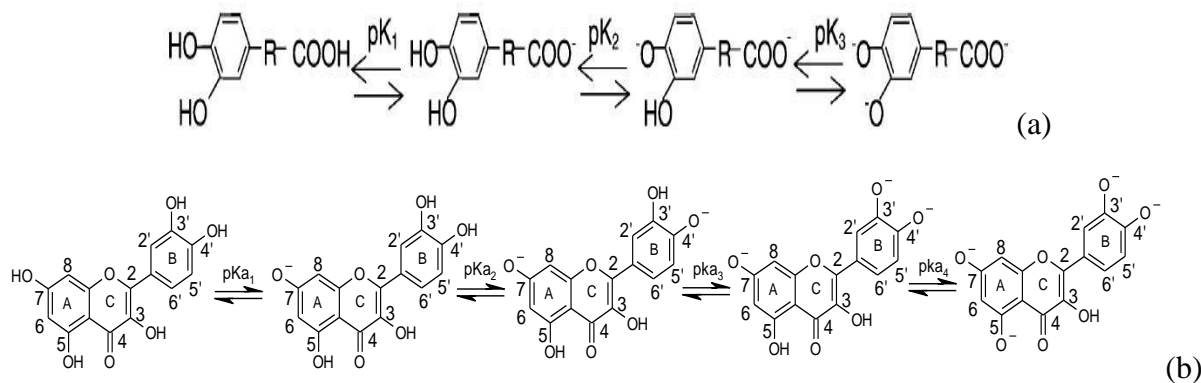


FIGURA 21. Esquemas propostos de dissociação de ácidos fenólicos (a) e flavonóides (b).

Fonte: Adaptado de Lemańska *e col.* (2001); Beltrán *e col.* (2003); Mielczarek, (2005).

Quando o processo de adsorção ocorreu em pH 3,5 todos os compostos fenólicos estavam na forma molecular o que diminui sua interação com o solvente utilizado (solução alcoólica a 8,3%, v:v), porém alguns compostos como a naringenina, apigenina e quercetina apresentaram uma maior capacidade de adsorção com todas as resinas. Isto pode ser explicado pela hidrofobicidade dessas moléculas que, por natureza, é maior que dos outros compostos fenólicos estudados e as resinas possuem caráter acentuadamente hidrofóbico (Figura 18).

Ao estudar o processo de adsorção a um valor de pH de 7,5, a metade dos compostos fenólicos estudados estava na sua forma dissociada o que favorece uma maior interação com o solvente empregado, levando a uma menor capacidade de adsorção. Entretanto para as antocianinas essa tendência não foi verificada para algumas resinas que, como dito anteriormente, houve um incremento na capacidade de adsorção, isto pode ter ocorrido pela mudança estrutural dessas moléculas que a este pH se encontravam na forma de base quinoidal (maior caráter hidrofóbico). Essa dissociação pode ser representada pela Figura 21, a qual apresenta a dissociação mais adotada na literatura para os ácidos fenólicos e flavonóides.

O estudo de Bretag *e col.* (2009b) apresentou que essa grande dependência do pH para a pequena adsorção dos ácidos fenólicos é devido a função carboxila, a qual é mais facilmente dissociada quando comparada ao grupamento fenol dos flavonóides gerando um aumento significativo da hidrofobicidade a elevados valores de pH para esses compostos.

Poucos trabalhos estudaram a interação de misturas de diversos tipos de compostos fenólicos com resinas macroporosas, ou se estudaram, não atentaram em padronizar sua solução com concentrações equimolares para assim avaliar de maneira homogênea a competição de cada molécula pelos sítios de adsorção das resinas. Outro ponto levado em consideração foi adequar a concentração de cada composto fenólico (0,2 mM) à faixa linear obtida no trabalho de Pompeu *e col.* (2010) para as isotermas de Langmuir (0,1 mM – 0,7 mM). Com isto, esse estudo não sofreria influência da perda de linearidade na capacidade de adsorção, seja pelo aumento da concentração dos compostos ou da massa de adsorvente adicionado.

Por isto vale ressaltar o ineditismo desse estudo perante trabalhos de Kammerer *e col.* (2010) os quais adsorveram soluções contendo misturas de dois a quatro tipos de compostos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico, floridizina, catequina e rutina) sobre resina

XAD 16HP. Seu estudo teve o foco em adsorver essas misturas nas condições ideais de adsorção para cada composto, sendo esses parâmetros propostos pelo mesmo grupo de autores (Bretag *e col.* 2009a e 2009b). Os percentuais de capacidade de adsorção obtidos para as condições otimizadas da catequina em mistura de catequina + rutina (0,086 mM e 0,041 mM) foram de 77% e 97%, respectivamente. Já para a mistura de catequina (0,034 mM) + ácido caféico (0,055 mM) + ácido clorogênico (0,028 mM) + floridizina (0,022 mM) + rutina (0,016 mM) os percentuais foram de 76%, 71%, 80%, 88% e 95%, respectivamente. Para as condições ótimas da rutina, misturas nas mesmas concentrações acima mencionadas os percentuais de adsorção foram: 95% e 49% (rutina + catequina) e de 92%, 41%, 31%, 58% e 87% (rutina + catequina + ácido caféico + ácido clorogênico + floridizina).

Esses resultados demonstram uma maior capacidade de adsorção do composto rutina para todas as misturas propostas, entretanto não se pode justificar tal fato somente pela polaridade dos compostos estudados, pois para cada mistura o número de moléculas de rutina sempre foi reduzido quando comparado com as demais (1,37 a 3,43 vezes). Logo os resultados apresentados nesta dissertação elucidam melhor a interação de todos os compostos fenólicos (os quais estão em concentrações molares equivalentes) com cada resina macroporosa estudada.

Scordino *e col.* (2004) realizaram um trabalho de adsorção de dois compostos fenólicos (cianidina-3-glicosídeo e hesperidina) na mesma concentração molar (0,05mM) a pH 3,5, 20°C sobre a resina XAD 4, porém variando a razão massa de resina/volume de solução de 1 a 2,5 g/L. Os resultados obtidos não se diferenciaram para a capacidade de adsorção individual de cada composto nas várias razões estudadas, ficando na ordem de 30% para 1 g/L e 60% para 2,5 g/L.

No estudo do desenvolvimento de uma equação (utilizando o design *D-optimal*) que regesse a capacidade de adsorção de compostos fenólicos puros (ácido caféico, ácido clorogênico, floridizina, catequina e rutina) sobre a resina XAD16HP, Bretag *e col.* (2009a e 2009b), utilizaram como variáveis a concentração inicial (50 – 150 mg/L), o pH (1 – 7) a temperatura (20 – 40°C) e a quantidade de resina (0,00 – 0,50 g). As condições ótimas encontradas para cada composto foram: ácido caféico (101,1% de recuperação, 0,55 mM, pH 1, 20°C e 0,35 g), ácido clorogênico (88% de recuperação, 0,28 mM, pH 1, 30°C e 0,45 g), floridizina (92,7% de recuperação, 0,11 mM, pH 1, 20°C e 0,10 g), catequina (75,2% de

recuperação, 0,17 mM, pH 1, 20°C e 0,25 g) e rutina (94,3% de recuperação, 0,07 mM, pH 1, 40°C e 0,15 g).

Pompeu *e col.* (2010) estudaram o comportamento da adsorção de cinco padrões de compostos fenólicos (ácido gálico, ácido ferrúlico, ácido caféico, catequina e rutina) sobre quatro resinas macroporosas (XAD 7, EXA 118, EXA 90 e XAD 16) sendo algumas utilizadas nesse estudo. Com os dados obtidos desse trabalho, o qual utilizou condições de pH, temperatura, razão de resina seca/volume de solução (5 g/L) e concentrações dos compostos fenólicos similares a esta dissertação, se pode comparar o percentual da capacidade de adsorção (considerando sempre a fase linear da isoterma) de cada composto puro com os mesmos valores obtidos para mistura equimolar proposta nesse trabalho e verificar o quanto cada composto deixou de adsorver sobre as resinas. Os resultados indicaram uma queda nesse percentual que variou de 10% para o ácido ferrúlico e rutina chegando a 50% para a catequina, com exceção do ácido gálico que manteve 10% de adsorção sobre as resinas. Essa redução pode ser explicada pela competição das moléculas pelos sítios de adsorção das resinas sendo que umas têm a facilidade de realizarem mais interações que outras e, também pelo fato do uso de compostos de menor polaridade em relação aos compostos estudados por Pompeu *e col.* (2010) o que favoreceu a elevada capacidade de adsorção obtida para esses perante todas as sete resinas.

4.3. SELETIVIDADE NA ADSORÇÃO DE CLASSES DE COMPOSTOS FENÓLICOS PUROS SOBRE SETE RESINAS MACROPOROSAS

Na literatura científica são escassos os trabalhos que envolvem uma possível separação de uma mistura de compostos fenólicos puros por meio de resinas macroporosas para a obtenção de compostos puros. Trabalhos como os de Tomás-Barberán *e col.* (1992), Scordino *e col.* (2004) e Yamamoto *e col.* (2007) tentaram verificar isto, porém, com pouco sucesso, pois a técnica de adsorção de compostos fenólicos em resinas macroporosas é mundialmente aplicada para a concentração de extratos para a obtenção de frações enriquecidas em diferentes classes desses compostos e não em um único composto (ANDERSEN; MARHAM, 2006).

Entretanto, na pretensão de se conseguir algum tipo de seletividade parcial na adsorção das diferentes classes de compostos fenólicos estudadas nesse trabalho (haja vista que resultados como os de Kammerer *e col.* (2010) foi possível enriquecer certos compostos

fenólicos sobre a resina XAD 16HP) foi realizada uma análise estatística para se elucidar se houve alguma seletividade parcial sobre as sete resinas estudadas e nas condições do processo de adsorção. As Figuras 21 – 24 apresentam os resultados obtidos do teste de comparação de média (Tukey) para a adsorção de diferentes classes (representadas por dez compostos puros) de compostos fenólicos sobre sete tipos de resinas em dois valores de pH (3,5 e 7,5). As barras de erro demonstram esse teste, onde o não recobrimento delas para os diversos pontos deve ser considerado significativamente diferente ($p < 0,05$).

Os resultados demonstraram que houve uma seletividade parcial significativa ($p < 0,05$) de algumas classes de compostos fenólicos sobre alguns tipos de resinas perante outras a pH 3,5. Diante disso, duas resinas podem ser usadas em seqüência para fracionar parcialmente um extrato, sendo a primeira com a característica de adsorver poucos compostos polares e mais os apolares, que no caso é a resina XAD 2 com percentuais que variam de 2,5% (catequina) a 25% (rutina) para os compostos mais polares e 63% (quercetina) a 70% (apigenina) para os apolares. A segunda seria a resina EXA 118, pois apresenta os melhores percentuais de capacidade de adsorção para todos os compostos fenólicos estudados, com isto valores médios de 43% para cada composto (excluindo o ácido gálico) serão obtidos produzindo, assim uma fração anfifílica do extrato.

Outras resinas poderiam ser usadas dependendo do nível de polaridade da nova fração do extrato que se deseje. Utilizando uma seqüência de resinas como as XAD 2 ou XAD 761, se adsorveria um total de 38% dos compostos fenólicos totais, dos quais 81% seriam compostos apolares. As resinas de adsorção intermediária XAD 1180 e EXA 45 poderiam ser usadas em seguida para adsorver aproximadamente 20% dos compostos fenólicos sendo desse total 37,5% polares e 62,5% apolares. Por fim, as resinas de maior capacidade adsorptiva EXA 118 e XAD16 podem ser usadas para obter uma terceira fração com 20% de compostos fenólicos totais dos quais 85% são polares.

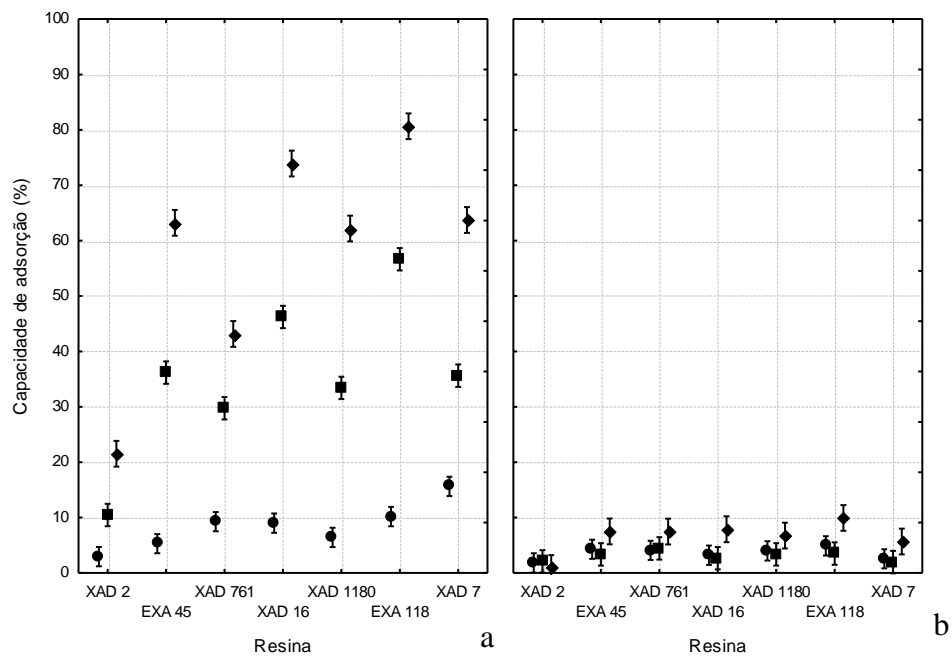


FIGURA 22. Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de duas classes de compostos fenólicos em sete resinas macroporosas a dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Ácido ferrúlico (◊), Ácido siríngico (◼) e Ácido gálico (◐). As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).

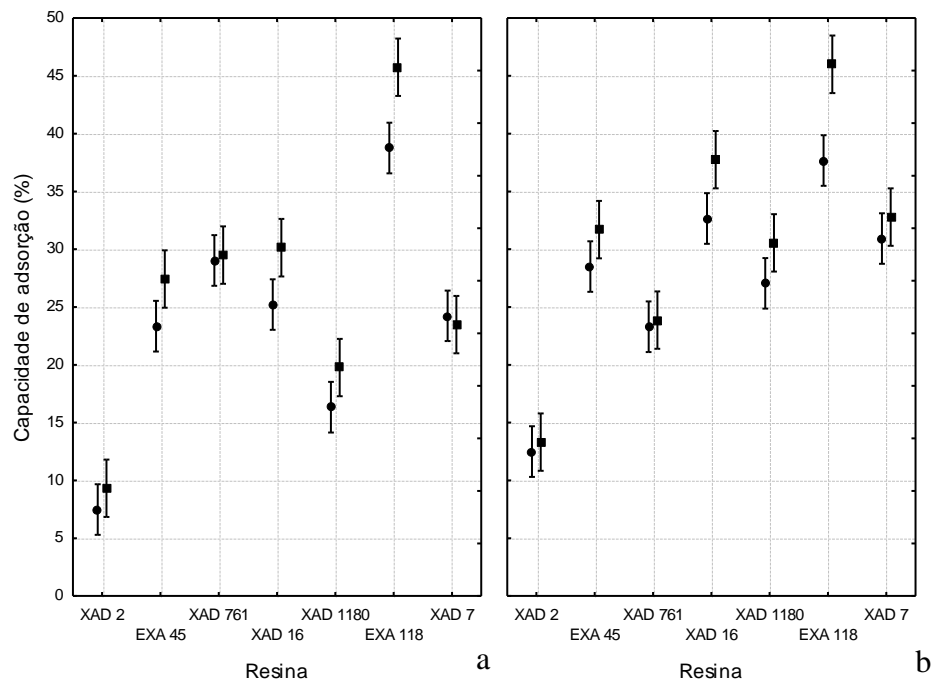


FIGURA 23. Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de dois compostos fenólicos da classe das antocianinas em sete resinas macroporosas a dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Cianidina-3-rutinosídeo (◼) e Cianidina-3-glicosídeo (◐). As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).

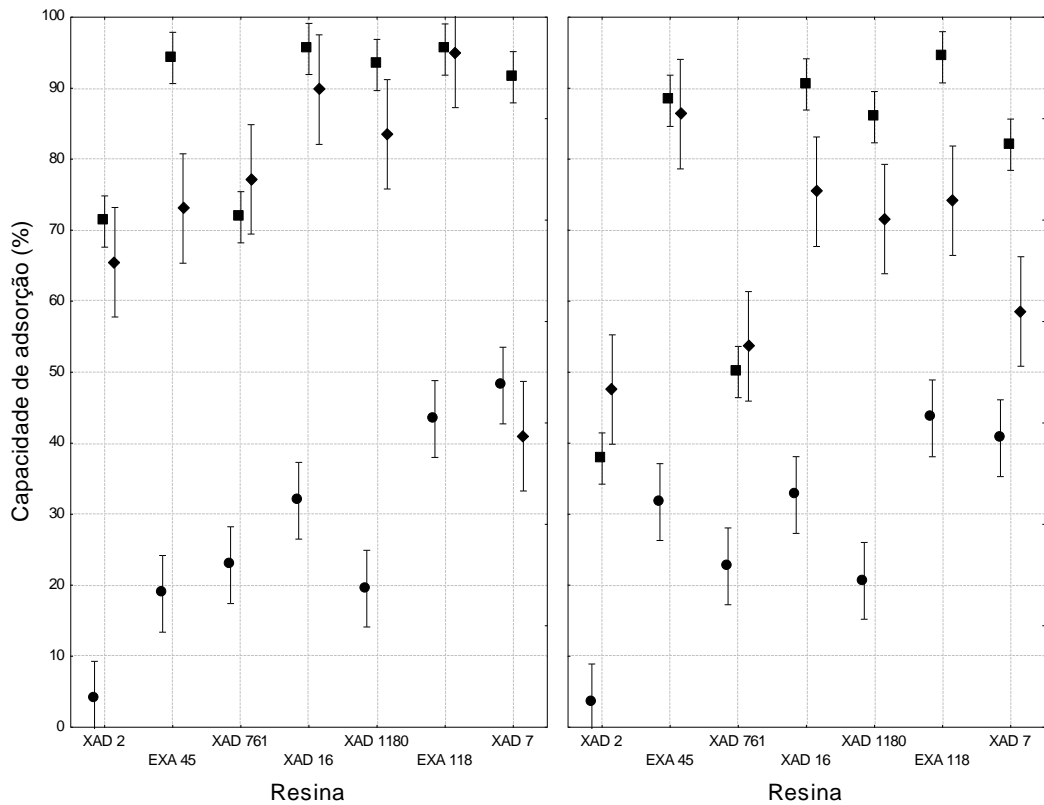


FIGURA 24. Teste de Tukey da capacidade ^a dsorção (%) de três classes de cor ^b tos fenólicos em sete resinas macroporosas e em dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Naringenina (■), Apigenina (◆) e Catequina (●).As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).

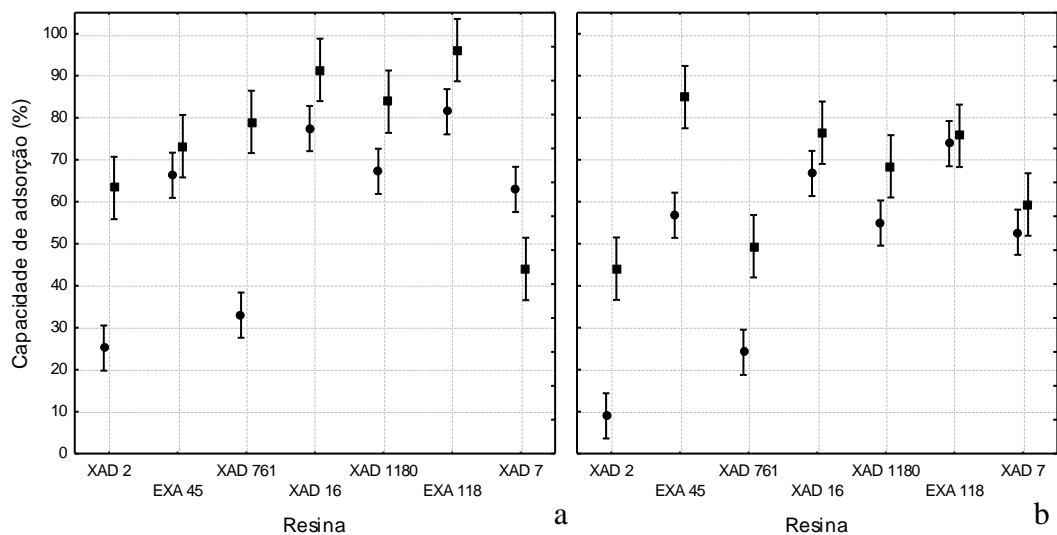


FIGURA 25. Teste de Tukey da capacidade de adsorção (%) de dois compostos fenólicos da classe dos flavonóis em sete resinas macroporosas e em dois valores de pH 3,5 (a) e 7,5 (b). Quercetina (■) e Rutina (◆). As barras verticais demonstram a comparação de média (n = 3).

4.4. CINÉTICA DE ADSORÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS

A Figura 25 apresenta os resultados experimentais da cinética de adsorção para uma mistura equimolar de sete compostos fenólicos sobre duas resinas macroporosas (EXA118 e XAD 2), as quais foram apresentadas anteriormente como sendo capazes de fracionar parcialmente um extrato contendo diferentes famílias de compostos fenólicos. Nesse experimento, não foi possível quantificar os compostos mais apolares (quercetina, naringenina e apigenina) por causa de sua alta insolubilidade nas soluções aquosas. Nos estudos de Tomás-Barberán *e col.* (1992) e Sordino *e col.* (2003) problemas de mesma natureza ocorreram impedindo a quantificação dos compostos fenólicos.

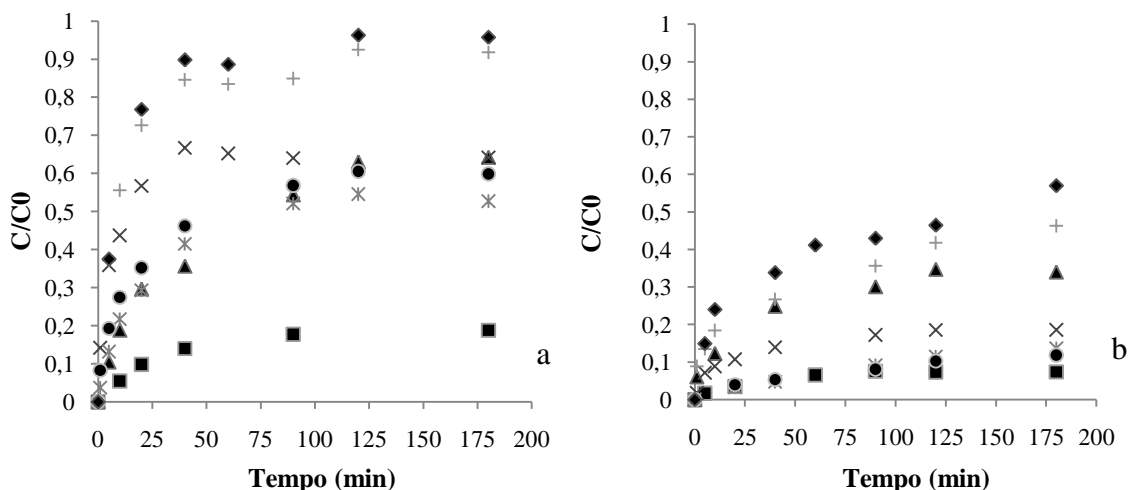


FIGURA 26. Cinética de adsorção de sete compostos fenólicos nas resinas EXA 118 (a) e XAD 2 (b), nas condições de $T = 25^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 3,5$, rotação de 50 rpm e razão resina/solução de 5 g/L. C = concentração a um determinado tempo, C_0 = Concentração inicial. ácido gálico (■), ácido siríngico (×), ácido ferrúlico (+), catequina (▲), rutina (◆), cianidina-3-glicosídeo (⊗) e cianidina-3-rutinosídeo (●).

A Figura 25a mostra que após 50 minutos de contato a transferência de massa dos compostos fenólicos sobre a resina EXA 118 fica muito reduzida, demonstrando que a capacidade de adsorção se encontra quase no máximo, com exceção da catequina que somente após 90 minutos isto aconteceu. Porém, a cinética da maioria desses compostos sobre a resina XAD 2 (a pior em termos de capacidade de adsorção) apresentou um tempo mais longo para se alcançar o equilíbrio quando comparada com a resina EXA 118 ficando na ordem de 60 a 90 minutos (Figura 25b). As duas antocianinas mostraram um comportamento ímpar perante essa mesma resina, pois, aparentemente, o equilíbrio só começou a ser obtido a partir de 120 minutos.

Os percentuais de adsorção obtidos pela resina EXA 118 foram superiores aos encontrados na XAD 2, isto já era esperado pelos dados do item 4.2. Um ponto a ressaltar é o fato de que todos os compostos fenólicos, com exceção do ácido gálico, apresentaram valores acima de 50% após 100 minutos de processo. Isto não foi verificado pela resina XAD 2 onde passados 180 minutos de processo, nem ao menos 50% dos compostos foram adsorvidos, com exceção da rutina a 180 minutos com 57%.

Pompeu *e col.* (2010) estudando a cinética de adsorção de compostos fenólicos puros sobre resinas macroporosas (EXA 118 e XAD 16), nas mesmas condições de temperatura e pH dessa dissertação, obtiveram uma recuperação máxima de 63% para o ácido caféico, 82% para o ácido ferrúlico, 74% para a catequina e 60% para a rutina após um tempo de 30 minutos utilizando a resina EXA 118. Para a resina XAD 16 os percentuais de adsorção foram de 0, 7, 16 e 18% menores para os compostos rutina, ácido ferrúlico, ácido caféico e catequina, respectivamente, quando comparados com os obtidos pela EXA 118.

Di Mauro *e col.* (2002) estudaram a cinética de duas antocianinas (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-(6''malonil)-glicosídeo) presentes em água de lavagem da polpa de laranja sobre seis resinas macroporosas. Os resultados apresentaram após 200 minutos a 20°C uma divisão em três categorias de capacidade de adsorção sendo a primeira com 80% (SP 70 e EXA118) a segunda com 60% (XAD 16 e EXA 45) e a última com percentuais abaixo de 50% (EXA 31 e EXA 32). Esses autores atribuíram esses percentuais as características químicas das resinas e a polaridade dos compostos.

Sordino *e col.* (2003 e 2004) estudaram a cinética de adsorção de dois padrões de flavonóides hesperidina e cianidina-3-glicosídeo. Para a primeira a uma concentração de

50 mg/L, pH 3,5 e temperatura de 20°C houve um aumento na capacidade de adsorção de 17,5% com a elevação de 0,5 g de adsorvente (resina XAD 16) chegando a valores de 95,5% com 1,5g de resina. Já para a cianidina-3-glicosídeo nas mesmas condições de temperatura e pH houve uma capacidade de adsorção de 80% para a resina EXA 90 (SDVB) e de 44% para a EXA 31(acrídica). Os autores afirmaram também que a cinética não variou com a mudança de pH (1 – 4,5), demonstrando que as transformações estruturais nessa molécula não afeta a capacidade de adsorção.

Singh, Gupta e Jain, (2008) estudando a cinética de adsorção da naringenina obtiveram uma recuperação de 77% após 160 minutos ao utilizar a resina NPA-1 como adsorvente a uma temperatura de 25°C.

Dados cinéticos para a adsorção de compostos fenólicos presentes em extratos vegetais foram estudados por Fu *e col.* (2006) os quais avaliaram a cinética de adsorção de luteolina presente em extrato de folhas de guandu sobre três resinas (AL-2, D 3520 e D 101) e obtiveram uma recuperação máxima de 76% a 91% após 120 minutos a 25°C. Ying *e col.* (2007) estudando a cinética de adsorção dos flavonóis totais (representados por: quercetina, rutina, hiperina e quercitrina) presentes em extratos de *Houttuynia cordata* obtiveram uma recuperação de 70% após 60 minutos para a resina D 101. Outro estudo avaliou a cinética de adsorção dos flavonóides presentes em chá adocicado de *Lithocarpus polystachyus* sobre a resina ADS-7 e apontou uma recuperação de 80% em um período de 120 minutos (DONG *e col.* 2007). Um estudo utilizando as resinas ADS-5 e ADS-7 na recuperação de vitexina e isovitexina presentes no extrato da folha de guandu foi proposto por Fu *e col.* (2007); os mesmos obtiveram uma curva cinética onde após 90 minutos o equilíbrio para essas duas moléculas já havia sido alcançado com percentuais de 44% e 66% para a vitexina sobre as resinas ADS-5 e ADS-7, respectivamente e de 36% e 34% para a isovitexina sobre as resinas ADS-5 e ADS-7. Wang *e col.* (2008) estudaram a cinética de adsorção dos flavonóis totais presentes em extrato de folha da amoreira e seus resultados indicaram que após 300 minutos houve um equilíbrio na taxa de adsorção a qual ficou com um valor de 93% a 25°C e 100 rpm.

Os resultados apresentados na Figura 25 foram então ajustados aos modelos de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e difusão intrapartícula para a determinação os parâmetros cinéticos como a taxa de adsorção (k_1 , k_2 e k_{id}) e a difusão tanto no filme (D_f)

quanto na partícula (D_p) para todos os compostos sobre as duas resinas estudadas, sendo estes dados apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8.

Todos os modelos cinéticos se ajustaram bem aos dados experimentais ($0,819 \geq R^2 \geq 0,999$), entretanto o modelo de pseudo segunda ordem foi o que mais ajustou os valores calculados de q_e com os reais. Os resultados obtidos pela mistura equimolar de compostos fenólicos estão em acordo com o obtido por Pompeu *e col.* (2010) o qual atribuíram o modelo de pseudo segunda ordem como o melhor a reger o processo de adsorção de compostos fenólicos puros. Vale destacar também que o trabalho de Pompeu *e col.* (2010) não obteve um ajuste significativo para a molécula de ácido gálico em solução, porém quando o mesmo se apresentou em mistura houve um bom ajuste (Tabelas 6 e 7).

TABELA 6. Constantes cinéticas dos modelos de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem para sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.

Composto	Resina	q_e (exp) (mM/g _{resina})	Pseudo primeira ordem			Pseudo segunda ordem		
			k_1 (1/min)	q_e (calc) (mM/g _{resina})	R^2	k_2 (g _{resina} /mM min)	q_e (calc) (mM/g _{resina})	R^2
Ácido gálico	EXA 118	1,904	0,032	1,904	0,998***	0,0186	2,192	0,996***
Ácido siríngico		9,094	0,063	6,141	0,980***	0,0316	9,316	0,998***
Ácido ferrúlico		4,260	0,059	3,508	0,974**	0,0312	4,402	0,998***
Catequina		5,071	0,029	5,302	0,924**	0,0048	6,085	0,990***
Cianidina-3-glicosídeo		5,302	0,033	4,889	0,997***	0,0106	5,750	0,996***
Cianidina-3-rutinosídeo		12,411	0,029	10,288	0,987***	0,0061	13,228	0,997***
Rutina		9,157	0,066	8,166	0,989**	0,0163	9,500	0,999***
Ácido gálico	XAD 2	0,754	0,042	0,820	0,994***	0,0576	0,863	0,990***
Ácido siríngico		2,822	0,027	2,259	0,973***	0,0256	3,030	0,997***
Ácido ferrúlico		3,069	0,016	2,406	0,973**	0,0180	3,187	0,975***
Catequina		4,283	0,023	3,618	0,973**	0,0149	4,641	0,990***
Cianidina-3-glicosídeo		1,555	0,014	1,657	0,974**	0,0023	2,887	0,949*
Cianidina-3-rutinosídeo		2,609	0,015	2,591	0,961**	0,0035	3,650	0,966**
Rutina		7,751	0,012	5,883	0,921**	0,0105	6,882	0,994***

k_1 : Taxa de adsorção do modelo cinético de pseudo primeira ordem; q_e : Concentração de equilíbrio na fase sólida, experimental (exp.) e calculada (cal.); R^2 : Coeficiente de determinação; k_2 : Taxa de adsorção do modelo de pseudo segunda ordem; *, ** e *** Significativo para $p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$ respectivamente; condições do processo: T = 25°C, pH = 3,5, rotação de 50 rpm e razão resina/solução de 5 g/L.

TABELA 7. Constantes cinéticas do modelo de difusão intrapartícula para sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.

Composto	Resina					
	EXA 118			XAD 2		
	k_{id} (mM /g _{resina} min ^{1/2})	C (mM/g _{resina})	R ²	k_{id} (mM /g _{resina} min ^{1/2})	C (mM/g _{resina})	R ²
Ácido gálico	0,1480	0,2022	0,950**	0,0624	0,0654	0,952**
Ácido siríngico	0,6529	2,9939	0,819*	0,2138	0,4191	0,952***
Ácido ferrúlico	0,2831	1,2640	0,868*	0,2160	0,3259	0,988***
Catequina	0,4059	0,1870	0,985***	0,3338	0,4425	0,971***
Cianidina-3-glicosídeo	0,4238	0,4967	0,955***	0,1214	-0,1030	0,989***
Cianidina-3-rutinosídeo	0,9459	1,7765	0,955***	0,1976	-0,0221	0,997***
Rutina	0,6357	2,4860	0,859*	0,5346	0,8619	0,977***

k_{id} : Taxa de adsorção do modelo de difusão intrapartícula; C: Constante que sugere a espessura da camada limite; R²: Coeficiente de determinação ;*, ** e *** significância a $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$. condições do processo: T = 25°C, pH = 3,5, rotação de 50 rpm e razão resina/solução de 5 g/L.

TABELA 8. Coeficientes de difusão no filme (D_f) e intrapartícula (D_p) de sete compostos fenólicos sobre as resinas EXA 118 e XAD 2.

Composto	Resina			
	EXA 118		XAD 2	
	D_f (x 10 ⁻¹³ m ² /s)	D_p (x 10 ⁻¹³ m ² /s)	D_f (x 10 ⁻¹³ m ² /s)	D_p (x 10 ⁻¹³ m ² /s)
Ácido gálico	3,208***	8,166***	14,348***	56,171**
Ácido siríngico	9,121***	15,272**	20,535***	62,619**
Ácido ferrúlico	7,349***	-	8,055**	22,148*
Catequina	2,392**	9,954 ^{NS}	13,372***	26,317*
Cianidina-3-glicosídeo	3,780***	13,837**	3,195***	21,395*
Cianidina-3-rutinosídeo	4,112***	7,956***	5,560***	21,263*
Rutina	5,326**	-	8,522***	8,525*

*, ** e *** significância a $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$. ^{NS} Não significativo. – Não ajustado ao modelo. Condições do processo: T = 25°C, pH = 3,5, rotação de 50 rpm e razão resina/solução de 5 g/L.

Os valores da taxa de adsorção para o modelo de pseudo primeira ordem (k_1) obtidos neste trabalho foram iguais ou superiores aos de Pompeu *et al.* (2010) em soluções puras de compostos fenólicos sobre a resina EXA 118, sendo os valores encontrados para esses autores da ordem de 0,030 1/min. (catequina a 0,86 mM), 0,041 1/min. (ácido ferrúlico a 1,28 mM) e 0,026 1/min. (rutina a 0,37 mM). Isto indica que a competição dos compostos fenólicos pelos sítios de adsorção das resinas, em geral, aumenta a taxa de adsorção de certos compostos perante outros, favorecendo a uma estabilização mais rápida da transferência de massa e conseqüentemente a uma redução do tempo de contato para se obter o equilíbrio.

Embora o modelo de pseudo segunda ordem for o melhor a se adequar aos dados experimentais, este não fornece informações sobre o mecanismo do processo de adsorção. A técnica mais aplicada na identificação do mecanismo de adsorção é o uso do modelo de difusão intrapartícula (Tabela 7). Neste modelo o ajuste de q_t versus $t^{1/2}$ representa uma multi-linearidade a qual caracteriza duas ou mais etapas do processo de adsorção em sistemas sólido-líquido que podem ser a transferência de massa do adsorbato no filme externo ou a difusão do adsorbato nos poros do adsorvente ou ambos. O transporte externo é usualmente o fator limitante do processo quando ocorre: (a) pouca homogeneização do sistema; (b) concentrações diluídas do adsorbato; (c) tamanho pequeno da partícula do adsorvente e (d) elevada afinidade do adsorbato pelo adsorvente. Ao contrário, o fator limitante pode ser a difusão intrapartícula quando: (a) o adsorbato está em concentração elevada; (b) elevada homogeneização do sistema; (c) tamanho grande da partícula do adsorvente e (d) fraca afinidade do adsorbato com o adsorvente (SERPEN; ATAC; GÖKMEN, 2007).

A Tabela 8 apresenta que o fator limitante do processo de adsorção dos compostos fenólicos segundo o modelo de difusão intrapartícula é a difusividade no filme (D_f) para ambas as resinas. Isto pode ser explicado tanto pela competição entre as moléculas na formação do filme, quanto pela interação delas pela solução, fazendo com que a difusividade diminua. Entretanto, quando as moléculas rompem essa competição sua locomoção na superfície da resina fica favorecida de 1 a 7 vezes o valor de D_p quando comparado com a D_f .

Singh, Gupta e Jain, (2008) apresentaram de forma ilustrativa o comportamento da transferência de massa ocorrida na resina ao longo do tempo durante o processo de adsorção do adsorbato. A Figura 26 apresenta esse comportamento e um ponto importante a ressaltar é o fato da resina ser disposta em zonas de adsorção, as quais vão se preenchendo ao longo do tempo (Lei de Fick da difusão). A partir desse conceito o modelo de difusão intrapartícula

pode ser ajustado para a obtenção da difusividade no fluido (D_f) que no caso é a parte inicial do gráfico ($0 - 5 \text{ min}^{1/2}$) e, também da difusividade no poro (D_p) a qual inicia na segunda parte do gráfico (a partir de $5 \text{ min}^{1/2}$) por meio das Equações 6 e 7.

O trabalho de Kammerer *e col.* (2010) estudando a cinética de adsorção de uma mistura não equimolar de compostos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico, floridizina, catequina e rutina) sobre a resina XAD 16HP, porém procedendo a adsorção dos mesmos nas condições otimizadas da catequina e rutina os valores de D_p para cada composto foram, na maioria, superiores (variando de $11,4 \times 10^{-13}$ a $52,7 \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$) aos representados na Tabela 8. Uma justificativa para esses elevados valores quando comparados com os dessa dissertação pode ser devido as concentrações muito reduzidas dos compostos ($0,016 - 0,055 \text{ mM}$) e a razão massa de adsorvente/volume de solução ($1,5 \text{ g/L}$).

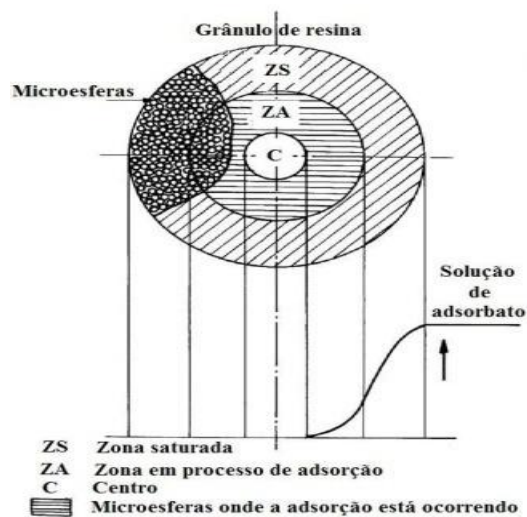


FIGURA 27. Formação de zonas de adsorção no interior da resina.

Fonte: Singh *e col.* (2008).

4.5. TRANSPOSIÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ADSORÇÃO PARA EXTRATO DE *EUTERPE OLERACEA*

Um teste foi realizado para avaliar o percentual de adsorção de compostos fenólicos em extrato amazônico, mais precisamente as duas principais antocianinas presentes nos frutos do açaí (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo), usando uma seqüência de resinas macroporosas.

A Tabela 9 e as Figuras 28 e 29 apresentam os resultados obtidos para o processo de adsorção de um extrato de frutos de *E. oleracea* usando uma seqüência de resinas. Para a cianidina-3-glicosídeo os resultados foram discrepantes do esperado para o padrão desse composto nas resinas XAD 2 e EXA 118, pois a faixa de adsorção esperada para essas resinas eram de 5 – 10% e 35 – 40%, respectivamente. Entretanto, para a resina EXA 45 os resultados obtidos foram coerentes com os encontrados para o padrão. A cianidina-3-rutinosídeo apresentou percentuais de adsorção que se aproximavam dos valores obtidos para o padrão, porém isto não ocorreu somente para a resina EXA 118, a qual deveria adsorver um percentual de 45 a 50% do composto.

TABELA 9. Capacidade de adsorção de um extrato de frutos de *E. oleracea* em batelada e empregando uma seqüência de três resinas macroporosas.

Composto	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Adsorção global (%)
	Resina XAD 2		Resina EXA 45		Resina EXA 118		
	C_0^c	Adsorção (%)	C_0'	Adsorção (%)	C_0''	Adsorção (%)	
C-3-G ^a	71,36	23,72	54,43	23,11	41,84	10,15	56,98
C-3-R ^b	213,45	8,81	194,66	19,91	155,89	20,17	48,88

^a C-3-G = Cianidina-3-glicosídeo, ^b C-3-R = Cianidina-3-rutinosídeo, ^c Concentração em μM

De maneira geral 50% das principais antocianinas foram adsorvidas no processo, entretanto uma separação parcialmente seletiva desses compostos não foi possível de se obter, principalmente decorrente a reduzida capacidade de adsorção dos mesmos perante a resina EXA 118, a qual nos resultados anteriores foi caracterizada como a de maior capacidade de adsorção perante as sete resinas estudadas neste trabalho.

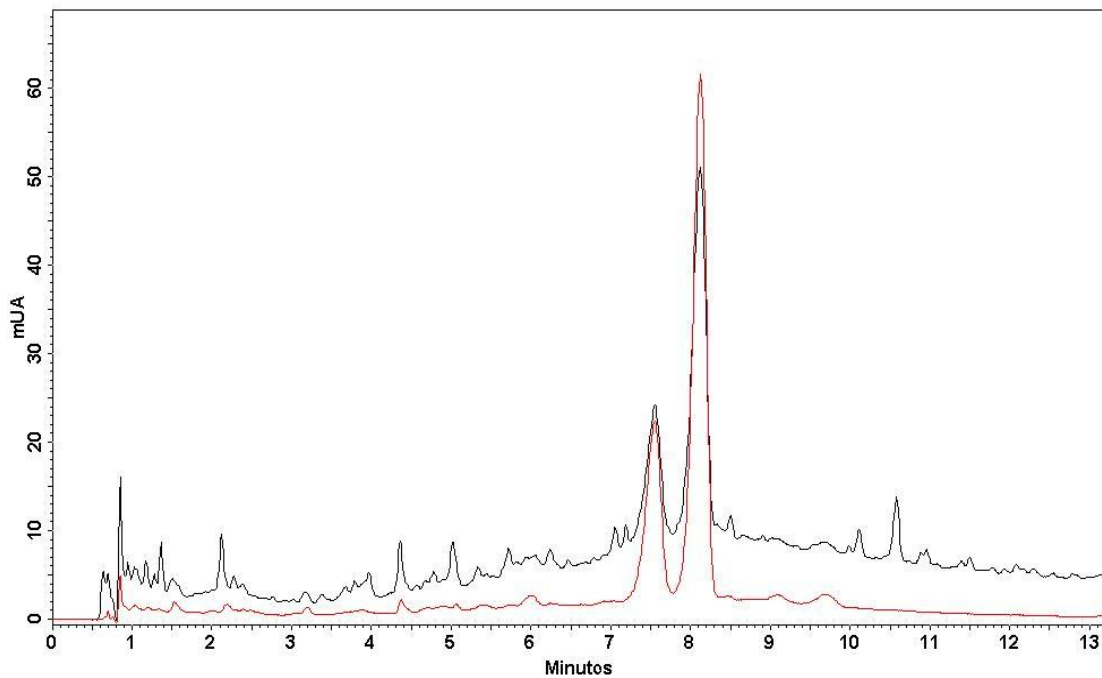


FIGURA 28. Cromatogramas de um extrato de *E. oleracea* obtidos antes do processo de adsorção em seqüência sobre três resinas diferentes XAD 2, EXA 45 e EXA 118. 280 nm (linha preta) e 515 nm (linha vermelha)

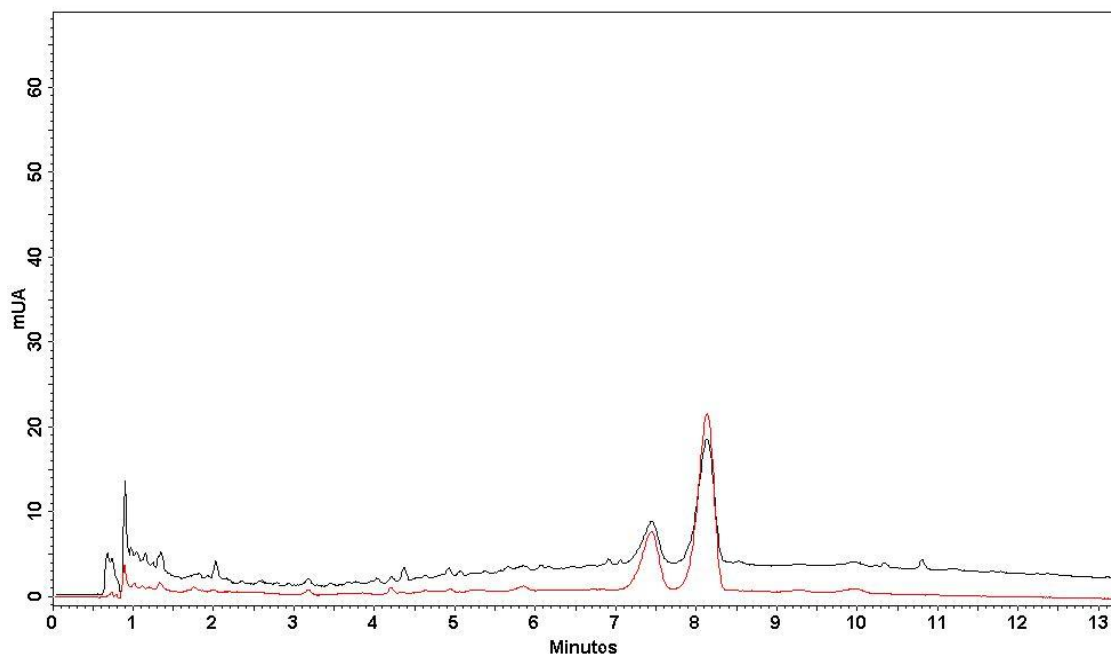


FIGURA 29. Cromatogramas de um extrato de *E. oleracea* obtidos após processo de adsorção em seqüência sobre três resinas diferentes XAD 2, EXA 45 e EXA 118. 280 nm (linha preta) e 515 nm (linha vermelha)

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi avaliado o processo de adsorção de compostos fenólicos puros presentes em uma mistura equimolar a pH 3,5 e 7,5 sobre sete tipos de resinas macroporosas. Também foi verificada a cinética de adsorção dessa mesma mistura de compostos sobre dois tipos de resinas e por fim o uso desse processo, nas melhores condições alcançadas, na recuperação das duas principais antocianinas presentes nos frutos de *E. oleracea* (açai). As principais conclusões obtidas a partir dos resultados desse trabalho foram:

- As resinas podem ser hierarquizadas pelo aumento da capacidade de adsorção dos compostos fenólicos presentes em uma mistura equimolar da seguinte forma: EXA 118 > XAD 16 >> XAD 1180 \cong EXA45 > XAD 7 \cong XAD 761 >> XAD 2.
- Os resultados sugerem que o uso seqüencial de resinas (XAD 2 ou XAD 761, posteriormente XAD 1180 ou EXA 45 e por fim a EXA 118 ou XAD16) favorece uma separação parcial de classes de compostos fenólicos, produzindo assim, frações ricas em compostos de características mais apolares, intermediárias (anfifílicos) e polares.
- Um tempo de 50 minutos de contato para a resina EXA 118 e de 60 a 90 minutos para a XAD 2 foram obtidos como o ideal para a transferência de massa dos compostos fenólicos sobre as resinas.
- Os modelos cinéticos de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e difusão intrapartícula se ajustaram bem aos dados experimentais ($0,819 \geq R^2 \geq 0,999$). Porém, o de pseudo segunda ordem foi o que mais ajustou os valores calculados de q_e com os reais.
- Aproximadamente 50% de cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo foram adsorvidas de um extrato de frutos de açai usando uma seqüência de resinas macroporosas (XAD 2, EXA 45 e EXA 118). Entretanto, uma separação parcial desses compostos nas três diferentes resinas não ocorreu, principalmente pela reduzida capacidade de adsorção da resina EXA 118.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications**. Taylor e Francis Group, New York, 2006.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in Vegetable Foods Commonly Consumed in Brazil and Estimated Ingestion by the Brazilian Population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 1124-1131, 2004.

BELTRÁN, J. L.; SANLI, N.; FONRODONA, G.; BARRÓN, D.; ÖZKAN, G.; BARBOSA, J., Spectrophotometric, potentiometric and chromatographic pka values of polyphenolic acids in water and acetonitrile-water media, **Analytica Chimica Acta**, 484, 253-264, 2003.

BRETAG, J.; KAMMERER, D. R.; JENSEN, U.; CARLE, R. Adsorption of rutin onto food-grade styrene-divinylbenzene copolymer in a model system, **Food Chemistry**, 114, 151-160, 2009a.

BRETAG, J.; KAMMERER, D. R.; JENSEN, U.; CARLE, R. Evaluation of the adsorption behavior of flavonoids and phenolic acids onto a food-grade resin using a D-optimal design, **Eur Food Resource and Technology**, 228, 985-999, 2009b.

BILGILI, M.S. Adsorption of 4-chlorophenol from aqueous solutions by xad-4 resin: Isotherm, kinetic, and thermodynamic analysis. **Journal of Hazardous Materials**, 137, 157-164, 2006.

CALVAZARA, B.B.G. As possibilidades do Açaizeiro no Estuário Amazônico. **Boletim da Universidade Federal Rural da Amazônia**, Belém: informativo 5, 1972.

CAO, G. H.; PRIOR, R. L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**, 44, 1309-1315, 1998.

CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos: EdUFSCar, (Série Apontamentos), 2001.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**, Belém: CEJUP. 1991.

CIOLA, R. **Fundamento das catálise**. Edusp, São Paulo, 1981.

COUNET, Christine et al. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. **J. Agric. Chem.**, 52, p. 6243-6249, 2004.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**, Oxford University, London, 1973.

CUSSLER, E.L. **Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems**, Cambridge University Press, New York, 1997.

DAŁBROWSKI, A. Adsorption – from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**. 93, 135-224, 2001.

DESCHNER, E.E., RUPERTO, J., WONG, G., NEWMARK, H.L. Quercetin and rutin as inhibitors of a zoxyethanol – induced colonic neoplasia. **Carcinogenesis**, 7, 1193-1196, 1991.

DI MAURO, A.; ARENA, E.; FALLICO, B.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Recovery of anthocyanins from pulp wash of pigmented oranges by concentration on resins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 5968-5974, 2002.

DO, D.D. **Series on Chemical Engineering Vol. 2. Adsorption Analysis: Equilibria and Kinetics**. Imperial College Press: Londres, 1998.

DONG, H.; NING, Z.; YU, L.; LI, L.; LIN, L.; HUANG, J., Preparative separation and identification of the flavonoid phloretin from the crude extract of *Lithocarpus polystachyus* Rehd, **Molecules**, 12, 552-562, 2007.

ENDERMGIL, F. Z.; ŞANLI, S.; ŞANLI, N.; ÖZKAN, G.; BARBOSA, J.; GUITERAS, J.; BELTRÁN, J. L., Determination of pKa values of some hydroxylated benzoic acids in methanol-water binary mixtures by LC methodology and potentiometry, **Talanta**, 72, 489-496, 2007.

FRAISSARD, J. P.; CONNER, C. W. **Physical Adsorption: Experiment, Theory, and Applications**. Springer, 1997.

FRANCIS, F. J. Food colorants – anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 28, 273-314, 1989.

FU, Y.; ZU, Y.; LIU, W.; EFFERTH, T.; ZHANG, N.; LIU, X.; KONG, Y. Optimization of luteolin separation from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves by macroporous resins. **Journal of Chromatography A**, 1137, 145-152, 2006.

FU, Y.; ZU, Y.; LIU, W.; HOU, C.; CHEN, L.; LI, S.; SHI, X.; TONG, M. Preparative separation of vitexin and isovitexin from pigeonpea extracts with macroporous resins. **Journal of Chromatography A**, 1139, 206-213, 2007.

GENG, X.; REN, P.; PI, G.; SHI, R.; YUAN, Z.; WANG, C., High selective purification of flavonoids from natural plants based on polymeric adsorbent with hydrogen-bonding interaction, **Journal of Chromatography A**, 1216, 8331-8338, 2009.

GILES, C.H.; SMITH, D.; HUITSON, A. General treatment and classification of solute adsorption-isotherm .1. Theoretical. **Journal of Colloid and Interface Science**. 47, 755-765, 1974.

GILES, C.H.; D'SILVA, A.P.; EASTON, I.A. General treatment and classification of solute adsorption-isotherm.2. Experimental Interpretation. **Journal of Colloid and Interface Science**, 47, 766-778, 1974.

GREGS, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption, surface area and porosity**. Academic Press, London and New York, 1967.

GOMIDE, R., **Operações Unitárias: Operações de transferência de massa**. V.4, São Paulo, Reynaldo Gomide,1988.

GRUENWALD, J. **The global herbs e botanicals market** [online] Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.nutraceuticalsworld.com>. Arquivo capturado em 12 de dezembro de 2008.

HALL, K.; EAGLETON, L.C.; ACRIVOS, A.; VERMEULEN, T. Pore- and solid-diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant- pattern conditions. **Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals**, 5, 212-223, 1966.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, 55, 481-504, 2000.

HARBONE, J. B. **The flavonoids: advances in research since 1986**. Chapman and Hal., London, 1994.

HINES, A.L.; MADDOX, R.N., **Mass transfer: Fundamentals and Applications**, Prentice Hall, Engelwood Cliffs. New Jersey, 1985.

HO, Y.S. Review of second-order models for adsorption systems. **Journal of Hazardous Materials**, 136, 681-689, 2006.

HO, Y.S.; MCKAY.G, Pseudo-second order model for sorption process. **Process Biochemistry**, 34, 451-465, 1999.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, 118, 208-214, 2010.

HOUGHEN, O. A.; WATSON, K. M.; RAGATZ, R. A.; **Princípios dos processos químicos**, Porto: Lopes da Silva, 1984.

HUANG, J.; HUANG, K.; LIU, S.; LUO, Q.; XU, M. Adsorption properties of tea polyphenols onto three polymeric adsorbents with amide group. **Journal of Colloids and Interface Science**. 315, 407-414, 2007.

INGLEZAKIS, V. J.; POULOPOULOS, S. **Adsorption, ion exchange and catalysis: Design of operations and environmental applications**. Elsevier, 2006.

IUPAC **Stability Constants of Metal-Ion Complexes**. Part B. Organic Ligands. Pergamon Press. Oxford, 1979.

JOVANOVIC, S. V.; STEENKEN, S.; TOSIC, M.; MARJANOVIC, B.; SIMIC, M. G., Flavonoids as antioxidants, **Journal of American Chemical Society**, 116, 4846-4851, 1994.

KAMMERER, J.; KAMMERER, D. R.; JENSEN, U.; CARLE, R., Interaction of apple polyphenols in a multi-compound system upon adsorption onto a food-grade resin, **Journal of Food Engineering**, 96, 544-554, 2010.

KUMAR, K.V.; SIVANESAN, S. Isotherm parameters for basic dyes onto activated carbon: Comparison of linear and non-linear method. **Journal of Hazardous Materials**, 129, 147-150, 2006.

LEMAńska, K.; SZYMUSIAK, H.; TYRAKOWSKA, B.; KIELIński, R.; SOFFERS, A. E. M. F.; RIETJENS, I. M. C. M. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. **Free Radical Biology & Medicine**, 7, 869-881, 2001.

LIU, W.; ZHANG, S.; ZU, Y. G.; FU, Y. J.; MA, W.; ZHANG, D. Y.; KONG, Y. Preliminary enrichment and separation of genistein and apigenin from extracts of pigeon pea roots by macroporous resins. **Bioresource Technology**, 101, 4667-4675, 2010.

LYDERSEN, A.L., **Mass Transfer in engineering practice**, (S. I): Wiley-inte, New York, 1985.

MARQUARDT, M.; EIFLER-LIMA, V. L. A síntese orgânica em fase sólida e seus suportes poliméricos mais empregados. **Química Nova**. 24, 846-855, 2001.

MARTIN, S.; ANDRIANTSITOHAINA, R. Mecanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. **Annales de Cardiologie et d'Angéiologie**, 51, 304-315, 2002.

McCABE, W.L.; SMITH, J.C.; HARRIOT, P. **Unit operations of chemical engineering**. 6 ed. McGrall Hill, New York, 2001.

MCKAY, G.; OTTERBURN, M.S.; SWEENEY, A.G. The removal of colour from effluent using various adsorbents—IV. Silica: Equilibria and column studies. **Water Research**, 14, 21-27, 1980.

MIELCZAREK, C. Acid-base properties of selected flavonoids glycosides. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 25, 273-279, 2005.

MINGHUI, F.; SHIYING, X. Adsorption and desorption properties of macroreticular resins for salidroside from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. **Separation and purification Technology**, 61, 211-216, 2007.

NATSUME, M.; OSAKABE, N.; YAMAGISHI, M.; TAKIZAWA, T.; NAKAMURA, T.; MIYATAKE, H.; HATANO, T.; YOSHIDA, T. Analyses of Polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, 64, 2581-2587, 2000.

NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E.; VAN HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.; VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, 74, 418-425, 2001.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatória*. **Food Chemistry**, 115, 1199-1205, 2009.

POMPEU, D. R., MOURA, F. G., SILVA, E. M., ROGEZ, H., Equilibria, kinetics, and mechanisms for the adsorption of four classes of phenolic compounds onto synthetic resins, **Separation and Science and Thechnology**. 45, 700-709, 2010.

REN, P.; ZHAO, X.; ZHANG, J.; SHI, R.; YUAN, Z.; WANG, C.; Synthesis of high selectivity polymeric adsorbent and its application on the separation of ginkgo flavonol glycosides and terpene lactones. **Reactive e Functional Polymers**, 68, 899-909, 2008.

RICE-EVANS, C. A.; PACKER, L. **Flavonoids in Health and disease**. Marcel Dekker, Inc., New York, 1998.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, 2, 152-159, 1997.

ROBARDS, K; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, 66, 401-436, 1999.

ROGEZ, H. **Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. EDUFPA, Belém, 2000.

ROHM AND HAAS. **Technical Information Bulletin**. [online] Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.rohmmaas.com> Arquivo capturado em 12 de dezembro de 2008.

ROSS, J. A.; KASSUM, C. M. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, 22, 19-34, 2002.

SAKIHAMA, Y.; COHEN, M. F.; GRAE, S. C.; YAMASAKI, H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. **Toxicology**, 177, 67-80, 2002.

SANCHEZ-MORENO, C.; JIMENEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. **Nutrition Research**, 20, 941-953, 2000.

SANG, S.; TIAN, S.; WANG, H.; STARK, R. E.; ROSEN, R. T.; YANG, C. S. et al. Chemical studies of the antioxidant mechanism of tea catechins: Radical reaction products of epicatechin with peroxy radicals. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 11, 3371-3378, 2003.

SAKAKIBARA, H.; HONDA, Y.; NAKAGAWA, S.; ASHIDA, H.; KANAZAWA, K. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 571-581, 2003.

SCORDINO, M., DI MAURO, A.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Adsorption of flavonoids on resins: Cyanidin 3-glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 1965-1972, 2004.

SCORDINO, M., DI MAURO, A.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Adsorption of flavonoids on resins: Hesperidin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 6998-7004, 2003.

SEADER, J.D.; HENLEY, E.J. **Separation Process Principles**. Ed. Wiley., New York, 1998.

SERPEN, A.; ATAC, B.; GÖKMEN, V. Adsorption of Maillard reaction products from aqueous solutions and sugar syrups using adsorbent resin. **Journal of Food Engineering**, 82, 342-350, 2007.

SILVA, E. M. **Otimização de métodos de análises de antocianinas: poder antioxidantes e quantificação rápida**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Pará, Centro Tecnológico, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Belém, 2002.

SING, K. S. W.; EVERET, D. H.; HAUL, R. A. W.; MOSCOU, L.; PIERPTTI, R. A.; ROUQUÉROL, J.; SIEMIENIEWSKA, T. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination on surface area and porosity. **Pure Application Chemistry**, 57, 603-619, 1985.

SINGH, S. V.; GUPTA, A. K.; JAIN, R. K., Adsorption of naringin on nonionic (neutral) macroporus adsorbent resin from its aqueous solutions, **Journal of Food Engineering**, 86, 259-271, 2008.

SLEJKO, F.L. **Adsorption technology: A step-by-step approach to process evaluation and application**. New York : Marcel Dekker, 1985.

SMITH, M.; MARTELL, E., **Critical Stability Constants**, vol. 6, (supplement section), Plenum Press, New York, 1989.

SMYK, B.; PLISZKA, B.; DRABENT, R., Interaction between cyaniding-3-glucoside and Cu(II) ions, **Food Chemistry**, 107, 1616-1622, 2008.

SOMASUNDARAN, P. **Encyclopedia of Surface and Colloid Science**, CRC Press, New York, 2006.

SOUZA, J. N. S. **Caracterização e quantificação das antocianinas do fruto de açazeiro (*Euterpe oleracea*)**. Dissertação (Mestrado) - Universite Catholique de Louvain, Bélgica, 2000.

SRIVASTAVA, V.C.; SWAMY, M.M.; MALL, I.D.; PRASAD, B.; MISHRA, I.M. Adsorptive removal of phenol by bagasse fly ash and activated carbon: Equilibrium, kinetics and thermodynamics. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 272, 89-104, 2006.

SUN, L.-M.; MEUNIER, F. **Adsorption – Aspects théoriques**. [online] Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.techniques-ingenieur.fr> Arquivo capturado em 12 de dezembro de 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3ªEd. Porto Alegre: Artmed, 2004.

THOMAS, J.M.; THOMAS, W.J. **Principles and practice of heterogeneous catalysis**, Wiley-VCH, 1997.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; BLÁZQUEZ, M. A.; GARCIA-VIGUERA, C.; FERRERES, F.; TOMÁS-LORENTE, F. A comparative study of different amberlite XAD resins in flavonoid analysis. **Phytochemical analysis**, 3, 178-181, 1992.

TSAO, R.; YANG, R. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1018, 29-40, 2003.

WANG, J.; WU, F. A.; ZHAO, H.; LIU, L.; WU, Q. S. Isolation of flavonoids from mulberry (*Morus alba* L.) leaves with macroporous resins. **African Journal of Biotechnology**, 7, 2147-2155, 2008.

WEBER, W. MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon solution, **Journal of the Sanitary Engineering Division**, 89, 31-39, 1963.

YAMAMOTO, S.; HAKODA, M.; ODA, T.; HOSONO, M. Rational method for designing efficient separations by chromatography on polystyrene-divinylbenzene resins eluted with aqueous ethanol, **Journal of Chromatography A**, 1162, 50-55, 2007.

YANG C.S.; LANDAU, J.M.; HUANG M.T.; NEWMARK, H.L. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review Nutrition**, 21, 381-406, 2001.

YING, Z.; SHUFEN, L.; WIWEN, W.; XING, Z. Macroporous resin adsorption for purification of flavonoids in *Houttuynia cordata* Thunb. **Chin. J. Chem. Eng.**, 15, 872-876, 2007.

ZHANG, Y.; JIAO, J.; LIU, C.; WU, X.; ZHANG, Y. Isolation and purification of four flavones C-glycosides from antioxidant of bamboo leaves by macroporous resin column chromatography and preparative high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, 107, 1326-1336, 2008.

ZHAO, R.; YAN, Y.; LI, M.; YAN, H. Selective adsorption of tea polyphenols from aqueous solution of the mixture with caffeine on macroporous crosslinked poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidinone), **Reactive e Functional Polymers**, 68, 768-774, 2008.

ANEXO



AMAZONDREAMS

Tecnologia em Antioxidantes

www.amazondreams.com.br

AMAZON DREAMS IND. E COM. LTDA

Rua Augusto Corrêa, 001, Universidade Federal do Pará

Prédio da Incubadora de Empresas, sala 11, Usina 02

Guamá - Belém - Pará - Brasil

Tel: +55 (91) 3201 – 8022 ramal 226 / +55 (91) 91670828

CEP: 66075-900

E-mail: contato@amazondreams.com.br

FICHA TÉCNICA

PRODUTO: Açaí Clarificado

INFORMAÇÕES DO PRODUTO

Classificação

Botânica	<i>Euterpe oleracea</i>	Sólidos totais (%)	0,7 ± 0,5
Parte da Planta	Fruto	Sólidos solúveis (°Brix)	0,3
	Amazônia		
Origem	brasileira	pH	3,5
Aroma	Característico	Ac. Titulável (g ac. cítrico/100g)	0,04
Cor	Característica	C. Padrão de Bactérias (UFC/ml)	< 10,0x10 ¹
Descrição	Líquido	Bolores e Leveduras (UFC/ml)	< 4,0x10 ¹
Conservantes	Não	Coliformes (NMP/ml)	< 3,0
Temperatura de conservação	- 18°C	Coliformes a 45°C (NMP/ml)	< 3,0
Safra	Julho – Dezembro	Salmonela	Ausência

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

Polifenoxidase (UI)	< 0,01
Antocianinas (mg/100g)	>80
Polifenóis Totais (mg/100g)	>200
ORAC (µmol Eq. trolox/100g)	> 12000

EMBALAGENS

Baldes com capacidade para 18 Kg ou Tambores de Aço com capacidade para 180 Kg.

VALIDADE

18 meses a -18°C

APLICAÇÃO

Para elaboração de bebidas lácteas, chás, bebidas com frutas, energéticas, néctares, refrigerantes, sorvetes, sobremesas lácteas etc.