



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

IVONETE QUARESMA DA SILVA

Estudo da adsorção seletiva de misturas de compostos
fenólicos puros e de extrato de frutos de *Euterpe oleracea*
sobre resinas macroporosas

BELÉM – PA

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

IVONETE QUARESMA DA SILVA

Estudo da adsorção seletiva de misturas de compostos fenólicos puros e de extrato de frutos de *Euterpe oleracea* sobre resinas macroporosa

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como pré-requisito para a obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Hervé Rogez

BELÉM – PA

2010

IVONETE QUARESMA DA SILVA

Estudo da adsorção seletiva de misturas de compostos fenólicos puros e de extrato de frutos de *Euterpe oleracea* sobre resinas macroporosa

DATA DA AVALIAÇÃO: ____/____/____

PARECER DA BANCA: _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva
(FEP/PPGCTA/UFPA – Orientador)

Prof. Dr. Hervé Rogez
(FEA/ITEC/ PPGCTA /UFPA – Co-orientador)

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

Prof. Dr. Jesus Nazareno da Silva
(FEA/ITEC/ PPGCTA /UFPA – Membro)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** por ter me dado saúde e força para concluir mais essa etapa.

Ao **CNPq** pela concessão de bolsa de mestrado.

A **Universidade Federal do Pará** por ter sido cenário de muitas realizações profissionais e pessoais. Obrigada por ter me acolhido (minha 2º casa), me alimentado (RU) e ainda ter me fornecido diversão (Vadião). Todos esses elementos foram sem dúvida, muito importantes para conclusão deste trabalho.

Aos meus orientadores **Evaldo Silva** e **Hervé Rogez** o meu muito obrigada pela orientação, confiança, oportunidade e pelos exemplos de profissionalismo, competência, disciplina, dedicação e ética. Qualidades que penso serem necessárias para a formação de bons pesquisadores.

Aos **Professores Jesus Nazareno da Silva** e **Roberto de Freitas Neves** pelas relevantes contribuições que permitiram melhorar a qualidade deste trabalho.

Aos **docentes do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará**, por contribuírem de maneira substancial para o meu desenvolvimento intelectual durante estes dois anos, em especial a **Profª Luiza Meller** a quem eu tenho muita estima, amizade e admiração e ao **Prof. Rosinelson Pena** que sempre se mostrou disponível a ajudar em todas as etapas deste trabalho.

A **Empresa Amazon Dreams Indústria e Comércio S.A.** pela doação dos extratos de açaí utilizados neste estudo, em especial aos funcionários e amigos **Kleidon Lobato** e **Antônio Alvez** por toda ajuda fornecida.

A minha família em especial a minha mãe **Sebastiana Quaresma**, minha grande fonte de inspiração e motivação, através dela conheci o verdadeiro significado da palavra Amor, pois só ele justifica tudo que ela fez por mim e por nossa família. Te amo pra sempre mãe!!

A minha tia **Celina** a quem eu considero segunda mãe, pois apesar de não possuir filhos, a vida a fez mãe de muitos sobrinhos como eu. Dedico toda a minha caminhada acadêmica a ela, que nascida no Cutininga (Interior de Abaetetuba) e pertencente a uma família de oito filhos, foi a única a obter seu diploma com muito batalha, aos seus 40 anos de idade.

As minhas irmãs **Irlane** e **Ione** que sempre me incentivavam e acreditaram em mim quando eu mesma não acreditava. Não posso esquecer-me da minha adorada sobrinha **Júlia**, que desde o seu nascimento só nos trouxe alegria e fez com que o universo se tornasse ainda mais belo.

Aos meus queridos amigos **Fagner Aguiar** (my boyfriend), **Fábio Moura**, **Lorena Maciel**, **Leandro Marinho**, **Anne Suelém**, **Carissa Bichara**, **Marília Cavalcante**, **Christelle Herman**, **Anderson Matias**,

Damien Michote, Camila Bastos, Diego Aires e Juliane Silva, pelo apoio, amizade, companheirismo e pelos agradabilíssimos momentos que passamos juntos. Valeu galera!!

*Ao **Darly Pompeu** pela amizade sem dúvida, mas principalmente pela inegável disposição e paciência em esclarecer dúvidas sobre a execução das análises estatísticas.*

*A **Elém Caramês, Fernanda Damin e Luciana da Silva** por toda disposição e dedicação dada nas manipulações e Análises Cromatográficas, sem vocês meninas, nada disso seria possível.*

*Aos colegas da Usina de Alimentos, em especial ao **Gyorgi Ferreira, Rafael Holanda, Leonardo e Isaias** pela mão-de-obra fornecida nas etapas de adsorção.*

*Ao **Aécio Dias** por toda ajuda dada na compra dos padrões fenólicos utilizados neste trabalho.*

*A **Socorro (Help)** pela organização do laboratório, limpeza das vidraria e pela companhia. Sem ela o que seria de nossos trabalhos?*

Por último, agradeço de modo geral a boa convivência que tive com as pessoas do LEQUAL e pelo agradável e estimulante convívio.

*Bom mesmo é ir à luta com determinação,
Abraçar a vida com paixão,
Perder com classe
E vencer com ousadia,
Porque o mundo pertence a quem se atreve
E a vida é “muito” pra ser ‘insignificante’
Charles Chaplin*

RESUMO

Os compostos fenólicos constituem um grupo de moléculas capazes de retardar ou inibir algumas reações oxidativas em alimentos e organismos vivos, e por isso são classificados como moléculas com propriedades antioxidantes, podendo ter aplicações nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas. A tecnologia de adsorção empregando resinas poliméricas não-iônicas é um dos processos que vem sendo utilizado pelas indústrias de produtos naturais para recuperação de compostos fenólicos a partir de extratos vegetais. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a seletividade da adsorção face a misturas equimolares de dez compostos fenólicos (ácido gálico, ácido siríngico, ácido ferrúlico, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, rutina, quercetina, naringenina, catequina e apigenina), em experimentos de batelada (a pH 3,5 e 25° C), sobre resinas macroporosas (XAD 2, XAD 761, XAD 1180, XAD 16, XAD 7, EXA 118, EXA 45), bem como analisar a competição destes compostos pelos sítios ativos das mesmas, através de isotermas de adsorção de misturas. Complementarmente, estudou-se o comportamento adsortivo em leito fixo através de curvas de ruptura de um extrato rico em várias famílias de compostos fenólicos (*Euterpe oleracea*) usando resinas selecionadas pelos estudos anteriores mencionados. Os resultados mostram que os dados experimentais de adsorção se ajustaram bem ao modelo de Langmuir, e seus parâmetros serviram de base para explicar as interações soluto-soluto e soluto-adsorvente, assim como a competição entre esses compostos. Isto levou a evidenciar, juntamente com o estudo de seletividade sobre as resinas, que compostos de natureza mais apolar, como a quercetina, naringenina e apigenina tiveram maior afinidade com as resinas de caráter apolar e porosidade menores. Logo, uma seqüência de resinas pode ser sugerida para o fracionamento parcial de compostos fenólicos de extratos vegetais tomando como base esses resultados. A resina XAD 2 poderia ser empregada por exemplo, para obtenção de frações apolares, enquanto as resinas XAD 1180, EXA 45 e XAD 761 para as frações contendo compostos de polaridade intermediária e por fim, as resinas EXA 118 (ou XAD 16) para obtenção de frações mais polares. A adsorção dinâmica mostrou que a resina XAD 2 alcança rapidamente a zona de saturação, enquanto a EXA 118 apresenta comportamento inverso. Por sua vez, a XAD 1180 apresentou comportamento intermediário. De maneira geral, o presente estudo mostrou que se deve levar em conta não só a seletividade, mas também a capacidade adsortiva das resinas, caso o escopo do processo de adsorção seja fracionar parcialmente compostos fenólicos de extratos vegetais visando aplicações industriais. Para tanto, as resinas de caráter intermediário (XAD 1180 ou XAD 761) poderiam atender a ambas as finalidades.

Palavras chaves: Seletividade, capacidade adsortiva, compostos fenólicos, *Euterpe oleracea* Mart.

ABSTRACT

Phenolic compounds constitute a group of molecules able to delay or inhibit oxidative reactions in foods and living organisms, and are therefore classified as molecules with antioxidant properties and may have applications in food, pharmaceutical and cosmetic industries. The adsorption technology using non-ionic polymeric resins is a process that has been used by industries of natural products for recovery of phenolic compounds from plant extracts. Thus, the aim of this study was to evaluate the selectivity of adsorption for equimolar mixtures of ten phenolic compounds (gallic acid, syringic acid, ferrulic acid, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, rutin, quercetin, naringenin, catechin and apigenin), in batch experiments (at pH 3.5 and 25 °C), on macroporous resins (XAD 2, XAD 761, XAD 1180, XAD 16, XAD 7, EXA 118, EXA 45), as well as analyzing the competition of these compounds onto the active sites of resins through adsorption isotherms of mixtures. In addition, we studied the adsorptive behaviour on fixed bed by using breakthrough curves of an extract rich in several families of phenolic compounds (*Euterpe oleracea*) using resins selected by the previous studies. The results show that the experimental adsorption data fitted well to Langmuir model and its parameters were the basis for explaining the solute-solute and solute-adsorbent interactions, as well as the competition between these compounds. This led to evidence, along with the study of selectivity of the resins, that phenolic compounds of a more apolar nature, such as quercetin, naringenin and apigenin, had a greater affinity with resins of nonpolar characteristics. Therefore, a sequence of resins can be suggested for the partial fractionation of phenolic compounds from plant extract on the base of these results. The XAD 2 could be used for obtaining apolar fractions, while the resins XAD 1180 (ou EXA 45) e XAD 761 for fractions containing compounds of intermediate polarity; and finally, the resins EXA 118 (or XAD 16) to obtain the more polar fractions. The dynamic adsorption showed that the XAD 2 quickly reaches the saturation zone, while the EXA 118 shows the opposite behavior. In turn, XAD 1180 showed intermediate behavior. Overall, this study showed that one must take into account not only the selectivity, but also the adsorption capacity of the resins if the scope of the adsorption process is partially fractionate phenolic compounds of plant extracts aimed at industrial applications. To this end, the resins of intermediate character (XAD 1180 or XAD 761) could serve both purposes.

Keywords: Selectivity, adsorptive capacity, phenolic compounds, *Euterpe oleracea* Mart.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Alguns ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos encontrados em plantas.....	18
Quadro 2. Diferentes estruturas de distintas classes de flavonóides e suas substituições.....	22
Quadro 3. Compostos fenólicos já identificados no açaí.	26
Quadro 4. Principais diferenças entre adsorção física e adsorção química.	31
Quadro 5. Característica química dos compostos fenólicos estudados.	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura dos flavonóides, identificação dos anéis e numeração dos átomos de carbono. (A) Isoflavonas; (B) Flavonas e Flavonóis. Setas cheias indicam sítios de hidroxilação mais freqüentes e setas pontilhadas indicam maior freqüência de sítios de C- e/ ou - O de glicosilação.	21
Figura 2. (A) Açaizeiro; (B) Frutos do açaizeiro; (C) Bebida açaí.	24
Figura 3. Cromatograma obtido por CLAE de 28 compostos fenólicos diferentes. As classes dos compostos estão apresentadas na parte superior do cromatograma.	30
Figura 4. Exemplo de uma visualização regressiva de uma resina, partindo de uma esfera seguida de um feixe e as cadeias que a compõe até a fórmula molecular do polímero (matriz)	33
Figura 5. Ação do porógeno na formação da morfologia de uma resina macroporosa. (a) Resina na forma de gel; (b) Adição do porógeno e início da formação dos poros; (c) Formação da rede porosa; (d) Início da separação da fase porosa e do porógeno; (e) ‘Molde’ da fase porosa e (f) Fase porosa completa	34
Figura 6. Estrutura química das resinas alvo deste estudo. (A) resinas de estirenodivinilbenzeno; (B) resinas acrílicas; (C) resinas fenólicas.....	35
Figura 7. Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles, D’Silva e Easton (1974) e Giles, Smith e Huitson (1974).....	37
Figura 8. Curva típica de saturação (ou ruptura) de um adsorbato qualquer em sistema adsorvedor de leito fixo	40
Figura 9. Curvas de eluição isocrática de compostos fenólicos com diferentes concentrações de etanol, em resina de estirenodivinilbenzeno, HP20SS	42
Figura 10. Esquema do mecanismo de adsorção proposto por Pompeu et al. (2010) para o (A) ácido gálico sobre resina acrílica (XAD-7) e (B) ácido ferrúlico sobre resinas de estirenodivinilbenzeno (XAD-16, EXA 118 e EXA 90).....	44
Figura 11. Esquema de mecanismo de separação de um flavonol glicosilado e composto terpenico	45
Figura 12. Aparato experimental para as etapas do processo de adsorção: (A) carregamento da coluna; (B) coleta dos eluatos; (C) homogenização dos eluatos para posterior injeção em CLAE.	51
Figura 13. Cromatograma típico dos dez compostos fenólicos estudados neste trabalho. (1) ácido gálico; (2) catequina; (3) ácido síringico; (4) cianidina-3-glicosídeo; (5) cianidina-3-rutinosídeo; (6) ácido ferrúlico; (7) rutina; (8) quercetina; (9) naringenina; (10) apigenina.	53
Figura 14. Perfil cromatográfico do extrato de açaí (<i>E. oleracea</i>) utilizado neste estudo (1) cianidina-3-glicosídeo; (2) cianidina-3-rutinosídeo; (3) homoorientina e (4) orientina.	53
Figura 15. Relação entre a capacidade de retenção de água e a porosidade das resinas, excluída a XAD 7.	56

- Figura 16.** Capacidade de adsorção (%) de uma mistura equimolar de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas a pH 3,5, temperatura de 25°C e agitação de 50 rpm com duração de 1h. Ácido gálico (AG); ácido sirínico (AS); cianidina-3-glicosídeo (C3G); cianidina-3-rutinosídeo (C3R); catequina (CAT); rutina (RUT); ácido ferrúlico (AF); quercetina (QUE); naringenina (NAR); apigenina (API).57
- Figura 17.** Dendograma obtido por análise de agrupamento para os compostos fenólicos em função da capacidade adsorptiva (%) das resinas. As linhas pontilhadas destacam os principais grupos formados.....60
- Figura 18.** Isotermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para o ácido ferrúlico isolado e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir (AF: ácido ferrúlico, C3R: cianidina-3-rutinosídeo, RUT: rutina, NAR: naringenina).64
- Figura 19.** Isotermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para cianidina-3-rutinosídeo isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir (C3R: cianidina-3-rutinosídeo, AF: ácido ferrúlico, , RUT: rutina).65
- Figura 20.** Isotermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para naringenina isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir (NAR: naringenina, AF: ácido ferrúlico, RUT: rutina)66
- Figura 21.** Isotermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para rutina isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir (RUT: rutina, AF: ácido ferrúlico, C3R: cianidina-3-rutinosídeo, NAR: naringenina, ,)67
- Figura 22.** Curva de ruptura dos quatro principais compostos fenólicos de *E. oleracea* para as resinas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118. (C3G: cianidina-3-glicosídeo, C3R: cianidina-3-rutinosídeo). ..72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espectros de absorção de algumas classes de compostos fenólicos.	29
Tabela 2. Estrutura química e propriedades físicas dos adsorventes.....	46
Tabela 3. Dados utilizados para quantificação dos compostos fenólicos por CLAE.....	52
Tabela 4. Dados utilizados para quantificação dos compostos fenólicos majoritários do açaí.	52
Tabela 5. Percentual de água retido pelas resinas.	55
Tabela 6. Parâmetros de isothermas do modelo de Langmuir estimados para avaliar a adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas.	63

LISTA DE ABREVIATURAS

AG: Ácido gálico

AF: Ácido ferrúlico

ANOVA: Análise de variância

API: Apigenina

AS: Ácido siríngico

BV: Volume do leite

CAT: Catequina

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

C3G: Cianidina-3-glicosídeo

C3R: Cianidina-3-rutinosídeo

DAD: Detector de arranjos de diodos

EAG: Equivalente ácido gálico

ES: Estireno

HOM: Homoorientina

IUPAC: Internacional Union of Pure and Applied Chemistry

MOL: Moléculas

NAR: Naringenina

ORI: Orientina

PT: Polifenóis totais

QUE: Quercetina

RUT: Rutina

SDVB: Estireno divinilbenzeno

ZTM: Zona de transferência de massa

VIS: Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1	COMPOSTOS FENÓLICOS.....	17
2.1.1	<i>Aspectos gerais.....</i>	<i>17</i>
2.1.2	<i>Classificação.....</i>	<i>17</i>
2.2	AÇAÍ: MATRIZ ALIMENTAR RICA EM COMPOSTOS FENÓLICOS.....	24
2.3	QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	28
2.4	ADSORÇÃO.....	30
2.4.1	<i>Aspectos gerais.....</i>	<i>30</i>
2.4.2	<i>Resinas macroporosas.....</i>	<i>32</i>
2.4.3	<i>Síntese de resinas macroporosas.....</i>	<i>33</i>
2.4.4	<i>Isotermas de equilíbrio.....</i>	<i>35</i>
2.4.5	<i>Adsorção e dessorção em leito fixo.....</i>	<i>38</i>
2.4.6	<i>Resinas macroporosas versus compostos fenólicos.....</i>	<i>41</i>
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1	MATERIAL ADSORVENTE.....	46
3.2	PADRÕES FENÓLICOS E REAGENTES.....	47
3.3	EXTRATO DE AÇAÍ (<i>EUTERPE OLERACEA</i>).....	47
3.4	DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÁGUA ADSORVIDA PELAS RESINAS.....	47
3.5	PROCEDIMENTO PARA ESTUDO DE SELETIVIDADE ADSORTIVA POR COMPOSTOS FENÓLICOS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS.....	49
3.6	ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE MONO E MULTICOMPONENTES.....	49
3.7	PROCEDIMENTOS PARA ADSORÇÃO DINÂMICA.....	50
3.8	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	51
3.9	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	54
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1	CONTEÚDO DE ÁGUA ADSORVIDA PELAS RESINAS.....	55
4.2	ESTUDO DA SELETIVIDADE DAS RESINAS POR COMPOSTOS FENÓLICOS.....	57
4.2.1	<i>Análise dos percentuais de adsorção e correlação com as propriedades físicas.....</i>	<i>57</i>
4.2.2	<i>Análise multivariada de agrupamento de dados.....</i>	<i>59</i>
4.3	ISOTERMAS DE MONO E MULTICOMPONENTES.....	61
4.4	ADSORÇÃO DINÂMICA DE EXTRATO DE AÇAÍ (<i>EUTERPE OLERACEA</i>).....	71
5	CONCLUSÃO.....	74
	REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

Durante recentes décadas o interesse por metabólitos secundários de plantas, especialmente compostos fenólicos, tem aumentado substancialmente. Isso se deve principalmente aos atributos “tecnofuncionais” e “biofuncionais” destas moléculas já evidenciados em muitas pesquisas, de âmbito mundial, conferindo-lhes efeitos antiulcerosos, antiinflamatórios, antitrombóticos, anticarcinogênicos, antibacterianos, antialergênicos e hipocolesterolêmico.

Tais benefícios à saúde atribuídos a essas moléculas impulsionam o mercado emergente de compostos nutracêuticos e funcionais, o qual busca cada vez mais por técnicas eficazes de separação capazes de tornar disponíveis esses valiosos compostos para aplicação tanto no setor alimentício como cosméticos e de drogas. Neste contexto, a tecnologia de adsorção utilizando resinas sintéticas macroporosas é atualmente o processo mais utilizado em grande escala para a recuperação de compostos fenólicos, a partir de extratos vegetais brutos.

A aplicação de resinas sintéticas tem várias vantagens, tais como custos de operação relativamente baixos, manuseio simples e alta capacidade de adsorção para diferentes classes de compostos fenólicos. Seus procedimentos de reutilização são simples, resultando em longa vida útil. Além disso, a utilização desses adsorventes para fins alimentares é autorizada e regulada pelo código de regulamentação da Comunidade Européia e pela Food and Drugs Administration (EUA) (DI MAURO et al., 1999, 2000, 2002).

Nos últimos anos, estudos sobre a adsorção de compostos puros e purificação de extratos por resinas macroporosas têm avançado. Porém o mesmo não pode ser falado a respeito de sistemas de multicomponentes, os quais na maioria das vezes são denominados complexos.

Neste contexto, o presente trabalho visa de maneira geral avaliar a adsorção de misturas equimolares de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas indicando as resinas mais apropriadas para obtenção de frações de diferentes polaridades, avaliar a competição dos compostos fenólicos pelos sítios ativos das resinas através de isotermas

e por fim, acompanhar o comportamento adsorptivo dos fenólicos do açaí em sistema dinâmico (coluna de adsorção) através de curva de ruptura.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

2.1.1 Aspectos gerais

Os compostos fenólicos constituem o maior e mais distribuído grupo de metabólitos secundários do reino vegetal (CHITARRA e CHITARRA, 2005). São usualmente encontrados nos vacúolos das células vegetais e tendem a ser solúveis em água, principalmente quando glicosilados (TEISSEDRE et al., 1996).

Nas plantas, os compostos fenólicos atuam de diversas formas, como fitoalexinas (ação antipatogênica), atrativos de animais polinizadores e/ou dispersores de frutos, contribuem para pigmentação, agem como antioxidantes e na proteção contra radiação ultravioleta, entre outros. Na indústria de alimentos, estes compostos contribuem principalmente no amargor, adstringência, cor, flavor, odor e estabilidade oxidativa dos produtos de origem vegetal (SHAHIDI e NACZK, 2004). Essas propriedades variam de acordo com os tipos de compostos fenólicos encontrados nas matrizes alimentares.

2.1.2 Classificação

A diversidade de grupos funcionais e algumas especificidades encontradas nestes compostos, como o número de anéis fenólicos e as estruturas elementares que ligam estes anéis (MANACH et al., 2004), subdividem em várias classes, que vão desde fenóis simples, ácidos fenólicos e flavonóides, até polímeros complexos como as ligninas e os taninos (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

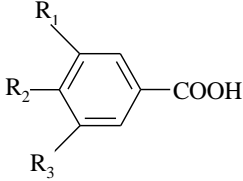
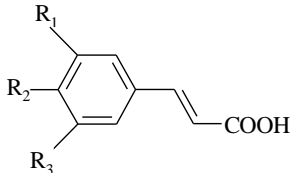
2.1.2.1 Ácidos Fenólicos

Os ácidos fenólicos se caracterizam por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais hidroxila e/ou metoxila na molécula (SOARES, 2002). Em função da sua estrutura química eles podem ser subdivididos em dois grupos: os derivados do ácido benzóico e os derivados do ácido cinâmico (Quadro 1) (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Os ácidos fenólicos contribuem para a qualidade sensorial e nutricional de frutas, vegetais e alimentos derivados destes. Diretamente ou indiretamente eles podem influenciar

na cor e na adstringência dos alimentos, além de serem de grande interesse devido sua capacidade antioxidante (FLEURIET e MACHEIX, 2003).

Quadro 1. Alguns ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos encontrados em plantas.

					
Ácidos hidroxibenzoicos					
Nome Comum	Nome Químico	R₁	R₂	R₃	
Ácido <i>p</i> -hidrobenzoico	Ácido 4-hidroxibenzoico	H	OH	H	
Ácido protocatecuico	Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	OH	OH	H	
Ácido gálico	Ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico	OH	OH	OH	
Ácido vanílico	Ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico	OCH ₃	OH	H	
Ácido siríngico	Ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico	OCH ₃	OH	OCH ₃	
					
Ácidos hidroxicinâmicos					
Nome Comum	Nome Químico	R₁	R₂	R₃	
Ácido <i>p</i> -cumárico	Ácido 4-hidroxicinâmico	H	OH	H	
Ácido caféico	Ácido 3,4-dihidroxicinâmico	OH	OH	H	
Ácido ferrúlico	Ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico	OCH ₃	OH	H	
Ácido sinápico	Ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxicinâmico	OCH ₃	OH	OCH ₃	

Fonte: Adaptado de Shahidi e Naczk (2004).

Na natureza, de maneira geral, os ácidos fenólicos são encontrados com maior frequência na forma de acilações de flavonóides; podendo ser solúveis e acumulados nos vacúolos das células vegetais, ou então insolúveis e associados aos componentes da parede celular. No entanto, algumas situações excepcionais podem promover o acúmulo na forma

livre, tais como: condições extremas de extração, perturbações fisiológicas, contaminações microbianas, anaerobiose, processamento de sucos de fruta, produção de vinho e em extratos vegetais previamente submetidos à hidrólise (FLEURIET e MACHEIX, 2003).

a) Ácidos Hiroxibenzóicos

Os ácidos hidroxibenzóicos possuem uma estrutura geral do tipo C₆-C1 derivada diretamente do ácido benzóico (FLEURIET e MACHIEIX, 2003) (Quadro 1). As variações na estrutura destes compostos estão diretamente ligadas as hidroxilações e/ou metoxilações presentes no anel aromático (FLEURIET e MACHIEIX, 2003).

Estes ácidos estão principalmente presentes nas formas *O*-glicosilados podendo ser encontrados também nas formas esterificadas. A presença da forma livre corresponde a produtos de degradação das formas conjugadas, durante etapas do processamento como extração ou subsequente hidrólise (FLEURIET e MACHEIX, 2003).

Normalmente a concentração de ácidos hidroxibenzóicos em vegetais comestíveis é muito baixa, com exceção das frutas vermelhas, rabanetes, cebola e do chá verde, os quais são uma importante fonte de ácido gálico (CLIFFORD, 1999; MANACH et al., 2004). Eles também podem ser encontrados como componentes de estruturas complexas, como as ligninas e os taninos hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos) (MANACH et al., 2004; JAGANATH e CROZIER, 2010).

b) Ácidos Hidroxicinâmicos

Os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns que os ácidos hidroxibenzóicos. Raramente eles são encontrados na forma livre, exceto em alimentos processados que sofreram congelamento, esterelização ou fermentação (FLEURIET e MACHEIX, 2003; GHARRAS, 2009).

Eles diferem-se dos ácidos benzóicos por apresentarem em sua estrutura uma “cauda” contendo uma dupla ligação, o que lhes confere maior hidrofobicidade. A presença desta dupla ligação na cadeia lateral promove a existência das formas isoméricas *cis* (Z) e *trans* (E). Os compostos predominantes na natureza estão principalmente na forma *trans*, porém a isomerização pode ocorrer durante a extração, purificação, como também pela ação da luz ou de outros fatores químicos e físicos (FLEURIET e MACHEIX, 2003).

O ácido caféico, tanto na forma esterificada como livre, é geralmente o ácido fenólico mais abundante, representando 75% a 100% do conteúdo total de ácido hidroxicinâmico em muitas frutas. O ácido caféico quando combinado com o ácido quínico forma o ácido clorogênico o qual é encontrado em muitos tipos de frutas e em altas concentrações no café (MANACH et al., 2004; GHARRAS, 2009).

Nos grãos de cereais, o ácido hidroxicinâmico mais abundante é o ácido ferrúlico (MANACH et al., 2004). Entretanto, muitos outros alimentos básicos como frutas cítricas, banana, café, suco de laranja, berinjela, brotos, beterraba, repolho, espinafre e brócolis também se mostram como algumas fontes deste ácido (CLIFFORD, 1999; SAKAKIBARA et al., 2003; ZHAO e MOGHADASIAN, 2008). Na maioria dos legumes e frutas, o ácido ferrúlico é encontrado na forma conjugada, estando ligado ao ácido quínico (no café, repolho e cenouras), ao ácido tartárico (na uva), ao ácido málico (em rabanete), ou a mono ou dissacarídeos como no caso da glicose (no repolho) e di-galactose (no espinafre) (CLIFFORD, 1999; ZHAO e MOGHADASIAN, 2008).

2.1.2.2 Flavonóides

Os flavonóides e as suas formas conjugadas representam um grande grupo de compostos naturais (GROTEWOLD, 2006) que apresentam em sua estrutura química 15 átomos de carbonos do tipo C₆-C₃-C₆, consistindo em dois anéis aromáticos (os anéis A e B) ligados por um terceiro anel (o anel-C) (Figura 1) (DAAYF e LATTANZIO, 2008).

Na natureza, os flavonóides encontram-se freqüentemente na forma glicosilada (*O*- ou *C*-glicosídeo). A forma *O*-glicosídeo apresenta a substituição de um grupo hidroxil por um açúcar, normalmente localizado nas posições 3 ou 7 do esqueleto aglicona dos flavonóides; enquanto que no *C*-glicosídeo, a molécula de açúcar está ligada diretamente no átomo de carbono da aglicona, geralmente nas posições 6 e 8. Os carboidratos mais comuns são: ramnose, glucose, galactose e arabinose (RIJKE et al., 2006).

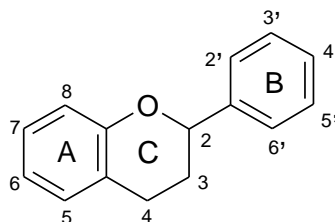


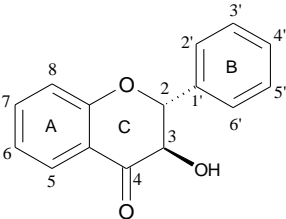
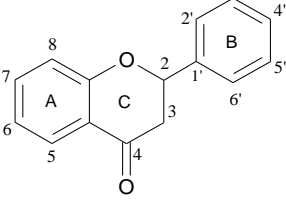
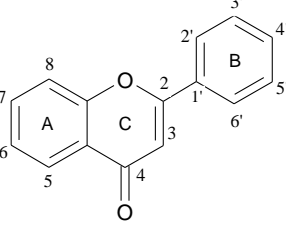
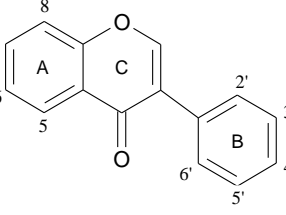
Figura 1. Estrutura base dos flavonóides, identificação dos anéis e numeração dos átomos de carbono. **Fonte:** Grotewold (2006).

Visto que os flavonóides são polifenóis, eles normalmente apresentam duas bandas de absorção no ultravioleta: a banda II, compreendida entre 240 a 285 nm, relacionada com o anel A, e a banda I com, variação entre 300 e 550 nm, que está relacionada com o anel B (HURST, 2002).

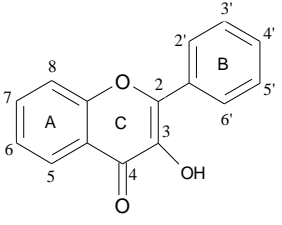
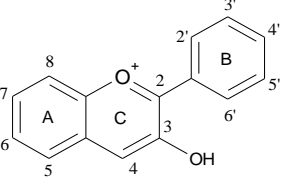
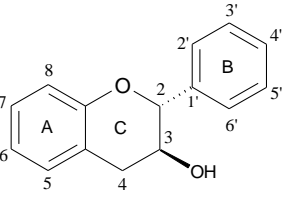
O grau de oxidação do anel C, juntamente com a localização do anel B nas posições C-2 ou C-3 e as diferentes substituições que o esqueleto dos flavonóides podem sofrer (como hidroxilação e glicosilação,) definem as várias classes de flavonóides (GROTEWOLD, 2006). Essas modificações permitem classificá-los em seis distintas classes.

O Quadro 2 apresenta as principais classes de flavonóides e exemplos dos principais compostos.

Quadro 2. Diferentes estruturas de distintas classes de flavonóides e suas substituições.

 <p style="text-align: center;">Flavanonol</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome</th> <th>Substituições</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Engeletina</td> <td>5=7=4'=OH; 3= O-ramnosídeo</td> </tr> <tr> <td>Astilbina</td> <td>5=7=3'=4'=OH; 3= O-ramnosídeo</td> </tr> <tr> <td>Genistina</td> <td>5=4'=OH; 7= glucosídeo</td> </tr> <tr> <td>Taxifolina</td> <td>5=7=3'=4'=OH</td> </tr> </tbody> </table>	Nome	Substituições	Engeletina	5=7=4'=OH; 3= O-ramnosídeo	Astilbina	5=7=3'=4'=OH; 3= O-ramnosídeo	Genistina	5=4'=OH; 7= glucosídeo	Taxifolina	5=7=3'=4'=OH								
Nome	Substituições																		
Engeletina	5=7=4'=OH; 3= O-ramnosídeo																		
Astilbina	5=7=3'=4'=OH; 3= O-ramnosídeo																		
Genistina	5=4'=OH; 7= glucosídeo																		
Taxifolina	5=7=3'=4'=OH																		
 <p style="text-align: center;">Flavanona</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome</th> <th>Substituições</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Naringina</td> <td>5=4'=OH; 7= neoesperidina</td> </tr> <tr> <td>Naringenina</td> <td>5=7=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Eriodictiol</td> <td>5=7=3'=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Hesperidina</td> <td>5=3'=OH; 4'= O CH₃; 7= rutinosídeo</td> </tr> </tbody> </table>	Nome	Substituições	Naringina	5=4'=OH; 7= neoesperidina	Naringenina	5=7=4'=OH	Eriodictiol	5=7=3'=4'=OH	Hesperidina	5=3'=OH; 4'= O CH ₃ ; 7= rutinosídeo								
Nome	Substituições																		
Naringina	5=4'=OH; 7= neoesperidina																		
Naringenina	5=7=4'=OH																		
Eriodictiol	5=7=3'=4'=OH																		
Hesperidina	5=3'=OH; 4'= O CH ₃ ; 7= rutinosídeo																		
 <p style="text-align: center;">Flavona</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome</th> <th>Substituições</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Apigenina</td> <td>5=7=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Luteolina</td> <td>5=7=3'=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Diosmetina</td> <td>5=7=3'=OH; 4'=OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Tricina</td> <td>5=7=4'=OH; 3'=5'=OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Sinensetina</td> <td>5=6=7=3'=4'=OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Tangeretina</td> <td>5=6=7=8=4'= OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Nobiletina</td> <td>5=6=7=8=3'=4'= OCH₃</td> </tr> <tr> <td>Isovitexina</td> <td>5=7=4'=OH ; 6=glucosídeo</td> </tr> </tbody> </table>	Nome	Substituições	Apigenina	5=7=4'=OH	Luteolina	5=7=3'=4'=OH	Diosmetina	5=7=3'=OH; 4'=OCH ₃	Tricina	5=7=4'=OH; 3'=5'=OCH ₃	Sinensetina	5=6=7=3'=4'=OCH ₃	Tangeretina	5=6=7=8=4'= OCH ₃	Nobiletina	5=6=7=8=3'=4'= OCH ₃	Isovitexina	5=7=4'=OH ; 6=glucosídeo
Nome	Substituições																		
Apigenina	5=7=4'=OH																		
Luteolina	5=7=3'=4'=OH																		
Diosmetina	5=7=3'=OH; 4'=OCH ₃																		
Tricina	5=7=4'=OH; 3'=5'=OCH ₃																		
Sinensetina	5=6=7=3'=4'=OCH ₃																		
Tangeretina	5=6=7=8=4'= OCH ₃																		
Nobiletina	5=6=7=8=3'=4'= OCH ₃																		
Isovitexina	5=7=4'=OH ; 6=glucosídeo																		
 <p style="text-align: center;">Isoflavona</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome</th> <th>Substituições</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Daidzeina</td> <td>7=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Genisteina</td> <td>5=7=4'=OH</td> </tr> <tr> <td>Daidzina</td> <td>4'=OH ; 7= glucosídeo</td> </tr> </tbody> </table>	Nome	Substituições	Daidzeina	7=4'=OH	Genisteina	5=7=4'=OH	Daidzina	4'=OH ; 7= glucosídeo										
Nome	Substituições																		
Daidzeina	7=4'=OH																		
Genisteina	5=7=4'=OH																		
Daidzina	4'=OH ; 7= glucosídeo																		

Quadro 2. Continuação

	Nome	Substituições
 <p>Flavonol</p>	Fisetina	7=3'=4'=OH
	Campferol	5=7=4'=OH
	Morina	5=7=2'=4'=OH
	Herbacetina	5=7=8=4'=OH
	Quercetina	5=7=3'=4'=OH
	Rutina	3=O- rutinosídeo; 5=7=3'=4'=OH
	Robinetina	7=3'=4'=5'=OH
	Miricetina	5=7=3'=4'=5'=OH
Gossipetina	5=7=8=3'=4'=OH	
	Nome	Substituições
 <p>Antocianidina (3=OH) e Antocianinas (3=açúcar)</p>	Pelargonidina	5=7=4'=OH
	Cianidina	5=7=3'=4'=OH
	Cianidina-3-glucosídeo	3=O- glucosídeo; 5=7=3'=4'=OH
	Cianidina-3-rutinosídeo	3=O- rutinosídeo; 5=7=3'=4'=OH
	Peonidina	5=7=4'=OH; 3'=OCH ₃
	Delfinidina	5=7=3'=4'=5'=OH
	Petunidina	5=7=4'=5'=OH; 3'=OCH ₃
	Malvidina	5=7=4'=OH; 3'=5'=OCH ₃
	Nome	Substituições
 <p>Flavanol</p>	Catequina (2R, 3S)	5=7=3'=4'=OH
	Epicatequina (2R, 3R)	5=7=3'=4'=OH
	Epigallocatequina (2R, 3R)	5=7=3'=4'=5'=OH
	Epicatequina galato (2R,3R)	5=7=3'=4'=OH; 3-éster de ác. gálico
	Epigallocatequina galato (2R, 3R)	5=7=3'=4'=5'=OH; 3- éster de ác. gálico

Fonte: Naczek e Shahidi (2004); Silva (2006).

2.2 AÇAÍ: MATRIZ ALIMENTAR RICA EM COMPOSTOS FENÓLICOS

O açazeiro (*Euterpe oleracea*, Mart.) (Figura 2) destaca-se por ser a palmeira mais produtiva do estuário amazônico (JARDIM, MOURÃO e GROISSMAN, 2004).

O fruto, matéria-prima para a obtenção do suco de açaí, bebida símbolo do estado do Pará, é o principal produto oriundo da palmeira (JARDIM, MOURÃO e GROISSMAN, 2004). Sua frutificação ocorre durante todo o ano, com pico de produção na época de menor precipitação, entre os meses de julho e dezembro (ROGEZ, 2000).



Figura 2. (A) Açazeiro; (B) Frutos do açazeiro; (C) Frutos e bebida açaí. **Fonte:** Santana e Costa (no prelo).

Devido à sua alta perecibilidade e falta de estudos que apontassem a sua alta qualidade nutricional, o consumo e a comercialização da bebida açaí, ficaram por muito tempo, restritos apenas ao âmbito regional. Entretanto, nos últimos 20 anos, o aumento do interesse internacional e da rede de distribuição têm elevado a produção de frutos bem como de polpa e de seus derivados (PACHECO-PALENCIA; HAWKEN e TALCOTT, 2007a).

Estima-se que a produção nacional de frutos da palmeira açai totalizou 108.033 toneladas, em 2007, sendo 6,6% maior que a de 2006. O principal produtor foi o Estado do Pará, que na temporada 2007 concentrou 86,8% da produção nacional. No Pará, encontram-se dezessete dos vinte maiores municípios produtores de frutos de açazeiros nativos do país (IBGE, 2008).

Estudos preliminares sobre a composição dos frutos de açai e seu valor nutritivo tiveram início no século passado. Entretanto, foi nas três últimas décadas que a polpa desse

fruto foi objeto de estudos mais aprofundados no que diz respeito a sua composição química (JARDIM, MOURÃO e GROISSMAN, 2004).

A potencialidade desta bebida, comum ao estuário amazônico, não se restringe apenas ao seu sabor exótico ou ao elevado valor energético, mas também, a sua riqueza fenólica (POZO-INFANS, BRENES e TALCOTT, 2004; GALLORI et al., 2004; SCHAUSS et al., 2006; PACHECO-PALENCIA, DUNCAN e TALCOTT, 2009).

Estudos comprovam a predominância de uma classe particular dos flavonóides no açaí, chamada de antocianinas. Esses pigmentos hidrossolúveis, responsáveis pela coloração violeta da bebida (ROSSO et al., 2008), juntamente com outras classes de fenólicos, proporcionam elevada capacidade antioxidante e conseqüentemente, grande habilidade em inibir reações oxidativas (PACHECO-PALENCIA, HAWKEN e TALCOTT, 2007b). Segundo Rogez (2000), o teor de antocianinas varia de 300 a 2000 mg/kg de frutos e a concentração e o perfil de antocianinas do açaí variam conforme a espécie, variedade, grau de maturidade, condições sazonais, área de produção, entre outros fatores. Além disso, o teor de antocianinas constitui um critério de qualidade dos frutos e da bebida.

Além das antocianinas, outros fenólicos foram identificados no açaí. Pacheco-Palencia, Duncan e Talcott (2009) em seus estudos objetivando analisar a composição química, capacidade antioxidante e a estabilidade térmica de duas espécies de açaí, entre elas *Euterpe oleracea*, evidenciou que dentre os compostos fenólicos não-antociânicos a orientina e homoorientina se mostram predominantes, representando cerca de 50% deste total de flavonóides não antociânicos.

Kang et al. (2010) avaliando a capacidade antioxidante de flavonóides isolados da polpa de açaí, identificou e isolou orientina e homoorientina, além de vitexina, luteolina, crisoeriol, quercetina e dihidrocampferol.

No Quadro 3, é possível visualizar todos os compostos fenólicos já encontrados no açaí.

Quadro 3. Compostos fenólicos já identificados no açaí .

Ácidos fenólicos	Referência
Ácido protocatecuico	1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 14
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 14
Ácido vanílico	1, 2, 3, 10, 11, 14
Ácido sirínico	1, 10, 14
Ácido ferrúlico	1, 2, 3, 10, 11, 14
Ácido <i>p</i> -coumarico	2, 3, 11
Ácido gálico derivativo	2
Ácido gálico	11
Ácido elágico	11
Ácido elágico derivativo	11
Antocianinas	
Cianidina-3-glucosídeo	1, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 13, 14
Cianidina-3-rutinosídeo	1, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 14
Peonidina-3-rutinosídeo	1, 3, 4, 7, 13
Cianidina-3,5-hexose pentose	4
Pelargonidina-3-glucosídeo	4, 11
Peonidina-3-glucosídeo	4, 8
Cianidina-3-(acetil) hexose	4
Cianidina gluc. Derivativa	6
Peonidina derivativa	6, 7
Pelargonidina-rutinosídeo	7
Pelargonidina derivativa	7
Delfinidina derivativa	7
Petunidina derivativa	7
Malvidina derivativa	7
Cianidina-3-sambubiosídeo	8
Cianidina-3-arabinosídeo	9
Cianidina-3-arabinosil-arabinosídeo	9
Peonidina-3-(6"-malonilglicosídeo)	13
Delfinidina- 3-glucosídeo	13
Flavonóis	
Quercetina-rutinosídeo (rutina)	7
Quercetina	15
Dihidrocampferol	15

Quadro 3. Continuação

Flavonas	Referência
Apigenina 6-C-glucosídeo-8-C-arabinosídeo	14
Apigenina 6,8-di-C-glucosídeo	14
Luteolina	15
Luteolina di-glucosídeo	1
Apigenina di-glucosídeo	1
Taxifolina derivativa	1
Isoorientina (luteolina-6-C-glucosídeo)	1
Orientina (luteolina-8-C-glucosídeo)	1, 6, 8, 14,15
Isovitexina derivativa	1
Vitexina	15
Taxifolina deoxihexose	1, 6, 8
Isovitexina (apigenina-6-C-glucosídeo)	1, 6, 8, 14
Escoparina (crisoeriol-8-C-glucosídeo)	1, 8,15
Homoorientina	1, 6, 8,14,15
Homoorientina derivativa	6
Flavanóis	
(+)-Catequina	1, 2, 3, 7, 10, 11, 14
(-)-Epicatequina	1, 2, 3, 5, 11
Procianidinas	
Dímero de procianidina	1, 2, 3, 7, 14
Trímeros de procianidina	1, 2, 3, 7, 14
Tetrâmeros de procianidina	7
Dímeros à pentâmeros de procianidina	5
Monômeros à decâmeros e polímeros	8
Estilbens	
Resveratrol	8
Lignanas	
10 compostos	12

Entre parênteses estão às matrizes estudadas por cada autor.

1: PACHECO-PALENCIA, DUNCAN e TALCOTT, 2009 (Açaí comercial); 2: PACHECO-PALENCIA, HAWKEN e TALCOTT, 2007b (sucos e frações de suco); 3:PACHECO-PALENCIA, HAWKEN e TALCOTT, 2007a (polpa de açaí); 4:ROSSO et al., 2008 (polpa liofilizada); 5: RODRIGUES et al., 2006 (frutos de açaí); 6: GALORI et al., 2004 (polpa de açaí); 7: LICHTENTHALER et al., 2005 (polpa de açaí); 8: SCHAUSS et al., 2006 (polpa de açaí); 9: BOBBIO et al., 2000 (polpa de açaí); 10: PACHECO-PALENCIA, TALCOTT e TALCOTT, 2008 (óleo de extrato e açaí clarificado); 11: POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004 (polpa fresca); 12: CHIN et al., 2008 (polpa de açaí); 13:HOGAN et al., 2010 (polpa liofilizada); 14: PACHECO-PALENCIA e TALCOTT, 2010 (polpa de açaí); 15: KANG et al., 2010 (polpa liofilizada).

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tornou-se a técnica mais popular de separação de compostos fenólicos, tanto em escala analítica como preparativa. As inovações nas instrumentações, nos materiais de empacotamento, e na tecnologia das colunas, estão sendo introduzidas freqüentemente, fazendo com que a técnica se torne cada vez mais atrativa (ANDERSEN e MARKHAM, 2006).

De acordo com a polaridade das duas fases, a CLAE pode ser classificada em fase normal, quando a fase estacionária é polar e a fase móvel é apolar e em fase reversa, quando a fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar (CECCHI, 1999). A CLAE fase reversa é o método de referência usado para as análises de compostos fenólicos (ROBARDS et al., 1999). De acordo com Andersen e Markham (2006), mais de 90% dos métodos de CLAE empregados para separação de compostos fenólicos utilizam como fase estacionária coluna do tipo C₁₈.

A fase normal é raramente utilizada, a não ser para a análise de flavonóides agliconas fracamente polares (como as antocianinas), de flavonas polimetoxiladas, de flavanonas, de isoflavonas ou de proantocianidinas (ANDERSEN e MARKHAM, 2006).

A fase móvel da CLAE deve ser um solvente que respeite algumas características impostas por esse método analítico. A principal característica é que a fase móvel dissolva a amostra sem qualquer interação química entre ambas. Esta fase deve ter alto grau de pureza para que se possam fazer análises de alta sensibilidade, pois as impurezas podem interferir na detecção do analito por UV (COLLINS, BRAGA e BONATO, 2006).

A fase móvel deve ser compatível com o detector empregado e, também possuir polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra. Embora existam vários solventes três deles são mais empregados: água, metanol e acetonitrila (COLLINS, BRAGA e BONATO, 2006).

Para eluição dos compostos fenólicos é bastante comum o emprego de misturas de solventes: acetonitrila-água, metanol-água, com ou sem pequenas quantidades de ácido. Ocasionalmente, outros solventes como tetrahidrofurano, isopropanol ou *n*-propanol são empregados (ANDERSEN e MARKHAM, 2006). As modificações ácidas são necessárias para suprimir a ionização de grupos hidroxil dos compostos fenólicos, originando picos mais

finos e caudas menos saliente. Os ácidos habitualmente utilizados são: ácido acético, fórmico, perclórico, trifluoroacético ou fosfórico; contudo, soluções tampões também são utilizadas, principalmente os tampões acetato e fosfato (ROBARDS, 2003).

A detecção por ultravioleta-visível (UV-Vis) através do dispositivo de rearranjo de diodos (DAD) é o método mais utilizado, atualmente, para os compostos fenólicos. Este tipo de detector caracteriza-se por ser capaz de emitir ondas a fim de identificar e quantificar compostos fenólicos com base no seu espectro UV-Vis e no tempo de retenção, comparado com um padrão fenólico conhecido e previamente caracterizado pelo CLAE (CHIRINOS, 2008). Através deste tipo de detector pode-se obter espectros completos na região ultravioleta/visível durante as análises cromatográficas (ESCRIBANO-BAILÓN e SANTOS-BUELGA, 2003). Em função da máxima absorção UV-Vis, os compostos fenólicos são freqüentemente identificados e quantificados usando quatro diferentes comprimentos de onda: 280 nm para os derivados dos ácidos hidroxibenzóicos, flavan-3-óis (incluindo seus dímeros) e dihidroxichalconas; 320 nm para os derivados dos ácidos hidroxicinâmicos, 360 nm para os flavonóis e 520 nm para as antocianinas (TSAO e YANG, 2003). A Tabela 1 mostra os comprimentos de onda de algumas famílias de compostos fenólicos.

Tabela 1. Espectros de absorção de algumas classes de compostos fenólicos.

Classe dos compostos	Absorção UV Banda II (λ_{\max})	Absorção UV Banda I (λ_{\max})	Visível (λ_{\max})
Ácidos benzóicos	270-280	-	-
Ácidos cinâmicos	290-300	-	-
Antocianinas	240-280	315-325	500-550
Flavonóis	250-270	350-380	-
Flavanóis	270-280	-	-
Flavonas	250-270	330-350	-
Flavanonas	270-295	300-330	-
Isoflavonas	245-270	300-340	-
Chalconas	220-270	340-390	-

Fonte: Robards et al. (1999).

Sakakibara et al. (2003) otimizaram um método capaz de quantificar vários tipos de compostos fenólicos em vegetais, frutas e chás, utilizando cromatografia de alta eficiência (Figura 3). Para tanto, foi utilizado uma coluna fase reversa C₁₈ (250 x 4,6 mm, 5µm) e fase

móvel composta por fosfato de sódio a pH 3,3 e metanol. Foi utilizado uma taxa de fluxo de 1mL/min.

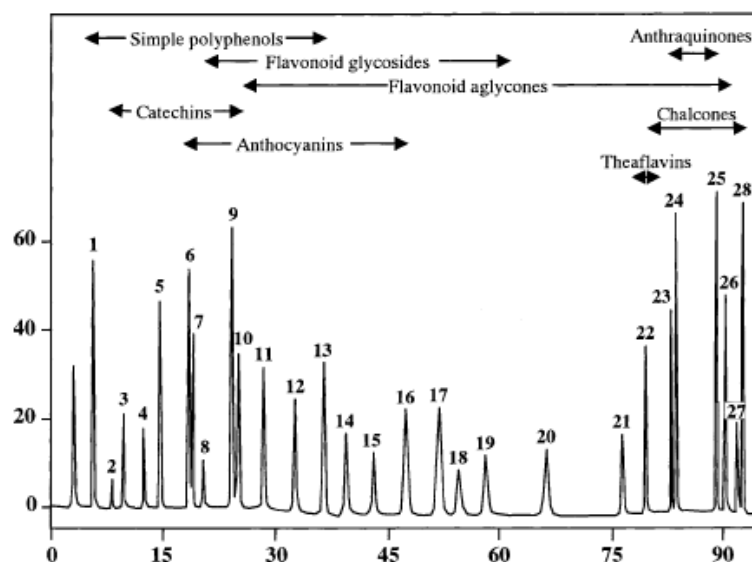


Figura 3. Cromatograma obtido por CLAE de 28 compostos fenólicos diferentes. As classes dos compostos estão apresentadas na parte superior do cromatograma. **Fonte:** Sakakibara et al. (2003).

2.4 ADSORÇÃO

2.4.1 Aspectos gerais

A adsorção é um processo que vem sendo utilizado na recuperação, concentração, separação e purificação de compostos, os quais podem apresentar alto valor agregado, como os compostos fenólicos. Trata-se de uma técnica que tem sido empregada principalmente devido aos baixos custos, pois não demanda energia como os demais processos de separação, ocorre a baixas pressões, necessita de tempos relativamente curtos de operação, apresenta possibilidade de reutilização do material adsorvente, não há transformações dos compostos desejados e, ainda, é um processo seletivo (GEANKOPLIS, 1993).

De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC, 1997), adsorção pode ser definida como o enriquecimento de um ou mais componentes numa camada interfacial, ou seja, é um processo de transferência de um ou mais constituintes de uma fase fluída ou gasosa para a superfície de uma fase sólida.

O fenômeno da adsorção pode ser classificado como físico ou químico dependendo do tipo de força de interação. Na adsorção física, também chamada de fisiossorção ou adsorção de van der Waals as forças envolvidas incluem atração por forças de van der Waals e/ou interação eletrostática. Casualmente, pode ocorrer deslocamento de elétrons, entretanto, estes não são compartilhados entre adsorvente e adsorbato (HINES e MADDOX, 1985).

A adsorção física é preferida em processos de adsorção, principalmente em nível industrial, pois nestes tipos de processos, as substâncias são mais facilmente liberadas da superfície do adsorvente, e este pode ser novamente utilizado (TREYBAL, 1981; RUTHVEN, 1984).

A adsorção química, também chamada de quimiossorção ou adsorção ativada, é o resultado de interação química entre o adsorvente e a substância adsorvida. Ocorre formação de ligações químicas, envolvendo o rearranjo de elétrons do adsorbato, que interage com a superfície do adsorvente (CIOLA, 1981; TREYBAL, 1981).

Os principais critérios para diferenciar a adsorção física da química estão descritas no Quadro 4.

Quadro 4. Principais diferenças entre adsorção física e adsorção química.

Característica	Adsorção física	Adsorção química
<i>Calor de adsorção</i>	Pequeno, da mesma ordem que a liquefação normal	Elevado, muitas vezes, maior do que o calor normal de liquefação
<i>Velocidade de adsorção</i>	Regulada pela resistência ao transporte de massa	Regulada pela resistência à reação superficial
<i>Especificidade</i>	Baixa, toda a superfície é disponível à adsorção	Elevada, limitada aos sítios específicos do adsorvente
<i>Cobertura da superfície</i>	Adsorção em mono ou multicamadas	Adsorção somente em monocamadas
<i>Quantidade adsorvida por unidade de massa</i>	Elevadas	Baixas
<i>Tipo de ligação</i>	Van der Waals (não ocorre transferência de elétrons)	Transferência de elétrons entre o adsorbato e o adsorvente

Fonte: Hougen, Watson e Ragatz (1984); Ruthven (1984).

Uma vez que a adsorção é um fenômeno de superfície, é importante que os adsorventes proporcionem uma grande área superficial externa e interna associada à sua estrutura porosa. A capacidade de adsorção depende, portanto, do tipo e tamanho dos poros, bem como da sua distribuição, e da natureza da superfície do adsorvente. Segundo a IUPAC, os poros num adsorvente são classificados em função do diâmetro como: macroporos ($\Phi > 50$ nm), mesoporos ($2 < \Phi < 50$ nm) e microporos ($\Phi < 2$ nm).

2.4.2 Resinas macroporosas

O termo “resina” se refere a uma estrutura complexa formada por unidades monoméricas constantes, ligadas numa espécie de rede. Os feixes dessas redes são interligados transversalmente por meio de um monômero bifuncional (ligações cruzadas ou *cross-linking*), formando na maioria dos casos, esferas de tamanho padronizado (YANG, 2003).

A proporção das ligações cruzadas define as características físicas, o grau de resistência frente à agitação mecânica, à temperatura e à pressão, além do comportamento quando em contato com diferentes solventes. Um elevado grau de ligações cruzadas torna a resina menos favorável ao inchamento, menos quebradiça e conseqüentemente, com alta rigidez física (MARQUARDT e EIFLER-LIMA, 2001).

As resinas poliméricas podem ser apolares, como as de estirenodivinilbenzeno (SDVB), ou levemente hidrofílicas, como as de acrílico. Elas apresentam alta capacidade de adsorção, seletividade pelo material a ser adsorvido, fácil regeneração e custo relativamente baixo, o que justifica sua grande utilização. A grande vantagem no uso destas resinas como adsorvente está relacionada à boa estabilidade química e mecânica que apresentam assim como fácil regeneração para múltiplos ciclos de adsorção/dessorção e características de sorção reprodutivas e elevados fatores de pré-concentração (YANG, 2003).

A Figura 4 ilustra uma visualização regressiva (da macro-escala ao nível molecular) de uma resina polimérica.

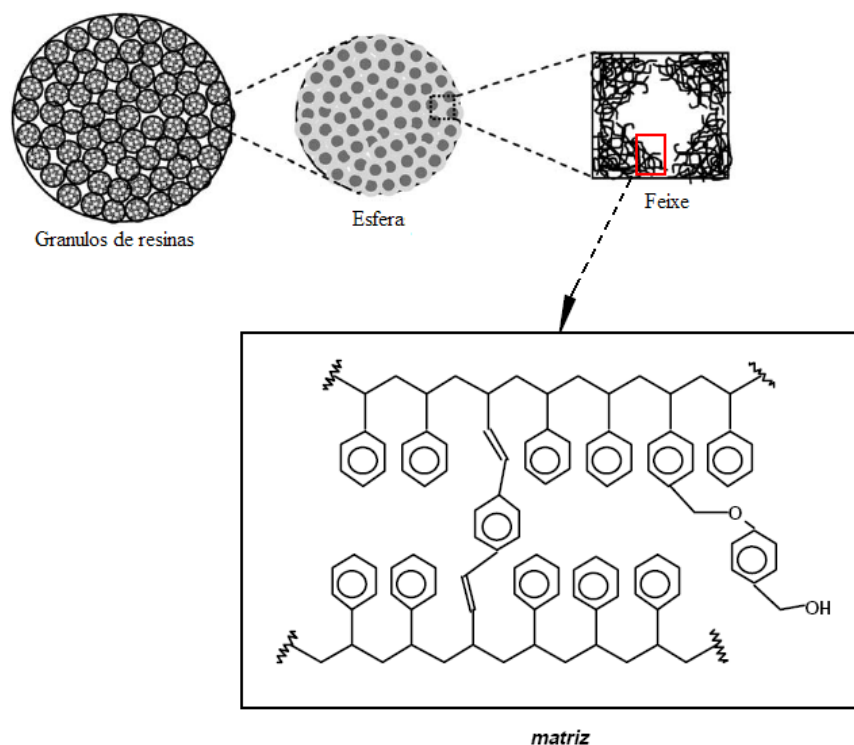


Figura 4. Exemplo de uma visualização regressiva de uma resina, partindo de uma esfera seguida de um feixe e as cadeias que a compõe até a fórmula molecular do polímero (matriz).

Fonte: Adaptado de Marquardt e Eifler-Lima (2001); Aleksieva et al. (2006).

2.4.3 Síntese de resinas macroporosas

Na atualidade, as resinas poliméricas não iônicas (em especial as de SDVB), acrílicas e fenólicas, objetos de estudo deste trabalho, têm recebido grande atenção da comunidade científica, por sua utilização na separação/purificação de compostos fenólicos, principalmente os flavonóides. Algumas destas resinas são preparadas através de polimerização de misturas de estireno e divinilbenzeno.

A formação dos poros durante o processo de fabricação das resinas se dá por adição de um solvente porógeno, que no caso das resinas de SDVB, muitas vezes é o tolueno (SHERRINGTON, 1998). A interação termodinâmica entre este solvente e o polímero, afeta diretamente a estrutura física do poro formado. Esta interação se dá em função de parâmetros de solvabilidade deste solvente na estrutura interna da resina (RODRIGUES et al., 2007). A

Figura 5 ilustra o processo de formação da rede porosa de uma resina de SDVB.

As resinas formadas são separadas por filtração e os traços de SDVB e outros solventes orgânicos que não reagiram são removidos por extração do tipo Soxhlet (SHERRINGTON, 1998).

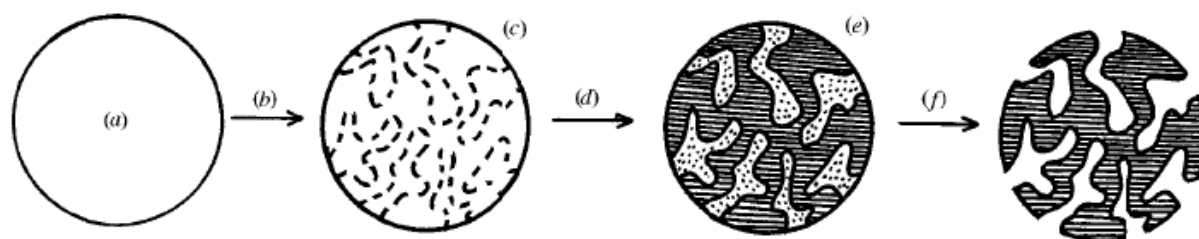


Figura 5. Ação do porógeno na formação da morfologia de uma resina macroporosa. (a) Resina na forma de gel; (b) Adição do porógeno e início da formação dos poros; (c) Formação da rede porosa; (d) Início da separação da fase porosa e do porógeno; (e) 'Molde' da fase porosa e (f) Fase porosa completa. **Fonte:** Sherrington (1998).

Segundo o boletim técnico da empresa Rohm e Haas as resinas obtidas da copolimerização em suspensão de estireno (ES) com divinilbenzeno (DVB) são formadas por esferas minúsculas semi-rígidas, sendo compatíveis com muitos solventes orgânicos e apresentam adequada resistência mecânica e química. Além disso, são os suportes mais usados para inserção de grupos funcionais, graças à facilidade de reação do anel benzênico.

As resinas XAD- 2, XAD- 1180 e EXA- 118 são polímeros adsorventes macroporosos que apesar de serem similares estruturalmente (Figura 6-A), diferem-se principalmente em relação as suas características físicas como: área superficial, tamanho do poro e porosidade. Segundo Rohm e Haas (2008), estas resinas são não-iônicas, hidrofóbicas e apresentam ligações cruzadas, as quais derivam das propriedades adsorptivas originadas da presença de uma estrutura macroreticular (contendo uma fase de polímeros contínuos e uma fase de poros contínuos).

Entre os parâmetros que afetam a capacidade de uma resina se ligar a um determinado adsorbato está o tamanho do poro e a área superficial. Algumas literaturas (TEIXEIRA, COUTINHO e GOMES, 2001) correlacionam uma relação inversa entre área da superfície e tamanho do poro: quanto menor o tamanho do poro, maior será a área da superfície; e quanto maior a área superficial do adsorvente maior será sua capacidade de adsorção.

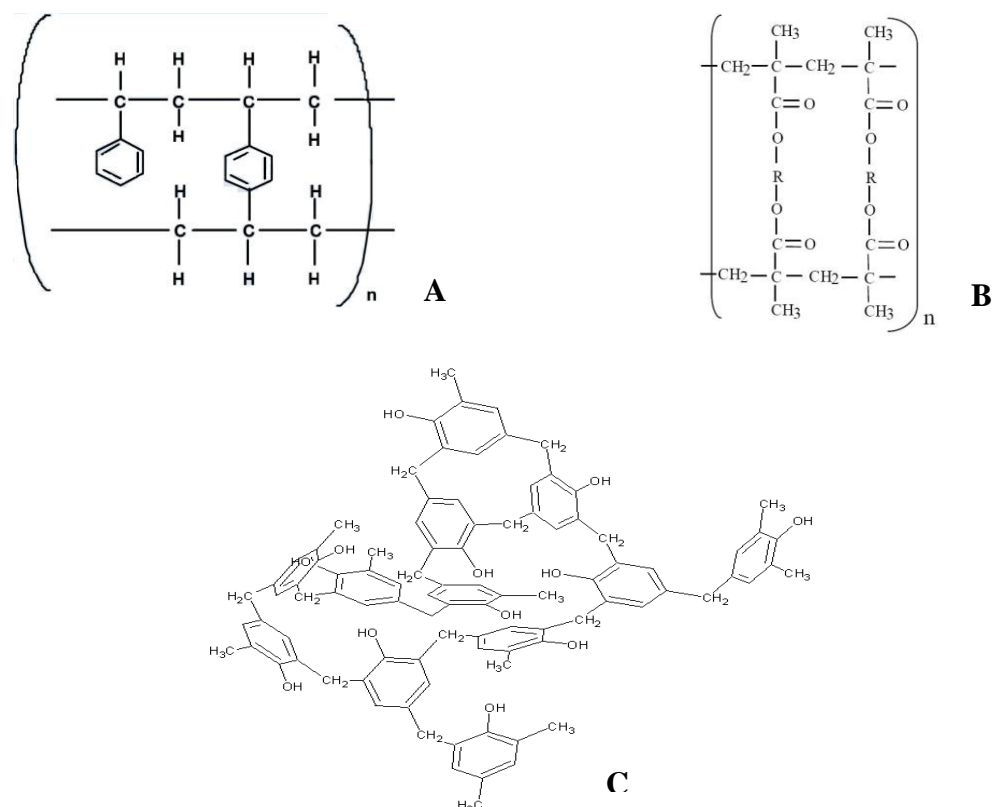


Figura 6. Estrutura química das resinas alvo deste estudo. (A) resinas de estirenodivinilbenzeno; (B) resinas acrílicas; (C) resinas fenólicas. **Fonte:** Rohm e Haas (2008).

A resina XAD-7 é considerada um polímero macro-reticular, acrílico, hidrofílico e de polaridade intermediária (Figura 6-B). As resinas de natureza alifática podem adsorver compostos não-polares de sistemas aquosos, assim como substâncias polares de solventes não-polares. Esta capacidade é proveniente da estrutura macro-reticular constituída de uma fase polimérica e uma fase porosa (ROHM e HAAS, 2008).

Por outro lado, a resina XAD-761 se distingue de todas as outras por ser um adsorvente fenólico de alta porosidade indicado para remover impurezas orgânicas de soluções por adsorção. Os grupos fenólicos hidroxil e metoxil presentes nestes adsorventes permitem propriedades hidrofílicas (Figura 6-C).

2.4.4 Isotermas de equilíbrio

Isotermas de adsorção são curvas obtidas a partir da quantidade de soluto adsorvido em função da concentração desse soluto na solução de equilíbrio. Várias são as formas de

isotermas conhecidas até hoje, os primeiros tipos foram sugeridos por *Brunauer* em 1938. Elas podem ser estudadas através de experimentos em batelada e utilizadas para prever a adsorção de forma dinâmica e o comportamento de adsorventes em processos cromatográficos por coluna de separação (DO, 1998).

Giles, Smith e Huitson (1974) dividiram as isotermas de adsorção em quatro principais classes (Figura 7), de acordo com sua inclinação inicial. As quatro classes foram nomeadas de isotermas do tipo S ("Spherical"), L ("Langmuir"), H ("High affinity") e C ("Constant partition") e cada classe, por sua vez, foi subdividida em vários subgrupos, baseados na forma das partes superiores da curva.

a) 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.

b) 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.

c) Isotermas do tipo H

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

d) Isotermas do tipo C

Corresponde a uma partição constante do soluto entre a solução e o adsorbente, 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 ser, em muitos casos, consideradas do mesmo tipo.

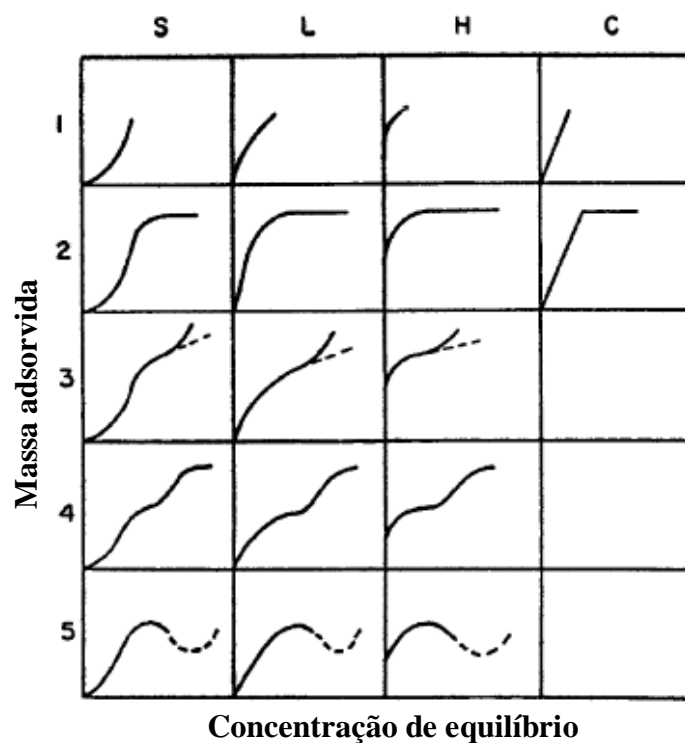


Figura 7. Classificação das isotermas de adsorção segundo Giles, D'Silva e Easton (1974) e Giles, Smith e Huitson (1974).

Na predição das isotermas de sorção utilizam-se comumente dois modelos: o de *Langmuir* e o de *Freundlich*, que são os mais utilizados pela sua grande aplicação, pelo limitado número de ajustes necessários, pela larga faixa de condições de operação (CHU et al., 2004) e para explicar a adsorção de compostos biológicos (RIBEIRO, SILVEIRA; FERREIRA-DIAS, 2002).

2.4.4.1 Modelo de Langmuir

A isoterma de sorção de Langmuir é a mais conhecida e a mais utilizada na sorção de um soluto de uma solução. Segundo Langmuir (1918) este modelo assume que:

- as moléculas adsorvidas formam uma monocamada na superfície do adsorvente;
- cada sítio para adsorção é equivalente em termos de energia de adsorção;
- não há interações entre moléculas adsorvidas adjacentes.

O modelo de Langmuir, para soluções diluídas, pode ser expresso pela seguinte equação matemática abaixo (LANGMUIR, 1918):

$$q_s = \frac{Q_M a_L C_s}{1 + a_L C_s} = \frac{K_L C_s}{1 + a_L C_s} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde: q_s (mg/g) é a massa de soluto adsorvido por massa de adsorvente, também conhecida como capacidade adsortiva; C_s (mg/L) é a concentração do soluto em solução (fase líquida), no equilíbrio; a_L (L/mg) e Q_M (mg/g) são as constantes de *Langmuir*, sendo que a_L é a razão entre a sorção e dessorção a taxas constantes (constante de equilíbrio) e Q_M é a capacidade máxima de sorção correspondente à cobertura completa da monocamada (LANGMUIR, 1918) e por último K_L (L/g) = $a_L Q_M$ é a adsorvidade do soluto.

2.4.4.2 Modelo de Freundlich

O modelo de Freundlich é uma equação empírica, para sistemas de adsorção não ideais em superfícies homogêneas. É amplamente utilizada na adsorção de compostos orgânicos de soluções aquosas, em carvão ativado (DO, 1998). Este modelo de isoterma descreve as condições de equilíbrio para adsorção na superfície, de forma heterogênea e não assume a capacidade de formação de uma única camada (FREUNDLICH, 1909). A equação de Freundlich pode ser expressa da seguinte forma:

$$q_s = K_F C_s^{b_F} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde: K_F (L/g) e b_F (adimensional) são constantes empíricas que dependem de alguns fatores intrínsecos: a solução, o soluto e o adsorvente. Através do K_F tem-se uma indicação da capacidade de adsorção do adsorvente, e o expoente b_F dá uma indicação da facilidade e da intensidade da adsorção. Normalmente valores de $b_F < 1$ representam uma adsorção favorável (BILGILI, 2006).

2.4.5 Adsorção e dessorção em leito fixo

Os estudos de adsorção em condições estáticas se complementam com estudos de adsorção em leito fixo (condições dinâmicas). Através do estudo em leito fixo podem ser determinados parâmetros como: tamanho do sistema adsorvedor, tempo de contato e velocidade de adsorção (DO, 1998).

Os princípios básicos do conceito de adsorção em leito fixo são representados na Figura 8, onde, a ordenada corresponde à concentração de saída (C_a , C_b , C_c e C_d) e a abscissa corresponde à duração de fluxo através da coluna, ou seja, o tempo (t).

O ponto de ruptura ou “break point”, t_{BP} , é definido como o instante em que o soluto é detectado na saída da coluna ($C \approx 5\% C_c$) e o tempo de exaustão, t_E , ocorre quando a concentração C corresponde a 95 % C_d (concentração inicial). Na situação ideal, onde não há resistências à transferência de massa, a resposta da coluna seria posicionada em $t = t_{St}$ (tempo estequiométrico) (PEQ, 2009).

O comportamento curvilíneo da curva de ruptura delinea uma região do leito na qual está ocorrendo a adsorção. Esta região é definida como a Zona de Transferência de Massa (ZTM), ou seja, é a extensão do leito na qual a concentração passa do ponto de ruptura para o ponto de exaustão. Quando a taxa de alimentação da carga é constante, a ZTM se move de maneira e velocidade constantes. Quanto menor for o comprimento da ZTM, mais próximo da idealidade o sistema se encontra (PEQ, 2009).

Quanto a etapa de dessorção ou regeneração do adsorvente polimérico, podem ser imaginadas como um processo básico no qual as forças de atração entre o soluto e o polímero são suficientemente enfraquecidas assim que o soluto é removido da resina (ROHM e HAAS, 2008). Visto que os flavonóides são ligados as resinas poliméricas não iônicas por forças físicas, a regeneração procede desenvolvendo condições onde as forças são superadas. Isso pode ser obtido também submetendo o sistema a condições onde as forças atrativas de regeneração média do soluto adsorvido são maiores do que as forças atrativas do adsorvente (FOX e KENNEDY, 1985; SILVA, 2006).

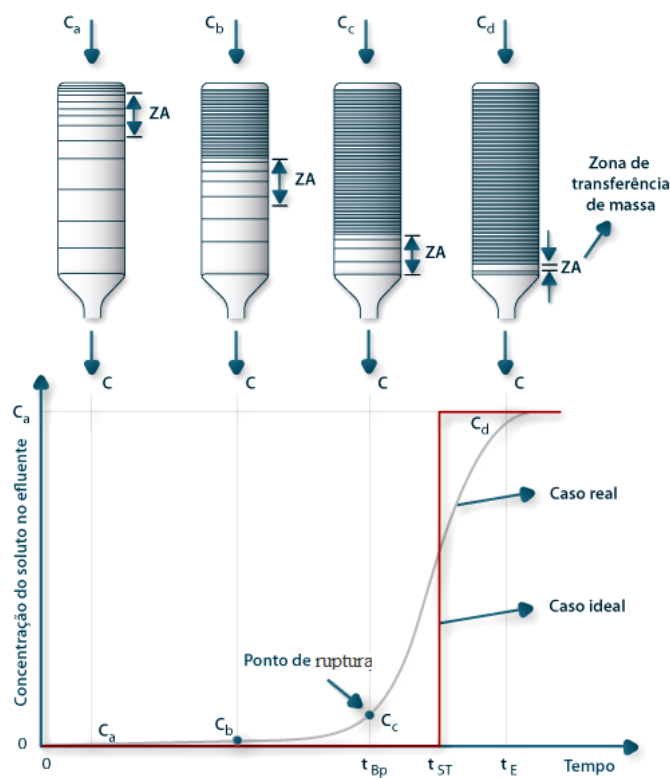


Figura 8. Curva típica de saturação (ou ruptura) de um adsorbato qualquer em sistema adsorvedor de leito fixo. **Fonte:** PEQ (2009).

Em alguns casos, onde o soluto é um produto de interesse, uma eluição cuidadosa é requerida para obtenção do produto purificado. Para regeneração, os solutos são considerados impurezas e o critério mais importante é o retorno do adsorvente polimérico para o estado original (ROHM e HAAS, 2008).

A interação entre o soluto e o polímero é relativamente fraca quando comparada com uma ligação iônica ou covalente. Em alguns casos, as forças de atração podem ser rompidas simplesmente ao aumentar a temperatura, e há exemplos onde vapor e mesmo a água quente (60°C) podem ser usados tanto para eluir como para regenerar o adsorvente polimérico (DO, 1998). Entretanto, muitos tipos de aplicações de adsorventes poliméricos envolvem a isolação de produtos que são sensíveis à temperatura. Isto é particularmente verdadeiro para alguns dos importantes antibióticos e enzimas da indústria farmacêutica e biotecnológica. Algumas das importantes aplicações dos adsorventes poliméricos envolvem a isolação de ácidos fracos ou compostos básicos (ROHM e HAAS, 2008).

Um considerável número de solventes orgânicos e misturas de dois ou mais destes, tem sido empregado na etapa de dessorção de compostos fenólicos. Metanol, água e etanol têm sido extensivamente utilizados com esse propósito.

2.4.6 Resinas macroporosas versus compostos fenólicos

Atualmente, o interesse por compostos de elevado valor econômico tem favorecido as pesquisas na área de purificação de compostos fenólicos a partir de matrizes alimentares. Estes biocompostos têm sido alvo constante em pesquisas de diversas áreas, inclusive na área de adsorção sobre resinas macroporosas.

Diversas literaturas científicas já abordavam o isolamento de compostos fenólicos a partir de resinas macroporosas de caráter não iônico há mais de duas décadas. Maggi, Stella e Valentini (1989) utilizando as resinas XAD-2 e XAD-8 estudaram o isolamento de uma mistura de fenólicos (cumarina, isovitexina, homoorientina e rutina) em função do pH do meio.

Mais tarde, Tomás-Barberán et al. (1992) afim de estudar o fracionamento de uma mistura composta por 5 compostos fenólicos (quercetina, rutina, naringina, naringenina e tangeretina) selecionou resinas de natureza hidrofóbica (SDVB), como as XAD-2, XAD-4 e XAD-16 e de natureza levemente hidrofílica (acrílicas), como a XAD-7 e XAD-8. Do ponto de vista do fracionamento, os resultados mais decepcionantes encontrados foi em relação à resina XAD-7, pois todos os compostos (agliconas e glicosilados) foram eluídos conjuntamente em todas as sete misturas de metanol/água (20, 25, 30, 40, 50, 75 e 100% metanol) utilizadas para dessorver os fenólicos. Os resultados mais interessantes deste estudo foram encontrados para a resina XAD-2 que permitiu uma eluição seletiva entre compostos glicosilados (25 a 30% de metanol) e agliconas hidroxiladas (75% de metanol).

Yamamoto et al. (2007) visaram em seu estudo determinar a separação de dois compostos fenólicos, catequina e epigalocatequina galato, utilizando resinas macroporosas de estirenodivinilbenzeno como fase estacionária e solução de etanol como fase móvel. Assim, foi determinado o fator de retenção (k) em função da concentração de etanol (I) para cada experimento realizado (Figura 9). Os resultados indicaram que em concentrações de etanol abaixo de 25% é possível verificar um indício de separação dos compostos de interesse;

entretanto, quando a concentração de etanol foi igual a 15%, consumou-se a separação total dos dois flavonóides.

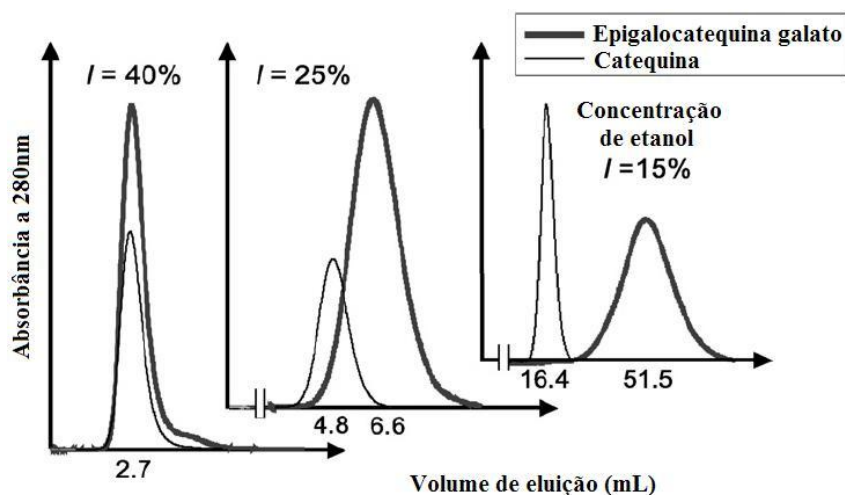


Figura 9. Curvas de eluição isocrática de compostos fenólicos com diferentes concentrações de etanol, em resina de estirenodivinilbenzeno, HP20SS. **Fonte:** Yamamoto et al. (2007).

Kammerer et al. (2010) estudou em escala piloto, a purificação e o fracionamento de compostos fenólicos presentes em extrato de maçã utilizando resina acrílica. Na primeira série deste estudo foram avaliados a concentração de sólidos solúveis no extrato de entrada (15, 25, 35 e 45%), fluxo (4, 6 e 8 BV/h), pH do meio (4,0; 3,0 e 2,5) e temperatura (20°, 40° e 60°C), na etapa de adsorção. Na segunda série de experimentos, foi avaliada a eluição dos compostos fenólicos utilizando misturas de etanol/água (96, 48 e 24% etanol (v/v)), metanol/água (100, 50 e 25% metanol (v/v)), apenas água (eluição a 20 e 80°C) e soluções de NaOH (0,5; 1,0 e 2,0 % (m/v)) a um fluxo de 2BV/h. Os resultados mostraram que a etapa de adsorção dos fenólicos presentes no extrato de maçã, foi diretamente afetada pelos parâmetros como fluxo, pH e temperatura. Os dados apontaram ainda que o tipo de eluente e a concentração do solvente (NaOH) afetam não somente o rendimento total de fenólicos no eluato, mas também, a concentração de fenólicos nas frações obtidas. Apesar de os resultados indicarem um bom avanço na separação seletiva dos compostos fenólicos da maçã, não foi constatado o fracionamento completo em nenhuma das condições estudadas pelos autores.

Estudos focados na purificação de compostos fenólicos a partir de extratos brutos de plantas também já foram realizados. Fu et al. (2006) estudaram a separação de luteolina de extratos de folhas de gandu (*Cajanus cajan* L.) utilizando oito resinas macroporosas não iônicas (AB-8, NKA-9, NKA-2, D3520, D101, H1020, H103 e AL-2) de diferentes naturezas

físicas e químicas. De acordo com os resultados a resina AL-2 apresentou um bom potencial para separar luteolina de extratos de gandu, concentrando este compostos 19,8 vezes (passando de 0,129% para 2,55%).

Um estudo similar foi realizado por Fu et al. (2007), no qual utilizou também oito resinas macroporosas não iônicas (ADS-5, ADS-7, ADS-8, ADS-11, ADS-17, ADS-21, ADS-31 e ADS-F8) para separar vitexina e isovitexina presentes em extrato de gandu. Obtiveram uma concentração de 4,07 vezes para vitexina e 11,52 vezes para isovitexina.

Liu et al. (2010) estudando o enriquecimento e a separação de apigenina e genisteína a partir de extrato da mesma planta, verificou que após o tratamento com a resina ADS-5 foi possível uma concentração de 9,36 e 11,09 vezes para a genisteína e apigenina, respectivamente.

Ribeiro, Silveira e Ferreira-Dias (2002) avaliaram a adsorção seletiva de limonina (terpenóide) e naringina (flavanona) presentes em suco de laranja. Neste trabalho foram testadas as resinas XAD-4, XAD-7 e XAD-16 e os dados obtidos indicaram que houve uma alta eficiência na adsorção destes compostos fenólicos, causadores da adstringência no suco, pela resina XAD-7.

Silva, Pompeu e Rogez (2007) estudaram a adsorção como meio de purificação de extratos de folhas de *Inga edulis*. Neste estudo foram testadas quatro resinas, uma de natureza acrílica (XAD-7) e três de SDVB (XAD 16, EXA 118 e EXA 90). Foram variados ainda proporção de água na solução hidro-alcoolica e pH do meio (2,0; 3,5 e 5,0). Os resultados obtidos indicaram que o processo de adsorção é fortemente influenciado pela proporção de água no extrato bruto de *I. edulis*, bem como o tipo de adsorvente. Na condição otimizada, a resina XAD-7 foi a que obteve os melhores resultados (Q_M : 239 mg de equivalente fenólicos por g_{resina}).

Pompeu et al. (2010) avaliaram a adsorção de quatro diferentes classes de compostos fenólicos (ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos, flavanóis e flavonóis) sobre resinas de SDVB (EXA-118, EXA-90 e XAD-16) e acrílica (XAD-7). Os resultados evidenciaram de acordo com as curva de Langmuir que a resina EXA 118 foi a que apresentou maior valor de adsorvidade (K_L) para os compostos fenólicos em estudo e que o baixo valor de energia (<19.000KJ/mol) sugere uma adsorção do tipo física. A Figura 10 evidencia uma cooperação

complexa entre múltiplas forças (pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e interações π - π) envolvidas na adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas.

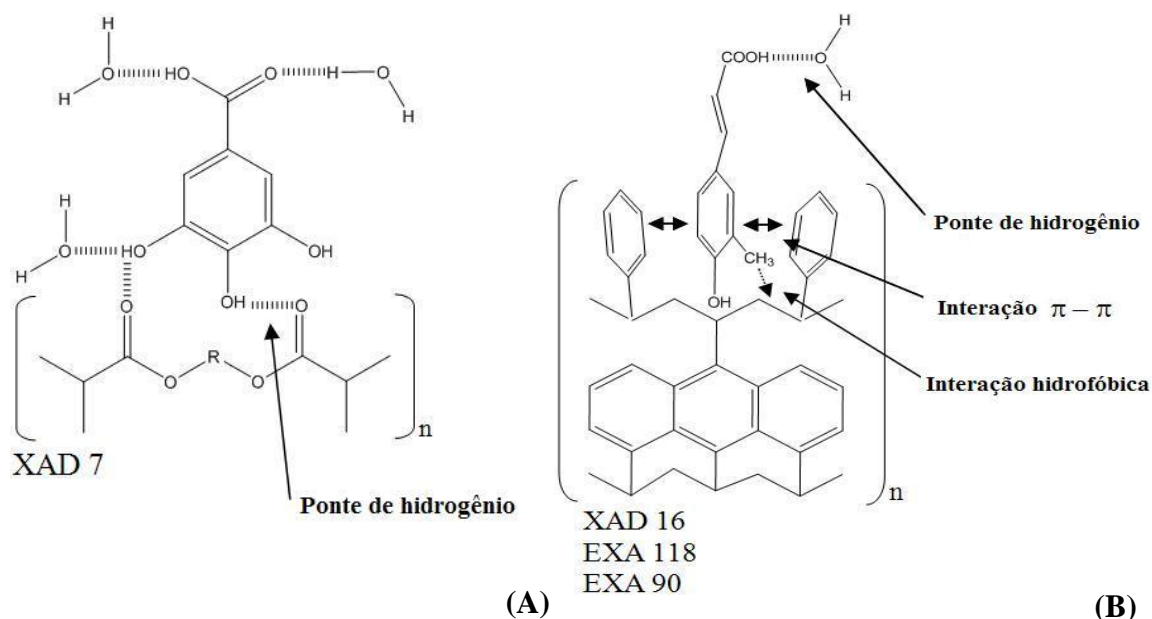


Figura 10. Esquema do mecanismo de adsorção proposto por Pompeu et al. (2010) para o (A) ácido gálico sobre resina acrílica (XAD-7) e (B) ácido ferrúlico sobre resinas de SDVB (XAD-16, EXA 118 e EXA 90).

Estudos recentes têm mostrado que o interesse na obtenção de maior seletividade na adsorção de alguns compostos orgânicos específicos leva a modificações químicas na superfície de resinas através da introdução de grupos funcionais. Zhao et al. (2008) na tentativa de obter uma separação seletiva entre os compostos fenólicos e a cafeína presentes no chá verde, confeccionaram um adsorvente macroporoso com moderada hidrofobicidade no qual foram inseridos grupos funcionais capazes de formar pontes de hidrogênio com os compostos fenólicos presentes na bebida. Os dados apontaram para uma adsorção seletiva dos compostos fenólicos do chá indicando que estas modificações são uma potencial alternativa na obtenção de extratos cada vez mais enriquecidos.

O estudo realizado por Ren et al. (2008) também produziu adsorventes poliméricos de alta seletividade através da introdução de grupos funcionais (éster, amida e amina), almejando separar flavonóides glicosilados de compostos terpênicos presentes em extratos de *Ginkgo biloba*. A seletividade destes polímeros foi comparada a de resinas comerciais (ADS-17, ADS-21, D-380, XAD-4 e AB-8) e os resultados mostraram que modificações químicas na

superfície das resinas são válidas para a obtenção de uma separação mais eficiente dos compostos de interesse, visto que a diminuição de divinilbenzeno visualizada na Figura 11 causa uma expressiva queda nas ligações cruzadas fazendo com que as interações hidrofóbicas sejam superadas pelas pontes de hidrogênio, causando a separação dos compostos em questão.

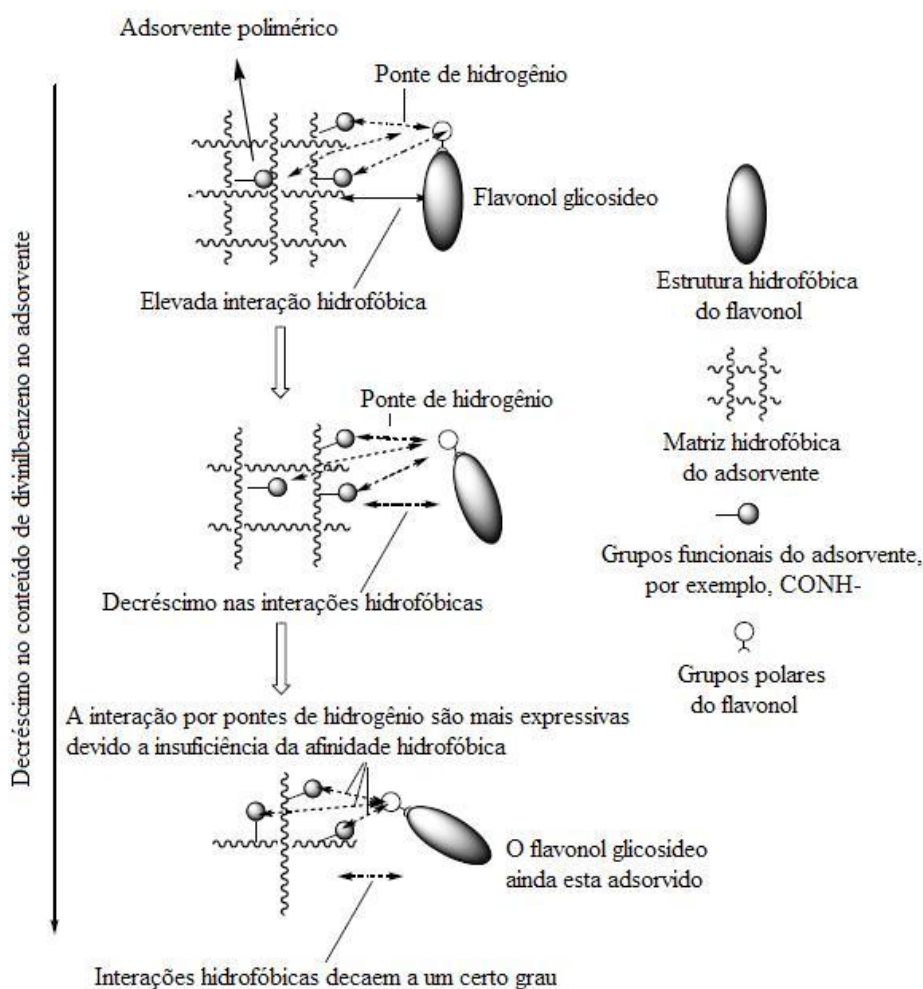


Figura 11. Esquema de mecanismo de separação de um flavonol glicosilado e composto terpênico. **Fonte:** Ren et al. (2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL ADSORVENTE

Nove tipos de resinas sintéticas macroporosas foram utilizados como adsorventes neste estudo: EXA-45, EXA-90, EXA 118 (Residion, Mitsubishi Chem. Co., Milão, Itália); Amberlite XAD-4, XAD-1180, XAD-7, XAD-761, XAD-2 e XAD-16 (Rohm e Haas, São Paulo, Brasil). Com exceção as resinas XAD-7 e XAD 761 que são de natureza acrílica e fenólica, respectivamente, todas as demais resinas são de SDVB (ver Figura 6, pag. 35). As propriedades físicas e químicas destes adsorventes são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2. Estrutura química e propriedades físicas dos adsorventes.

¹ Nome comercial	*Estrutura química	Área específica (m ² /g)	Raio do poro (Å)	Porosidade (mL/g)
XAD-2	SDVB	330	45	0,65
XAD-16	SDVB	800	50	1,82
XAD-4	SDVB	725	20	0,98
XAD-1180	SDVB	600	150	1,68
EXA-45	SDVB	1000	38	1,20
EXA-90	SDVB	630	105	1,30
EXA-118	SDVB	1200	90	2,30
XAD-7	Acrílica	450	45	1,14
XAD-761	Fenólica	150-250	300	0,95-1,18

*SDVB - estirenodivinilbenzeno.

As resinas passaram por um tratamento prévio, onde eram inicialmente lavadas em abundância com água ultrapura, para remoção de sais e agentes porogênicos presentes nos poros destes adsorventes. Em seguida passavam por um processo de acondicionamento através de secagem a 60°C por 24h, em estufa com circulação de ar forçado (Modelo Q-314M223, Quimis, São Paulo, Brasil) e resfriadas em dessecador. Então, quantidades conhecidas de resinas eram embebidas em etanol por no mínimo 12h para a abertura dos poros. Antes de realizar os ensaios, as resinas eram lavadas com água ultrapura repetidas vezes até retirada completa do etanol residual.

¹ EXA e XAD são marcas comerciais das respectivas companhias que as produzem, Residion e Rohm e Haas.

3.2 PADRÕES FENÓLICOS E REAGENTES

Os padrões de compostos fenólicos utilizados neste estudo foram: ácido gálico, ácido ferrúlico, quercetina, rutina (Sigma Aldrich, Dinamarca), ácido siríngico, catequina (Fluka, Suíça), cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo (Extrasynthese, França). Todos os compostos apresentavam grau de pureza $\geq 95\%$ e foram estocados a $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma descrição mais detalhada das características químicas destes compostos é informada no Quadro 5.

Os reagentes utilizados para análises cromatográficas (ácido fórmico e acetonitrila) além de etanol utilizado nos ensaios de adsorção apresentavam grau HPLC e foram adquiridos da Tédia (Rio de Janeiro, Brasil). Os outros reagentes utilizados (ácido cítrico e citrato) apresentavam grau analítico e foram adquiridos junto à empresa Synth (São Paulo, Brasil). A água deionizada foi purificada através do sistema Elga Maxima CS (Elga, High Wycomb, Inglaterra).

3.3 EXTRATO DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea*)

O extrato de *E.oleracea* (contendo 20.000 mgEác.gálico/L de polifenóis totais) utilizado neste estudo foi doado gentilmente pela empresa Amazon Dreams Ind. e Com. S.A.

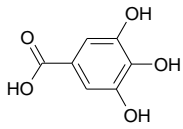
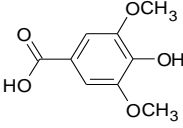
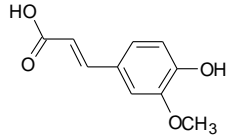
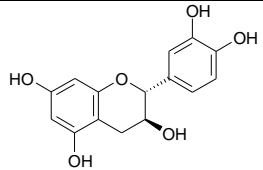
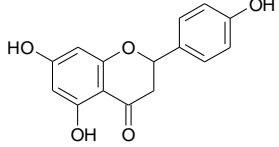
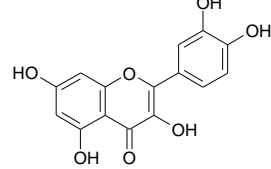
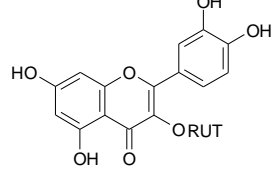
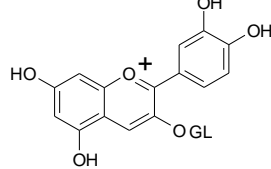
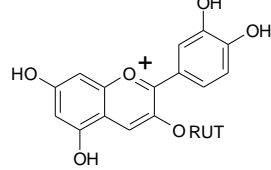
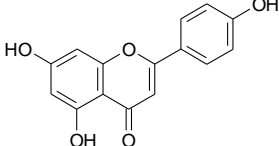
3.4 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÁGUA ADSORVIDA PELAS RESINAS

Para o ensaio foram pesadas cerca de 0,5 g de cada resina, as quais foram hidratadas com água ultrapura e em seguida, a água não adsorvida, foi retirada por meio de filtração e as resinas hidratadas foram pesadas. Os adsorventes foram posteriormente secos à temperatura de 105°C até peso constante e o percentual de água embebida pelas resinas foi acompanhado segundo a equação 3.

$$\alpha(\%) = \frac{W_{hid} - W_{Sec}}{W_{Sec}} \times 100 \quad (\text{Eq.3})$$

Onde: α (%) = é o conteúdo de água embebida pelo adsorvente; W_{hid} (g)= é o peso do adsorvente hidratado (g); W_{Sec} (g)= é o peso do adsorvente seco.

Quadro 5. Característica química dos compostos fenólicos estudados.

Classe	CF ^a	FM ^b	MM ^c (g/Mol)	FE ^d
Ácidos benzóicos	Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	170,10	
	Ácido siríngico	C ₉ H ₆ O ₅	198,18	
Ácidos cinâmicos	Ácido ferrúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,20	
Flavanol	(+)-Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,27	
Flavanona	Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,25	
Flavonol	Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	338,27	
	Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610,52	
Antocianinas	Cianidina-3-glicosídeo	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	484,8	
	Cianidina-3-rutinosídeo	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	631	
Flavonas	Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,24	

^aCF= Compostos fenólicos; ^bFM= Fórmula molecular; ^cMM= Massa molecular; ^dFE= Fórmula estrutural.

3.5 PROCEDIMENTO PARA ESTUDO DE SELETIVIDADE ADSORTIVA POR COMPOSTOS FENÓLICOS SOBRE RESINAS MACROPOROSAS

Com o propósito de avaliar a afinidade de alguns compostos fenólicos, por uma determinada resina, foi realizado um estudo em batelada utilizando uma mistura equimolar formada por 10 compostos fenólicos e empregando um total de sete resinas comerciais de diferentes propriedades físicas e químicas (apresentadas na Tabela 2, pag. 46).

Para o estudo foi preparada uma solução mãe, equimolar, contendo todos os compostos fenólicos padrão, solubilizados em etanol e cada um a uma concentração de 2000 μM . Essa solução foi diluída 12X em tampão ácido cítrico/citrato (pH=3,5; 2mM) para obtenção da solução de trabalho, a qual apresentou 8,3% de etanol.

O ensaio foi realizado em batelada utilizando uma massa de 10 mg de resina em garrafas âmbar de plástico de 10 mL. Após pré - condicionamento das resinas, um volume de 2 mL da solução de trabalho foi adicionado nas garrafas, as quais tiveram seu volume superior imediatamente saturado com nitrogênio gasoso (N_2). O ensaio teve a duração de 1h e foi conduzido sob agitação de 50 rpm (Mesa agitadora Mod. Q225 M2, Quimis, São Paulo, Brasil) a temperatura de 25°C, em triplicata. O percentual de compostos fenólicos adsorvidos sobre a resina foi calculado pela diferença de concentração na solução inicial e a concentração remanescente de compostos fenólicos após a adsorção.

3.6 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE MONO E MULTICOMPONENTES

Os estudos de isotermas de adsorção foram realizados em batelada utilizando os padrões de ácido ferrúlico (AF), cianidina-3-rutinosídeo (C3R), rutina (RUT) e naringenina (NAR). Para as isotermas de monocomponentes os compostos foram solubilizados individualmente em etanol, obtendo-se soluções mãe de 5000 μM . Essas soluções foram diluídas em solução tampão de citrato de sódio/ácido cítrico a pH 3,50 (2mM) em função das diferentes concentrações utilizadas para a construção das isotermas, as quais variaram de 50 a 900 μM .

Para avaliação da competição entre os compostos fenólicos pelos sítios ativos das resinas, isotermas binárias (AF X RUT; RUT X NAR; RUT X C3R; AF X C3R; AF X NAR) e uma ternária (NAR X AF X RUT) foram construídas de forma similar às individuais, sendo as misturas equimolares dos compostos também solubilizadas em etanol

e diluídas posteriormente em tampão (pH 3,5) para obtenção das concentrações de trabalho.

Os dados de equilíbrio foram obtidos adicionando 2 mL das soluções em garrafas âmbar contendo os adsorventes XAD-2, XAD-1180 e EXA-118, numa razão de 5g/L (em base seca). As garrafas foram saturadas com nitrogênio gasoso e submetidas à agitação de 200 rpm à temperatura constante de 25°C. O tempo de contato adsorvente-solução de adsorbato foi de 1 hora e os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Langmuir (item 2.4.4).

Para a quantificação da capacidade adsorptiva foi utilizada a equação 4.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) * V_i}{W} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde: q_e ($\mu\text{M/g}$) é capacidade de adsorção no equilíbrio; C_0 e C_e (μM) são a concentração inicial e no equilíbrio do soluto na solução; V (mL) é o volume de solução utilizado; e W (g) é a massa de resina seca.

3.7 PROCEDIMENTOS PARA ADSORÇÃO DINÂMICA

A adsorção dinâmica foi conduzida em colunas cromatográficas de vidro (250 mm X 10 mm), as quais foram empacotadas com 3,5; 3,4 e 6,1 g das resinas EXA-118, XAD-1180 e XAD-2, respectivamente. A taxa de fluxo foi de 18BV/h e a altura do leito foi mantida constante para todas as resinas (17 cm). O volume do leito (ou *bed volume* (BV), do inglês) foi de 10 mL para todas as resinas, com exceção a XAD-2 cujo valor foi de 7,7 mL. O esquema experimental desta etapa é ilustrado na Figura 12.

As colunas foram carregadas com 990 mL (EXA-118), 360 mL (XAD-2) e 480 mL (XAD-1180) de extrato de açaí à 20.000 mg de Eac.gálico/L (polifenóis totais) até suas saturações. A concentração inicial de cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, homoorientina e orientina no extrato foram de 531 μM ; 777 μM ; 92 μM e 75 μM , respectivamente. Para acompanhar a concentração dos compostos fenólicos, por CLAE, foram recolhidas alíquotas de 1 mL a cada BV passado nas colunas.

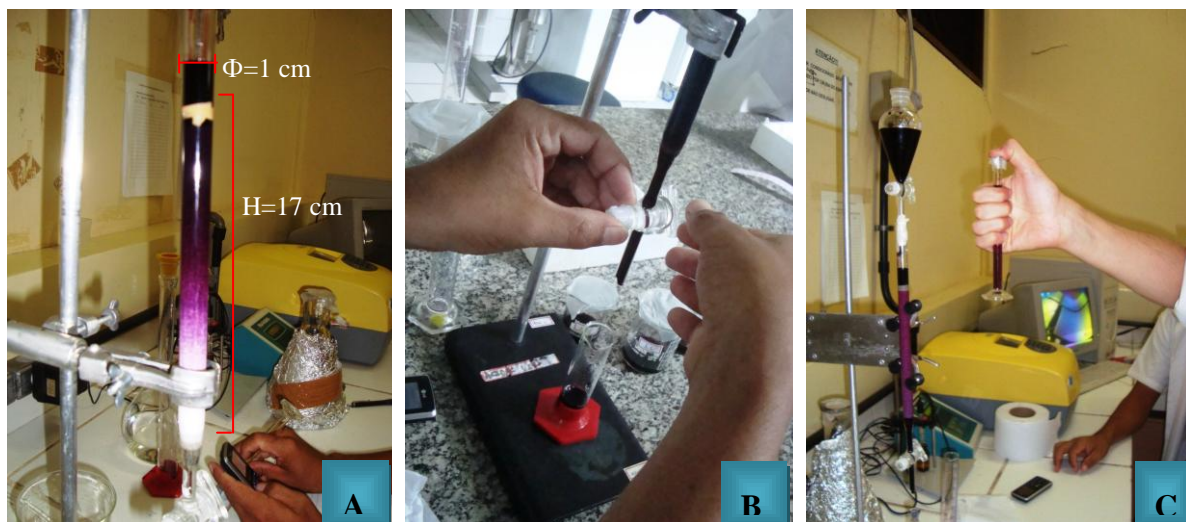


Figura 12. Aparato experimental para as etapas do processo de adsorção: (A) carregamento da coluna; (B) coleta dos eluatos; (C) homogeneização dos eluatos para posterior injeção em CLAE.

3.8 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

A separação dos compostos fenólicos, através de resinas macroporosas, foi acompanhada utilizando um sistema CLAE Shimadzu série LC-10Avp (Tokyo, Japan), equipado com degaseificador (DGU-14 A), bomba quaternária, auto-injetor (SIL-10AF), forno para coluna (CTO-10 AS), coluna fase reversa C18 (100 mm X 4,6 mm, Kinetex Core Shell) empacotada com partículas de 2,6 μm de diâmetro e software Class-VP. A fase móvel foi composta por água ultrapura com 1% ácido fórmico (Solução A) e acetonitrila a 1% de ácido fórmico (Solução B), adaptado de Souza (2007). O gradiente estabelecido foi: 5% -10% de B (5 min); 10% -15% de B (10 min); 15% -50% de B (13 min); 50% -70% de B (17 min); 70%-5% de B (20 min).

A fase móvel foi filtrada através de membrana de nylon com 0,45 μm de porosidade. O fluxo utilizado foi de 1,5 mL/min e o volume de injeção foi de 20 μL . A temperatura da coluna foi mantida a 30°C. A identificação e quantificação de cada composto foi realizada utilizando um detector de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A Shimadzu, Tokyo, Japan), sendo monitorado todos os comprimentos de onda na faixa de 200 a 600 nm. Os picos foram identificados baseando-se nos tempos de retenção, coeluição bem como por comparação com os espectros de absorção padrões. O tempo total de análise foi de 20 min.

Para a quantificação dos compostos fenólicos nas diferentes etapas deste trabalho, curvas de calibração de todos os compostos foram construídas, usando regressão linear (área do pico vs concentração). O $\lambda_{M\acute{a}x}$ de cada classe de compostos fenólicos foi levado em consideração. Estes variaram de 280 nm (ácidos benzóicos) a 515 nm (antocianinas). Todos os pontos da curva (n=6) foram realizados em triplicata e a concentração dos compostos foi expressa em μM (Tabela 3 e Tabela 4). Os cromatogramas obtidos nos comprimentos de onda máximos de cada composto fenólico esta representada nas Figura 13 e 14.

Tabela 3. Dados utilizados para quantificação dos compostos fenólicos por CLAE

*Compostos	**T _r (min)	$\lambda_{M\acute{a}x}$ (nm)	Faixa concentração (μM)	Equação da reta	R ²
AG	1,12	280	4,7-73	y= 7815x-4208	0,999
CAT	4,56	280	5,0-120	y=1812x+1537	0,999
AS	6,57	280	4,7-69	y=7285,4x-1291	0,999
C3G	7,82	515	5,6-70	y= 20259x-7418	0,999
C3R	8,57	515	4,6-71	y=16921x-7629	0,999
AF	10,38	320	4,5-70	y= 20688x-4454	0,999
RUT	13,11	370	4,6-71	y=9194x-1676,7	0,999
QUE	15,22	370	5,6-70	y= 14125x-53580	0,999
NAR	15,65	280	4,4-68	y=14109x+5199,4	0,999
API	15,75	320	4,7-73	y= 16464x-47540	0,999

*AG= ácido gálico; CAT=catequina; AS=ácido síringico; C3G= cianidina-3-glucosídeo; C3R= cianidina-3-rutinosídeo; AF=ácido ferrúlico; RUT=rutina; QUE= quercetina; NAR= naringenina; API=apigenina.

** Tr= tempo em minutos.

Tabela 4. Dados utilizados para quantificação dos compostos fenólicos majoritários do açaí.

*Compostos	T _r (min)	$\lambda_{M\acute{a}x}$ (nm)	Faixa concentração (μM)	Equação da reta	R ²
C3G	7,82	515	5,6-70	y= 20259x-7417	0,999
C3R	8,57	515	4,6-71	y= 16921x-7629	0,999
OR	9,72	370	23-154	y= 7830x-41060	0,996
HOMO	10,72	370	23-154	y= 5132x-39067	0,998

*OR= orientina; HOMO= Homoorientina

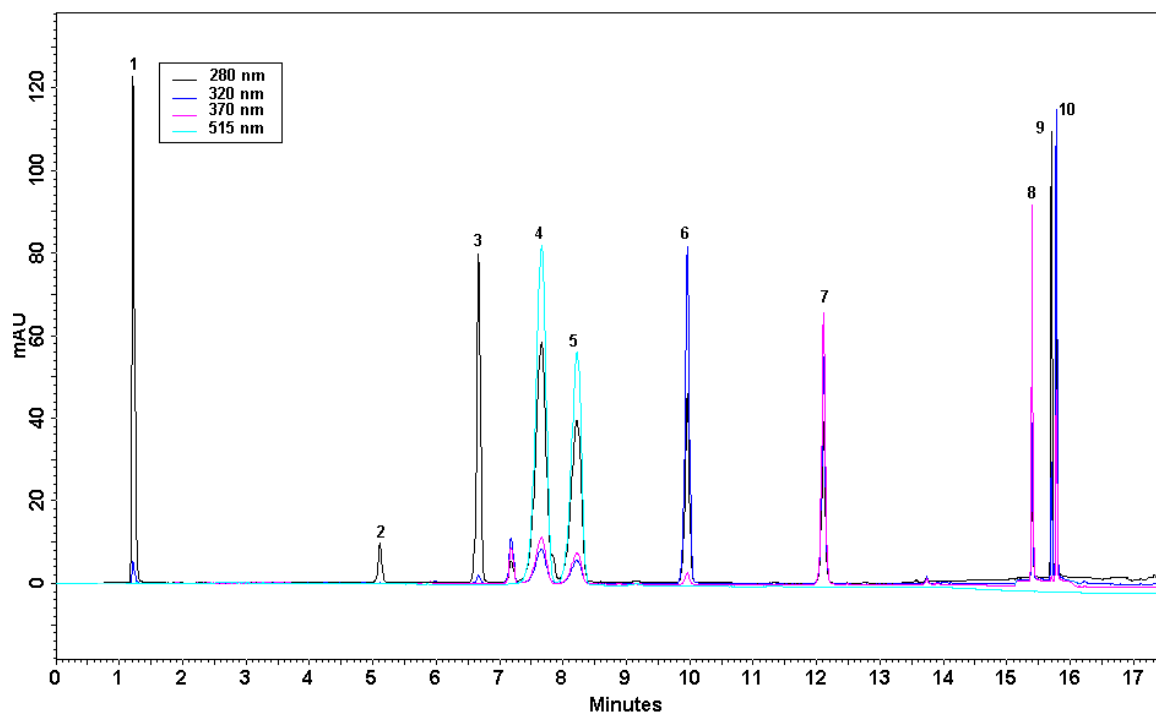


Figura 13. Cromatograma típico dos dez compostos fenólicos estudados neste trabalho. (1) ácido gálico; (2) catequina; (3) ácido síringico; (4) cianidina-3-glicosídeo; (5) cianidina-3-rutinosídeo; (6) ácido ferrúlico; (7) rutina; (8) quercetina; (9) naringenina; (10) apigenina.

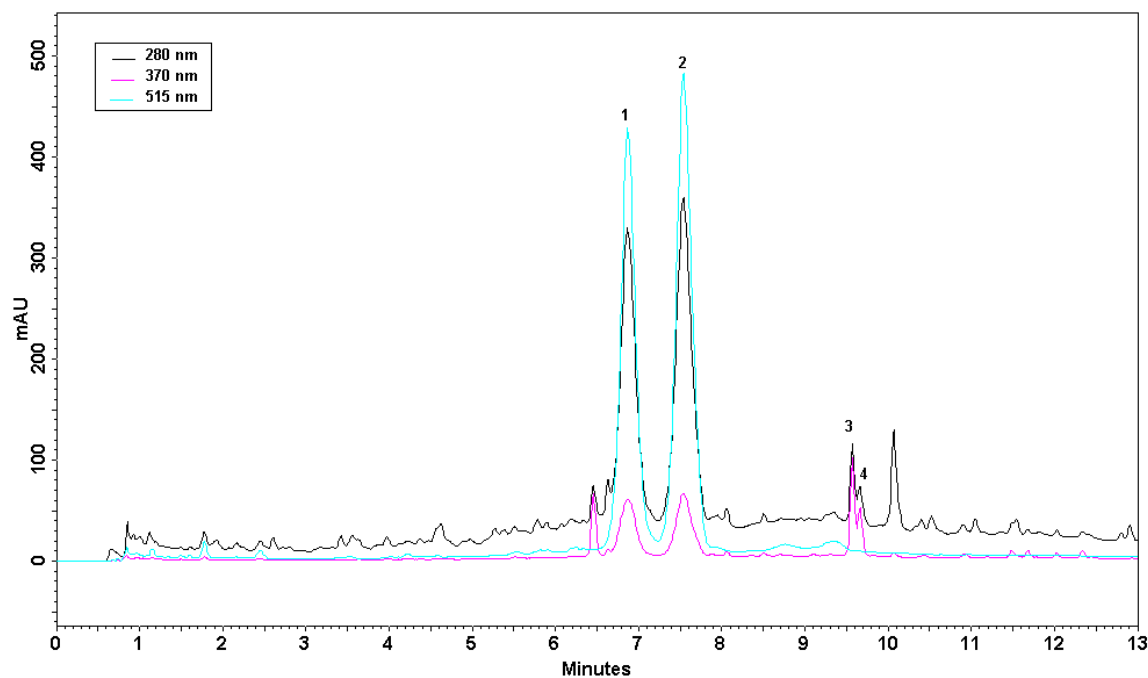


Figura 14. Perfil cromatográfico do extrato de açai (*E. oleracea*) utilizado neste estudo (1) cianidina-3-glicosídeo; (2) cianidina-3-rutinosídeo; (3) homoorientina e (4) orientina.

3.9 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todas as etapas que envolvem regressões não-lineares, análise de regressão múltipla, análise de variância (ANOVA) e testes de significância foram realizadas utilizando o software STATISTICA versão Kernel 7.1 (StatSoft Inc., 2006, Tulsa, OK) para Windows XP. Variáveis com nível de confiança superior a 95% ($p < 0,05$) foram consideradas estatisticamente significativas. O método Rosenbrock and quasi-Newton foi usado no procedimento de regressão não-linear. Este método avalia, a cada passo, a função a investigar, em diferentes pontos para estimar as derivadas de primeira e segunda ordem. Ele usa essas informações para traçar um caminho com o mínimo de discrepância entre os dados observados e aqueles previstos pela função ajustada.

A Análise de Agrupamentos foi feita utilizando o programa BIOESTAT 5.0. Os dados de percentuais de capacidade adsorptiva de cada composto fenólico foram utilizados para agrupar os objetos (resinas). Assim, cada um dos compostos corresponde a uma variável utilizada para se fazer o dendograma de agrupamento. O método de agregação dos grupos utilizado foi o de Agregação Completa e as distâncias entre os objetos (resinas) foram calculadas através de Distâncias Euclidianas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONTEÚDO DE ÁGUA ADSORVIDA PELAS RESINAS

O grau de retenção de água por resinas sintéticas macroporosas vem sendo considerado por alguns autores um bom indicativo do nível de hidrofobicidade de adsorventes, o qual pode estar correlacionado com o grau de polaridade das resinas (PI et al., 2008; REN et al., 2008; GENG et al., 2009).

Logo, esse parâmetro será utilizado neste estudo com o objetivo de auxiliar no esclarecimento dos possíveis fatores relacionados à adsorção seletiva de compostos fenólicos. Na Tabela 5, estão apresentados em ordem crescente o conteúdo de água retido pelas resinas alvo deste estudo.

Tabela 5. Percentual de água retido pelas resinas.

Resinas	Água Adsorvida (%)*
XAD-2	61,0±0,1 ^a
EXA-90	63,8±1,7 ^b
EXA-45	68,2±0,1 ^c
XAD-4	71,5 ± 0,8 ^d
XAD-761	73,0±0,4 ^{d,e}
XAD-16	75,1±1,2 ^e
XAD-1180	77,5±0,5 ^f
EXA-118	77,8±0,2 ^f
XAD-7	78,6±0,2 ^f

*Médias ± desvio padrão, n=3. Médias com letras indicam que não há diferença estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

De acordo com os resultados apresentados, a resina que se apresentou mais polar foi a XAD 7, mas que segundo o teste de Tukey é igual estatisticamente ($p < 0,05$) às resinas EXA 118 e XAD 1180. Os resultados mostraram ainda que as resinas XAD 761, XAD 4 e XAD 16 são as de polaridade intermediária enquanto a XAD 2 é a resina mais apolar. O aumento do grau de polaridade das resinas permitiu hierarquizá-las da seguinte maneira: XAD 2 < EXA 90 < EXA 45 < XAD 4 \approx XAD 761 \approx XAD 16 < XAD 1180 \approx EXA 118 \approx XAD 7.

Estes resultados demonstram claramente que a hidrofobicidade das resinas não é um parâmetro dependente apenas da natureza química destes adsorventes. Isso pode ser

bem evidenciado através do comportamento apresentado pela resina XAD 7, pois ela sendo de natureza acrílica, esperava-se reter mais água que as resinas de SDVB.

Por outro lado, quando analisamos o parâmetro porosidade a resina XAD 7 é a que apresenta o menor valor em comparação à XAD 1180 e EXA 118, o que pode ser um indicativo de que além da natureza química das resinas as características físicas também atuam na polaridade destes adsorventes.

O gráfico abaixo (Figura 15) mostra que a relação entre a capacidade de retenção de água e a porosidade das resinas de SDVB é estatisticamente significativa ($r = 0.786$; $p < 0,05$).

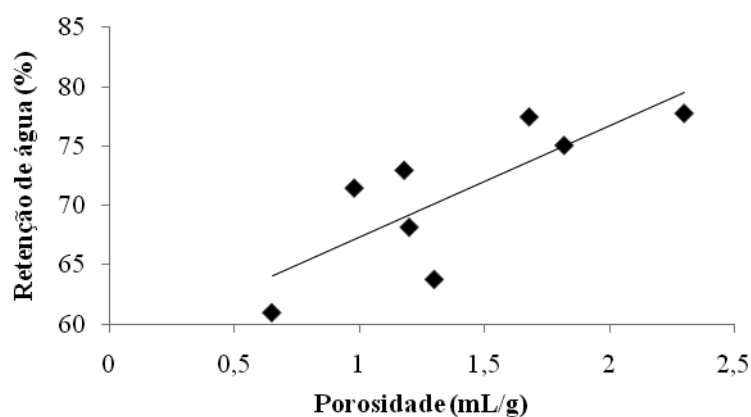


Figura 15. Relação entre a capacidade de retenção de água e a porosidade das resinas.

Alguns autores estudaram a influência da natureza química na capacidade de retenção de água de resinas macroporosas. Isso pode ser bem evidenciado no trabalho de Pi et al. (2008), onde resinas acrílicas foram produzidas com crescentes quantidades de metil acrilato, variando de 20 a 70%. Os resultados mostram que quando essas resinas tinham 70% de metil acrilato, o teor de água adsorvido era de 80%, enquanto que este percentual reduzia para 60% quando o teor de metil acrilato era de apenas 20%.

Essas pequenas diferenças entre adsorventes comerciais quanto à capacidade de retenção de água é, entre muitos outros, um dos fatores responsáveis pelo interesse crescente em se buscar resinas com seletividades graduais capazes de exibirem interações específicas com os compostos de interesse. Trabalhos como os de Gen et al. (2009) e Ren et al. (2008) demonstram que a inclusão de grupos funcionais na superfícies de resinas macroporosas assim como a diminuição de agentes de ligação cruzada, como SDVB e etileno glicol dimetacrilato, influenciam diretamente as interações entre estes materiais adsorventes e os compostos fenólicos estudados.

4.2 ESTUDO DA SELETIVIDADE DAS RESINAS POR COMPOSTOS FENÓLICOS

4.2.1 Análise dos percentuais de adsorção e correlação com as propriedades físicas

A seletividade de sete resinas macroporosas (XAD 2, EXA 45, XAD 761, XAD 16, XAD 1180, EXA 118 e XAD 7) na adsorção de uma mistura equimolar de 10 compostos fenólicos foi avaliada através de estudo em batelada. O experimento ocorreu em meio ácido (pH 3,5 a 25 °C) afim de que todos os compostos fenólicos se encontrassem na sua forma molecular. O processo está descrito conforme seção 3.5 pag. 49 e os resultados de capacidade de adsorção apresentados na Figura 16.

Em geral, a resina EXA 118 foi a que apresentou os maiores valores de capacidade adsorptiva para os compostos fenólicos em mistura, comportamento inverso ao apresentado pela resina XAD 2. Esses resultados indicam a influência de parâmetros como porosidade e área específica sobre a capacidade adsorptiva das resinas já que ambos apresentados por esta resina (0,65 mL/g e 330 m²/g) são de cerca de 25% dos encontrados para a EXA 118 (2,30 mL/g e 1200 m²/g) (Tabela 2, pag. 46).

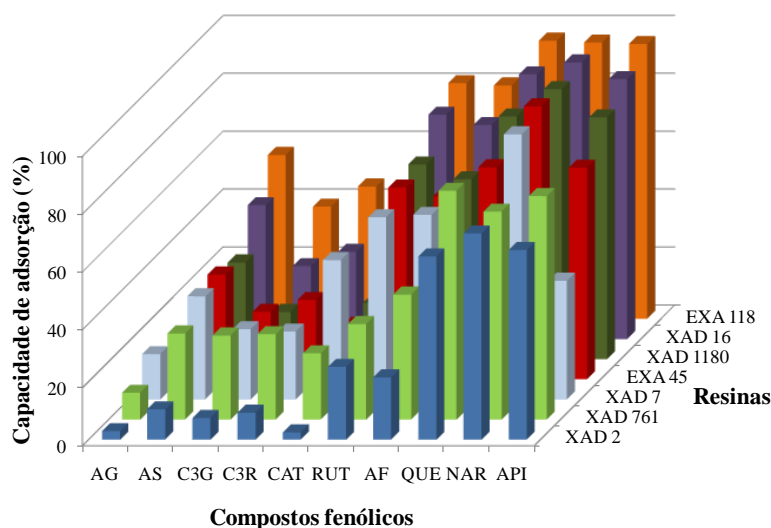


Figura 16. Capacidade de adsorção (%) de uma mistura equimolar de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas a pH 3,5, temperatura de 25°C e agitação de 50 rpm com duração de 1h. Ácido gálico (AG); ácido siríngico (AS); cianidina-3-glucosídeo (C3G); cianidina-3-rutinosídeo (C3R); catequina (CAT); rutina (RUT); ácido ferrúlico (AF); quercetina (QUE); naringenina (NAR); apigenina (API).

Para melhor análise dos resultados, um estudo de correlação entre as propriedades físicas das resinas de SDVB e a capacidade de adsorção das mesmas foi realizado (Tabela 6). Através dele foi possível evidenciar a significativa influência das propriedades físicas sobre a capacidade adsortiva e ratificar os efeitos da porosidade e área superficial, as quais obtiveram as maiores correlações globais ($r = 0,82$ e $0,75$, respectivamente).

Esses dados reforçam a influência destes parâmetros físicos na capacidade de adsorção de compostos fenólicos, além de confirmar a relação direta existente entre capacidade de adsorção e área específica já pronunciada por muitos autores (GEANKOPLIS, 1993; DO, 1998; TEIXEIRA, COUTINHO e GOMES, 2001; COULSON e RICHARDSON, 2002), embora outros fatores como tamanho dos poros, natureza química, polaridade, etc., influenciem também na adsorvidade.

Tabela 6. Coeficiente de correlação (r) entre as propriedades físicas das resinas e a capacidade de adsorção de cada composto fenólico.

Compostos fenólicos	*Coeficiente de correlação (r)		
	Porosidade	Área específica	Raio do poro
AG	0,76	0,75	-
AS	0,88	0,76	0,46
C3G	0,96	0,73	0,51
C3R	0,95	0,73	0,50
CAT	0,86	0,78	0,35
RUT	0,79	0,74	0,46
AF	0,83	0,75	0,48
QUE	0,70	0,80	-
NAR	0,74	0,67	0,52
API	0,70	0,81	-
Correlação global (r)	0,82	0,75	0,38

* Estatisticamente significativo ao nível de pelo menos 0,05.

Avaliando a seletividade das resinas na adsorção de uma mistura de compostos fenólicos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), foi possível evidenciar a seletividade parcial de alguns destes adsorventes perante determinadas classes de compostos fenólicos. A resina XAD 2, por exemplo, apesar de apresentar os piores percentuais de adsorção, revelou ter a particularidade de adsorver a níveis interessantes (acima de 60%) compostos de natureza mais apolar, como quercetina, naringenina e apigenina.

De maneira geral, estes compostos fenólicos foram os mais adsorvidos por todas as resinas, comportamento que pode estar relacionado à forte interação destas moléculas pelas resinas, adsorventes de caráter, sobretudo, hidrofóbico.

4.2.2 Análise multivariada de agrupamento de dados

A fim de se fazer uma análise simultânea do comportamento dos dez compostos fenólicos sobre as sete resinas, uma análise multivariada dos dados foi realizada usando a Análise de Agrupamento (Clusters). Nesta análise, o percentual de adsorção de cada composto foi considerado uma variável independente e resinas similares quanto à capacidade adsortiva foram agrupadas entre si. O algoritmo matemático utilizado para agrupar as resinas foi o de Agregação Completa.

Analisando o dendograma da Figura 17, observa-se que a XAD 2 se sobressai em relação ao grande agrupamento destacado pelo círculo pontilhado em preto, por ter comportamento mais distante das demais resinas (portanto, mais diferente), sendo essa distância máxima ajustada a 100 % no eixo y das distâncias euclidianas. Este resultado está em concordância com a Figura 16, onde a XAD 2 apesar de ter se mostrado a mais interessante quanto à seletividade para os compostos mais apolares, apresentou a mais baixa capacidade adsortiva para os compostos fenólicos tomados em conjunto.

Dentre esse grande sub-agrupamento (círculo pontilhado em preto) de resinas com capacidades adsortivas mais elevadas, a resina XAD 7 se sobressai das demais (sub-agrupamentos destacados pelos círculos azul e vermelho). Isso pode estar relacionado a uma baixa seletividade desta resina em relação às outras. Tomás-Barberán et al. (1992) também relataram em seu estudo a baixa seletividade da XAD 7 na sorção de flavonóides, dentre um grupo de cinco resinas (XAD 2, XAD 4, XAD 16, XAD 7 e XAD 8).

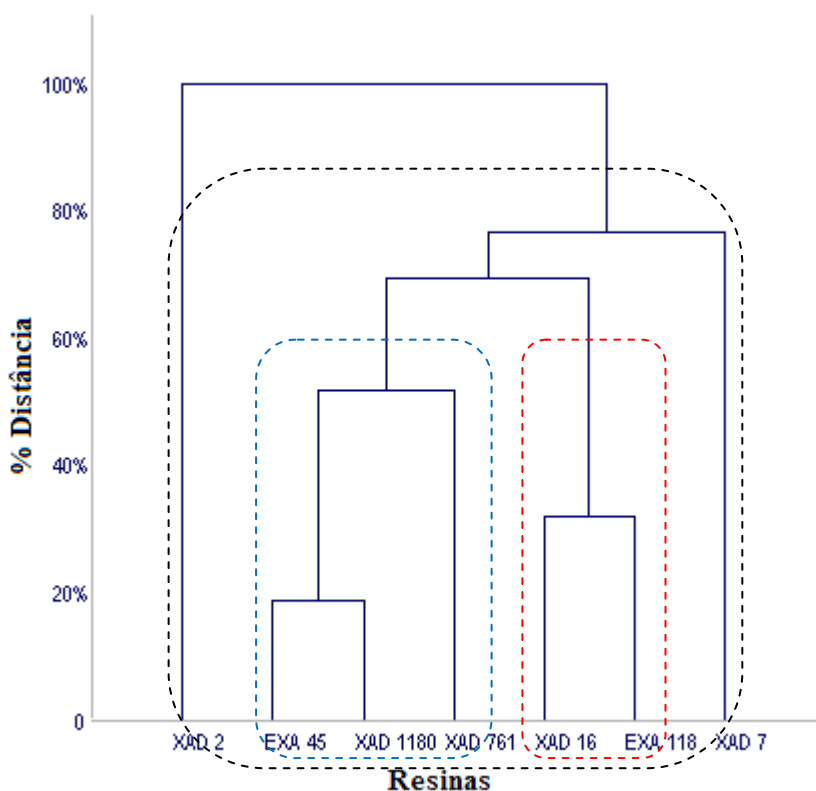


Figura 17. Dendrograma obtido por análise de agrupamento para os compostos fenólicos em função da capacidade adsortiva (%) das resinas. As linhas pontilhadas destacam os principais grupos formados.

Além disso, os dois sub-agrupamentos, linhas pontilhadas em azul e vermelho, mostram que a EXA 45, XAD 1180 ou XAD 761, são resinas com características intermediárias para adsorver compostos fenólicos, assim como EXA 118 e XAD 16 mostram-se similares e interessantes, quanto à capacidade adsortiva, porém, com menor seletividade (Figura 16).

Neste estudo não foi possível isolar compostos individuais utilizando essas resinas comerciais; mas com os dados visualizados através das Figura 16 e Figura 17, é possível sugerir a seqüência de resinas mais apropriada para obtenção de frações de classes de compostos fenólicos de diferentes polaridades. A resina XAD 2, em função da sua particularidade em adsorver mais compostos apolares, poderia ser utilizada para frações mais hidrofóbicas. Em seguida, as resinas EXA 45, XAD 1180 ou XAD 761 poderiam ser empregadas para obtenção de frações de polaridade intermediárias e EXA 118 e XAD 16, para as frações mais hidrofílicas. Esses resultados são muito interessantes do ponto de vista tecnológico, pois permite a obtenção de extratos cada vez mais enriquecidos em

determinadas classes de compostos fenólicos, viabilizando seu emprego em diferentes setores industriais, como o alimentar e farmacêutico.

Na literatura científica são escassos os trabalhos que envolvem uma possível separação de uma mistura de compostos fenólicos por meio de resinas macroporosas para obtenção de compostos puros. Alguns autores como Tomás-barberán et al. (1992) e Kammerer et al. (2010) tentaram, mas com pouco sucesso, pois a técnica de adsorção é mundialmente aplicada para a concentração de extratos e obtenção de frações enriquecidas em diferentes classes de compostos fenólicos e não em um único composto (ANDERSEN e MARHAM, 2006; MOURA, 2010).

Além disso, poucos trabalhos estudaram a interação de mistura de compostos com resinas macroporosas não iônicas; a grande maioria se deteve apenas a estudar um composto sobre vários tipos de resinas. Ademais, os autores que tentaram fazê-lo não tiveram a preocupação em padronizar as concentrações equimolares dos compostos na solução, não permitindo uma competição igualitária entre as diferentes moléculas pelos sítios ativos das resinas, o que inviabiliza uma avaliação de forma homogênea, fato que afeta diretamente o rigor de tais resultados.

Um trabalho que se concentrou em avaliar o comportamento adsorptivo de misturas de compostos fenólicos (catequina, ácido clorogênico, ácido caféico, floridzina e rutina) sobre a resina XAD 16HP foi apresentado por Kammerer et al. (2010). Os resultados encontrados mostraram que a rutina foi o composto fenólico que obteve os maiores percentuais de capacidade de adsorção, acima de 91%, para todas as misturas embora não se pode afirmar que este comportamento esta relacionado apenas com a polaridade desta molécula, visto que a concentração dos compostos fenólicos neste estudo não foi padronizada e a concentração de rutina em todas as misturas era minoritária (catequina [0,086 mM] + rutina [0,041 mM]; catequina [0,034] + ácido caféico [0,055 mM] + ácido clorogênico [0,028 mM] + floridizina [0,022 mM] + rutina [0,016 mM]).

4.3 ISOTERMAS DE MONO E MULTICOMPONENTES

A interpretação de sistemas de multicomponentes é considerada complexa devido à competição soluto-soluto e interação soluto-área específica. Isso contribui para escassez de dados na literatura, referentes a compostos fenólicos influenciando sobremaneira na interpretação dos resultados.

Dessa forma, o tratamento dos dados de isotermas do presente estudo baseou-se em trabalhos já publicados na área de adsorção seletiva de misturas de minerais como ferro e o manganês (MOHAN e CHANDER, 2006) e de misturas de chumbo, zinco e cádmio (BALASUBRAMANIAN, PERUMAL e VIJAYARAGHAVAN, 2009) sobre carvões linhita e turfa.

Isotermas de adsorção foram construídas (Figura 18, Figura 19, Figura 20 e Figura 21) para apenas quatro compostos fenólicos (AF, RUT, C3R e NAR) (Quadro 5, pag. 48) e suas misturas binárias e ternárias, utilizando três resinas macroporosas comerciais (XAD 2, XAD 1180 e EXA 118, apontadas no estudo de seletividade como as de seletividade alta, intermediária e baixa, respectivamente). Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Langmuir a fim de determinar a capacidade de adsorção de cada composto fenólico, assim como avaliar a competição entre compostos pelos sítios das resinas e obter informação sobre alguns aspectos qualitativos de adsorção, tais como afinidade e interação área-soluto.

Na Tabela 7 são listados os valores de Q_m (capacidade de adsorção máxima) e dos parâmetros a_L e K_L , obtidos através das isotermas de Langmuir. A Tabela 7 também mostra através dos coeficientes de determinação ($R^2 > 0,91$), o bom ajuste dos dados experimentais ao modelo na faixa de concentração estudada, o que comprova a eficiência do modelo de Langmuir para descrever a adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas. Estes dados confirmam a aplicabilidade deste modelo já observada em outros estudos entre compostos fenólicos e resinas macroporosas (SILVA, POMPEU e ROGEZ, 2007; POMPEU et al., 2010).

Avaliando a capacidade de adsorção máxima (Q_M), a resina EXA 118 foi a que apresentou os maiores valores para todos os compostos fenólicos, seja em condições experimentais de suas misturas ou isoladamente. Os valores para este parâmetro variaram de 159 $\mu\text{Mol/g}$ para o ácido ferrúlico (resina EXA 118) a -553 $\mu\text{Mol/g}$ para a naringenina quando em mistura com o ácido ferrúlico e rutina (resina XAD 1180). Entretanto, esse resultado já era esperado, tendo em vista a elevada capacidade adsorptiva encontrada pela EXA 118 no Estudo da seletividade das resinas por compostos fenólicos apresentados na seção 4.2, pag. 57.

Tabela 7. Parâmetros de isotermas do modelo de Langmuir estimados para avaliar a adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas.

^{3,4} Compostos fenólicos	Constantes de Langmuir														
	XAD 2					XAD 1180					EXA 118				
	Q _M (μMol/g)	a _L (L/μMol)	K _L (L/g)	R ²	Q _{mix} /Q _M	Q _M (μMol/g)	a _L (L/μMol)	K _L (L/g)	R ²	Q _{mix} /Q _M	Q _M (μMol/g)	a _L (L/μMol)	K _L (L/g)	R ²	Q _{mix} /Q _M
AF	85,86	0,01	0,60	0,98	-	143,08	0,01	1,86	0,99	-	159,64	0,06	8,78	0,99	-
AF (C3R)	18,50	0,03	0,63	0,97	0,22	16,17	0,03	0,47	0,96	0,11	26,68	0,42	11,26	0,99	0,17
AF (RUT)	33,65	0,02	0,77	0,99	0,39	38,31	0,08	3,22	0,99	0,27	56,29	0,16	9,18	0,97	0,35
AF (NAR)	21,19	0,02	0,45	0,98	0,25	13,46	0,13	1,75	0,99	0,09	23,96	0,11	2,56	0,99	0,15
AF (RUT-NAR)	40,17	0,02	0,72	0,99	0,47	21,54	0,08	1,75	0,99	0,15	18,50	0,44	8,07	0,98	0,12
RUT	43,63	0,02	0,70	0,99	-	75,68	0,04	3,03	0,99	-	82,09	0,10	8,05	0,98	-
RUT (AF)	29,41	0,05	1,59	0,98	0,67	32,57	0,41	13,19	0,97	0,43	40,08	0,19	7,50	0,97	0,49
RUT (C3R)	12,66	0,04	0,52	0,99	0,29	23,01	0,15	3,45	0,99	0,30	26,28	0,35	9,17	0,99	0,32
RUT (NAR)	10,13	0,65	6,63	0,97	0,23	24,80	0,18	4,51	0,99	0,33	31,64	0,34	10,66	0,99	0,39
RUT (AF-NAR)	9,48	0,07	0,65	0,97	0,22	18,73	0,16	3,03	0,99	0,25	16,70	0,54	9,05	0,99	0,20
NAR	68,17	0,05	3,68	0,97	-	117,44	0,07	8,57	0,99	-	110,55	0,20	22,55	0,98	-
NAR (AF)	71,50	0,02	1,43	0,94	1,05	36,92	0,13	4,91	0,99	0,31	45,71	0,13	6,08	0,93	0,41
NAR (RUT)	26,58	0,40	10,58	0,91	0,39	34,28	0,30	10,25	0,98	0,29	73,67	0,22	16,06	0,99	0,67
NAR (AF-RUT)	-14,55	-0,06	0,93	0,98	-0,21	-553,22	-0,01	4,98	0,99	-4,71	-10,32	-0,41	4,23	0,98	-0,09
C3R	43,63	0,00	0,09	0,99	-	90,73	0,00	0,36	0,98	-	118,59	0,02	2,13	0,98	-
C3R (AF)	26,38	0,01	0,24	0,93	0,60	29,84	0,02	0,57	0,92	0,33	38,19	0,02	0,61	0,99	0,32
C3R (RUT)	2,77	0,05	0,14	0,95	0,06	7,24	0,07	0,48	0,97	0,08	18,66	0,11	2,02	0,99	0,16

³ Os compostos fenólicos entre parênteses representam os compostos competidores quando em mistura.

⁴ Foram testadas no mínimo seis e no máximo nove concentrações.

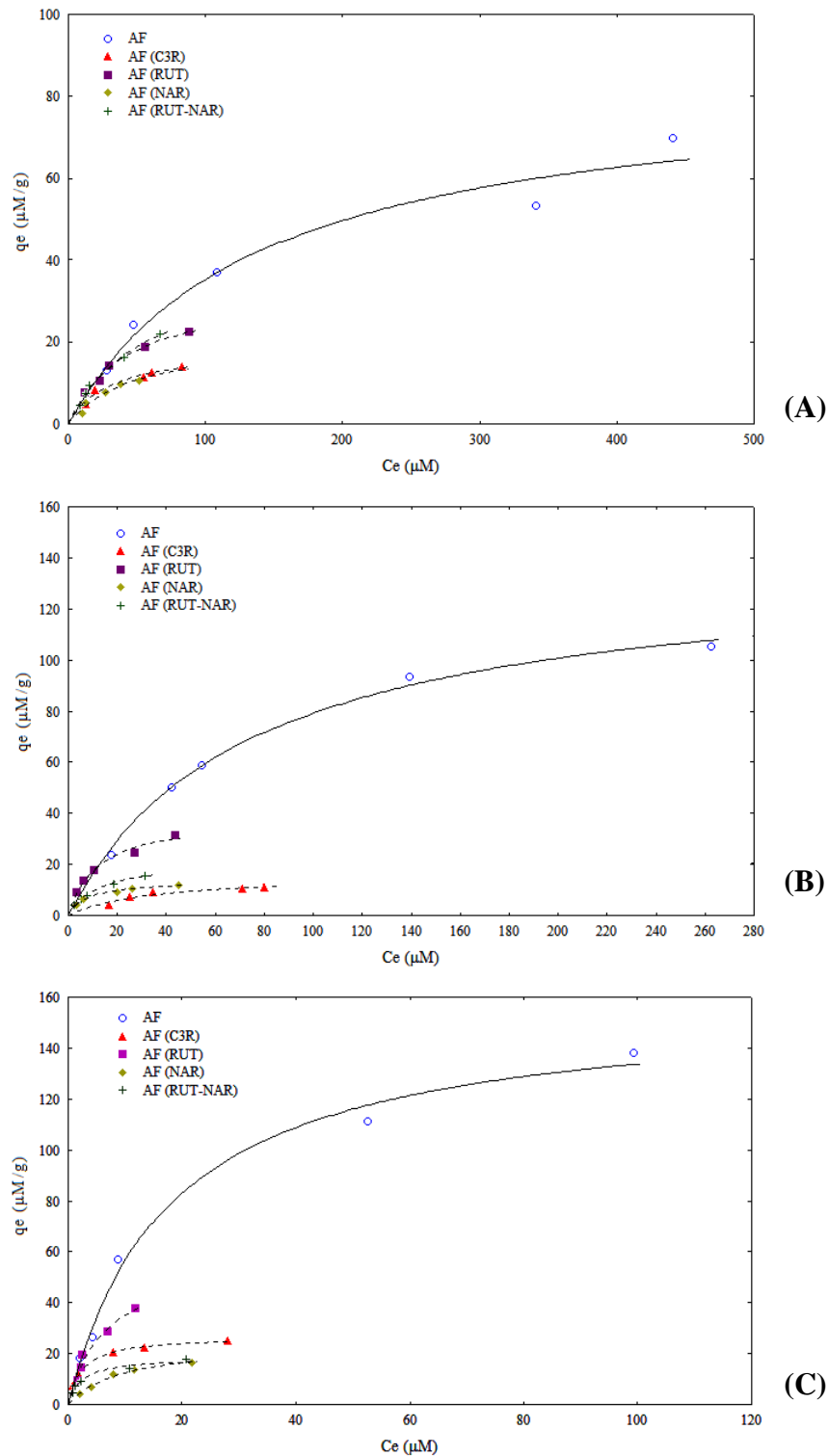


Figura 18. Isothermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para o ácido ferrúico isolado e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir. AF: ácido ferrúico, C3R: cianidina-3-rutinosídeo, RUT: rutina, NAR: naringenina.

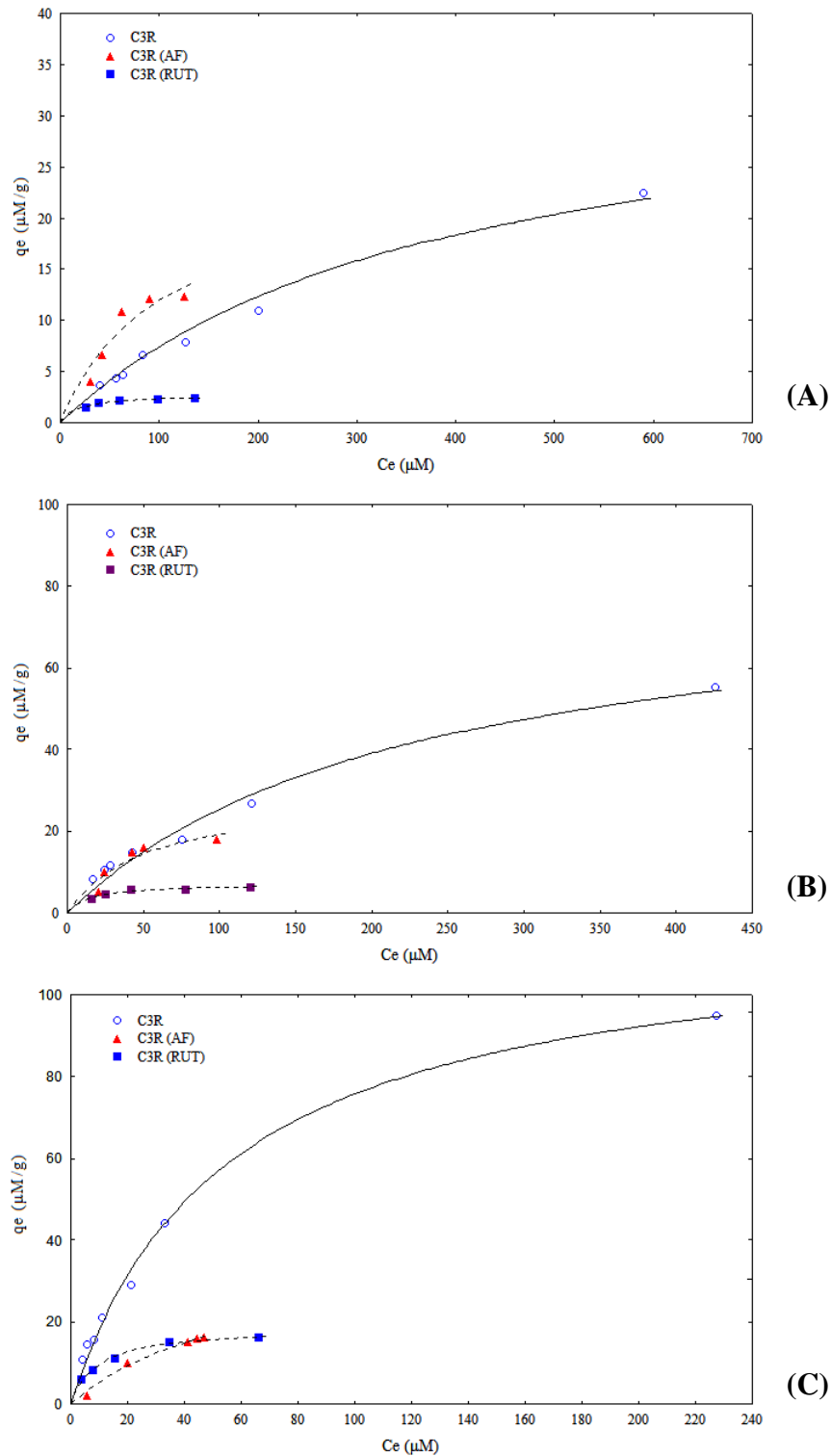


Figura 19. Isothermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para cianidina-3-rutinosídeo isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir. C3R: cianidina-3-rutinosídeo, AF: ácido ferrúlico, RUT: rutina.

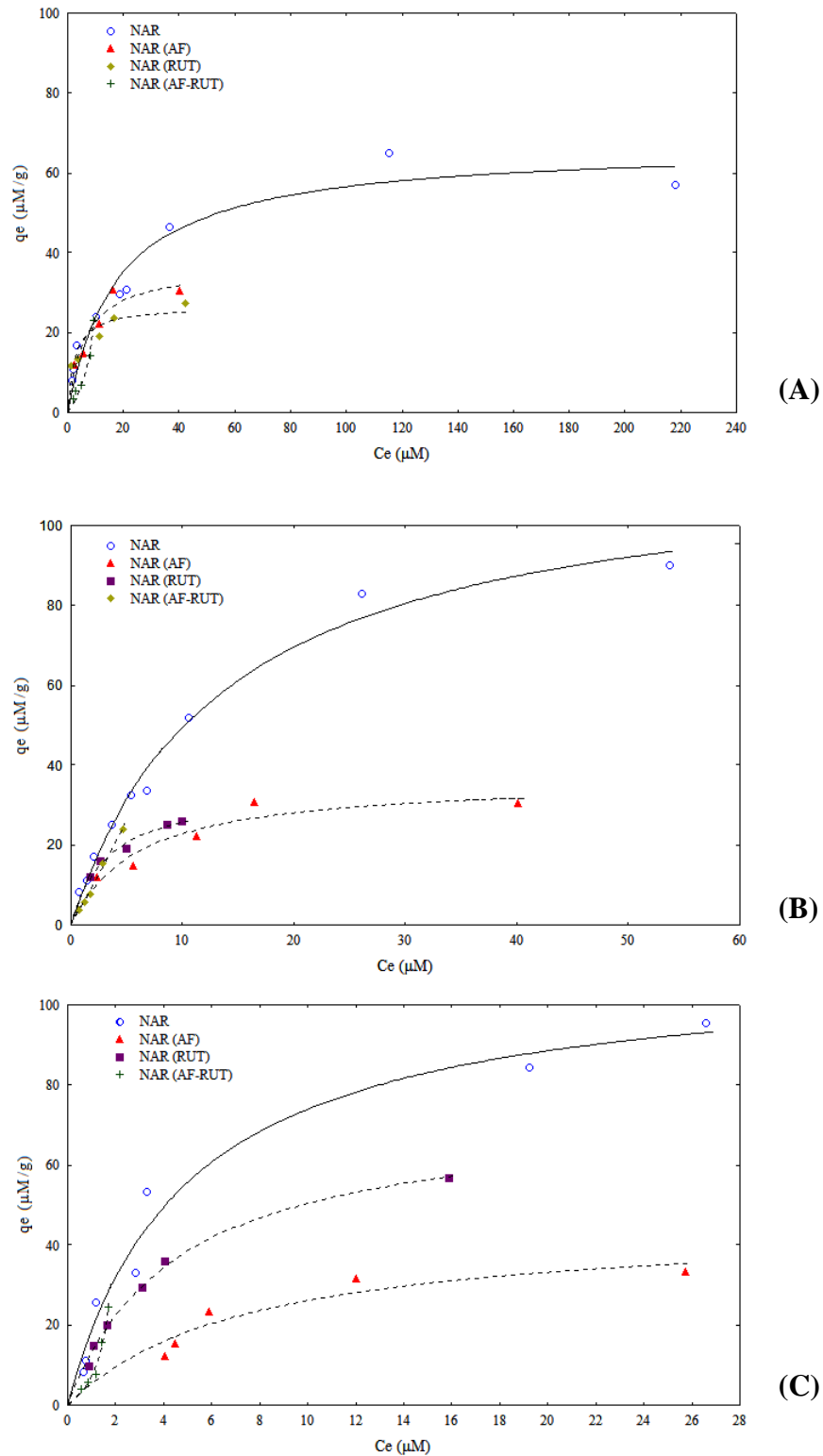


Figura 20. Isothermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para naringenina isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir. NAR: naringenina, AF: ácido ferrúlico, RUT: rutina.

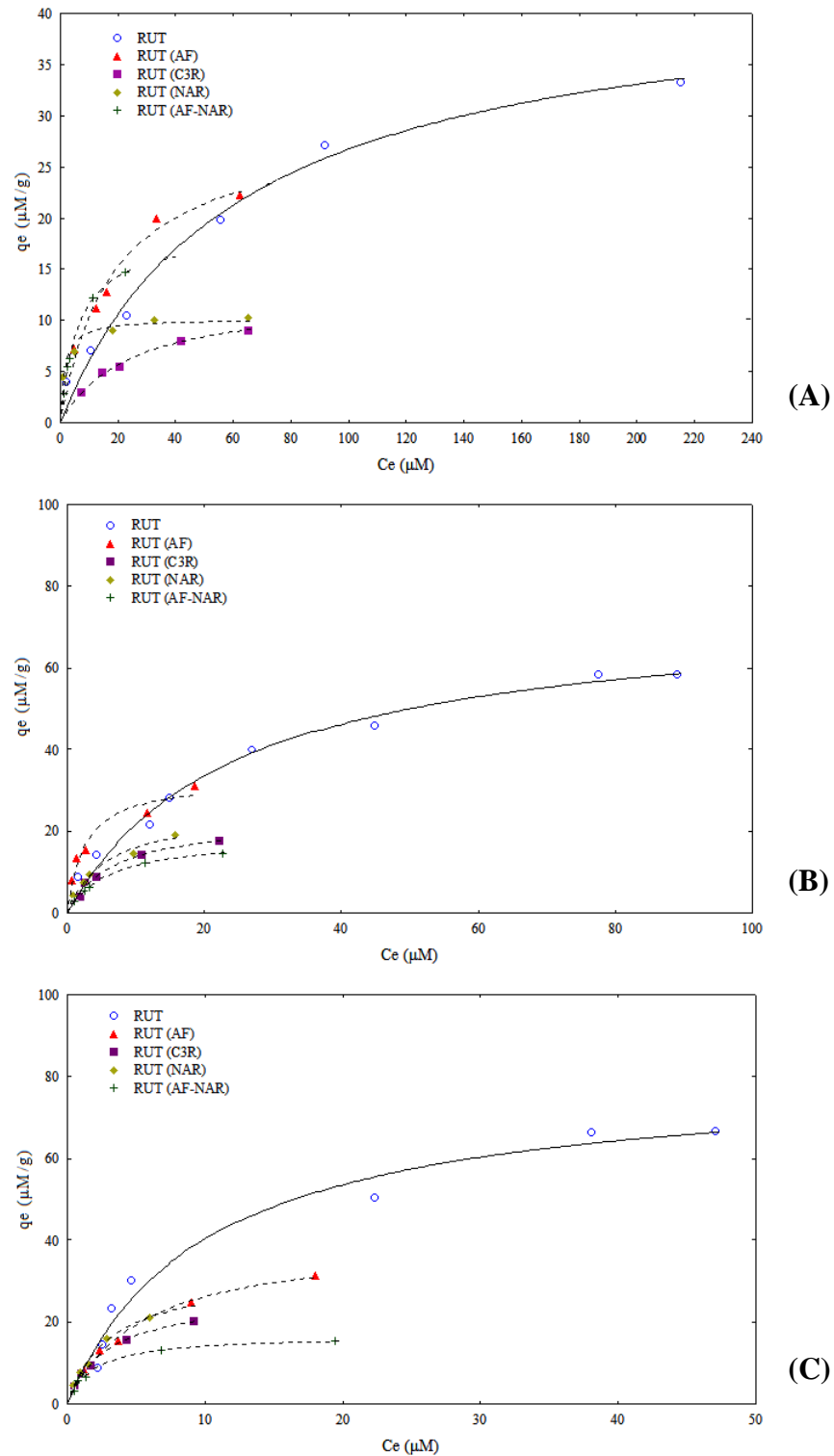


Figura 21. Isothermas de adsorção obtidas por regressão não linear dos dados experimentais para rutina isolada e em misturas para resinas macroporosas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118 segundo Langmuir. RUT: rutina, AF: ácido ferrúlico, C3R: cianidina-3-rutinosídeo, NAR: naringenina.

Em relação aos valores de a_L , o qual representa a razão entre a sorção e a dessorção a uma taxa constante, os valores variaram de 0,65 L/ μ Mol (para a rutina em solução com a naringenina, na resina XAD 2) a -0,41 L/ μ Mol (para a naringenina em solução com o ácido ferrúlico e a rutina, na resina EXA 118). Estes resultados demonstram que, com exceção de alguns poucos casos, os valores de a_L são favorecidos quando as isotermas são de multicomponentes. Comportamento análogo foi encontrado para o parâmetro adsorvidade do soluto (K_L), produto de duas constantes de Langmuir (a_L e Q_M), já que a metade dos compostos fenólicos em mistura, tiveram os valores de K_L aumentados.

De acordo com Ruthven (1984) o valor da constante K_L é muito importante quando se compara muitas condições de adsorção soluto/solvente. Além disso, elevados valores de a_L e Q_M , indicam que a eficácia da adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas é maior.

Os valores de K_L para C3R apresentados neste trabalho demonstram claramente que a adsorção deste composto foi a pior para todas as resinas estudadas. Esse comportamento pode estar relacionado ao fato da C3R apresentar um açúcar (rutinosídeo) ligado na posição 3 do anel C, o que elevada solubilidade desta moléculas em água, justificando assim a baixa afinidade apresentada pelas resinas, o que pode ser considerado um ponto a favor quando relacionamos a adsorção de forma seletiva.

Scordino et al. (2004) estudando a adsorção de cianidina-3-glucosídeo sobre 13 resinas macroporosas, inclusive XAD 2, XAD 1180 e EXA 118, constataram que a resina EXA 118, assim como neste trabalho, foi a melhor quanto a capacidade adsorviva e a XAD 2 a pior. Entretanto, na maioria dos casos, os valores de K_L estiveram abaixo (0,0526 L/g para XAD 2 e 6,9672 L/g para EXA 118) dos valores encontrados neste trabalho para todas as resinas estudadas.

O grau de hidrofobicidade das moléculas parece ser decisivo na adsorção de compostos fenólicos sobre resinas macroporosas. Isso acontece porque a adsorção nada mais é do que a competição entre a solubilidade do composto no meio e a adsorvidade do composto no material adsorvente. Quanto mais hidrofílico o composto de interesse, maior sua solubilidade em meio aquoso e menor será sua adsorvidade em resinas de caráter hidrofóbico, logo um compostos pouco solúvel resulta em uma adsorvidade maior.

A naringenina isoladamente, por exemplo, foi o composto fenólico com maiores valores de K_L para todas as resinas estudadas. Entretanto, esse comportamento já era

esperado devido à baixa hidrofiliabilidade desta molécula e, portanto, grande afinidade pelas resinas. O mesmo desempenho não foi observado quando este composto estava em mistura, já que na maioria das vezes o valor de K_L diminuiu possivelmente devido à solubilidade da naringenina no meio. Além disso, não pode ser descartada a possibilidade de interação deste composto com outras moléculas fenólicas presentes em solução, o que justificaria, principalmente, os valores negativos das constantes a_L e Q_M observado para todas as resinas.

Em relação aos ácidos fenólicos, estes normalmente têm maior solubilidade em água que os flavonóis (ver Quadro 5), todavia neste estudo, RUT e AF apresentaram valores de K_L e a_L algumas vezes similares. Isso pode estar relacionado à presença do grupo OCH_3 na posição 3 do anel benzênico, na molécula de AF, que aumenta a afinidade desta com superfícies não polares, como as resinas macroporosas estudadas. Por outro lado, a RUT, um flavonol di-glicosídeo tem sua hidrofobicidade diminuída pela presença do açúcar em relação a sua forma aglicona, a qual é mais hidrofóbica e ainda possui tamanho de molécula maior quando comparada ao AF.

Pompeu et al. (2010) estudaram o comportamento de isotermas de adsorção de compostos puros (ácido cafeico, ácido ferrúlico, ácido gálico, catequina e rutina) sobre resinas macroporosas (EXA 90, EXA 118, XAD 16 e XAD 7) nas mesmas condições de pH, temperatura e agitação deste trabalho. Os valores de K_L encontrados para EXA 118 por estes autores são inferiores ao encontrado neste estudo para a RUT (5,26 L/g) e AF (3,82 L/g).

Silva, Pompeu e Rogez (2007) trabalhando na adsorção de compostos fenólicos de extratos de folha de *Inga edulis*, utilizando as resinas XAD 7, XAD16, EXA 90 e EXA 118 (presente neste trabalho), encontraram valores de K_L para polifenóis totais, muito superiores (0,79 L/g), quando usaram a resina XAD 7. Vale destacar que o extrato utilizado pelos autores era rico em flavanóis e flavonóis glicosilados, principalmente miricetina-3-*O*- α -ramnospiranosídeo e quercetina-3-*O*- α -raminospiranosídeo (SOUZA et al., 2007), moléculas de elevada polaridade, o que pode ter proporcionado, no caso da resina XAD 7, uma maior adsorção dos compostos fenólicos por esta apresentar grupos polares em sua estrutura.

A fim de avaliar a competição entre moléculas e o efeito desta para capacidade adsortiva das resinas, determinou-se um parâmetro (Q_{mix}/Q_M) que relaciona a capacidade

de adsorção para um determinado composto fenólico na presença de outros fenólicos, Q_{mix} , e a capacidade de adsorção do mesmo composto fenólico quando este se encontra individualmente na solução, Q_M . Este tratamento é baseado no trabalho de Mohan e Chander (2006), o qual considera que quando $Q_{mix}/Q_M > 1$ a adsorção é promovida pela presença de outros compostos fenólicos (sinergismo), quando $Q_{mix}/Q_M = 1$ não há interação e quando $Q_{mix}/Q_M < 1$ a adsorção é restringida por outros compostos.

Seguindo este critério e observando os dados Q_{mix}/Q_M apresentados na Tabela 7, é possível observar que a maioria dos compostos fenólicos em mistura apresentou valores de Q_{mix}/Q_M , abaixo de 1, o que sugere que o processo de adsorção destes compostos foi restringido pela competição existente pelos sítios ativos das resinas. Em contrapartida, a NAR quando competindo com o AF não teve sua capacidade adsorptiva afetada ($Q_{mix}/Q_M = 1,05$), na resina XAD 2. Isso pode ser justificado pela maior afinidade entre a NAR e o material adsorvente, causada possivelmente pelas interações do tipo π - π e pelo fato de termos um composto mais hidrofílico (AF) em presença de um mais hidrofóbico (NAR).

Uma outra forma de verificar a afinidade dos compostos pelos adsorventes, é em função da forma das isotermas. Ela pode fornecer informação qualitativa acerca da natureza da interação soluto-adsorvente (DABROWSKI et al., 2005). A classificação mais popular de isotermas de adsorção de solutos em soluções aquosas foi estabelecida por Giles, D'Silva e Easton (1974) e Giles, Smith e Huitson (1974) (ver Figura 7, pag. 37).

As quatro grandes classes de isotermas de adsorção que os autores identificaram se baseiam na configuração da parte inicial da curva. De acordo com os autores, as isotermas de adsorção obtidas neste trabalho são do tipo L, da classe *Langmuir*, as quais apresentam duas regiões distintas: uma no início, linear, evidenciando alta difusão do soluto para o adsorvente, seguido de uma região côncava, que expressa a saturação dos poros do adsorvente, sugerindo não haver nenhuma forte competição entre o solvente e o soluto para a ocupação dos sítios de adsorção.

Conforme os gráficos de isotermas de adsorção (Figura 18 a Figura 21), em alguns casos pôde-se observar que nem todos os compostos chegaram a uma região de estabilização, suas curvas estando ainda na faixa linear, como observado para naringenina. Isto se deu pela impossibilidade de aumentar os valores de concentração inicial das soluções sem aumentar o percentual de etanol no meio.

4.4 ADSORÇÃO DINÂMICA DE EXTRATO DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea*)

Após os estudos de seletividade das resinas por compostos fenólicos, o que levou a escolha de três resinas com características seletivas diferentes, bem como o estudo de isotermas de adsorção de misturas e de compostos isolados, passou-se ao estudo dinâmico da adsorção (em coluna). Deste modo, foi utilizado um extrato de açaí, que representa uma mistura de vários compostos fenólicos.

A Figura 22 representa os dados experimentais das curvas de ruptura para os compostos fenólicos majoritários do açaí (cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, homoorientina e orientina) sobre três resinas macroporosas (XAD 1180, XAD 2 e EXA 118), as quais foram apresentadas anteriormente como sendo capazes de fracionar parcialmente um extrato contendo diferentes famílias de compostos fenólicos.

Essas curvas de ruptura foram construídas colocando-se no eixo das ordenadas a razão entre a concentração dos compostos fenólicos na saída da coluna e as suas concentrações no extrato de entrada (C/C_0) e no eixo das abscissas o volume eluído através da coluna. Pela Figura 22-A é possível visualizar que a XAD 2 inicialmente quase não mostrou resistência quanto à transferência de massa ao longo do leito, alcançando rapidamente a região de saturação. Entretanto, é possível perceber que na região próxima à saturação, há ainda um acúmulo lento dos compostos de interesse, porém contínuo com a quantidade de extrato eluído.

Para essa resina o valor da concentração de ruptura ocorreu logo nos primeiros volumes eluídos pela coluna. Isso é devido tanto pela baixa capacidade adsortiva dessa resina quanto pelo alto valor da concentração de entrada ($C_0 = 20.000$ mg de Eac.gálico/L de polifenóis totais) estabelecida para todas as resinas. Portanto a melhor forma de visualizar a separação destes compostos fenólicos seria trabalhar com concentrações iniciais de extrato (C_0) mais baixas o que resultaria num tempo maior para se alcançar a saturação da coluna. Essa suposição é apoiada no fato de a XAD 2 ter se mostrado a mais seletiva para as classes de compostos fenólicos.

A EXA 118, por outro lado, mostrou necessitar de um volume maior para alcançar a saturação que as demais resinas (Figura 22-C). Esse fato pode estar relacionado com a capacidade adsortiva elevada, já evidenciado nos estudos anteriores (seção 4.2, pag. 57 e 4.3 pag. 61).

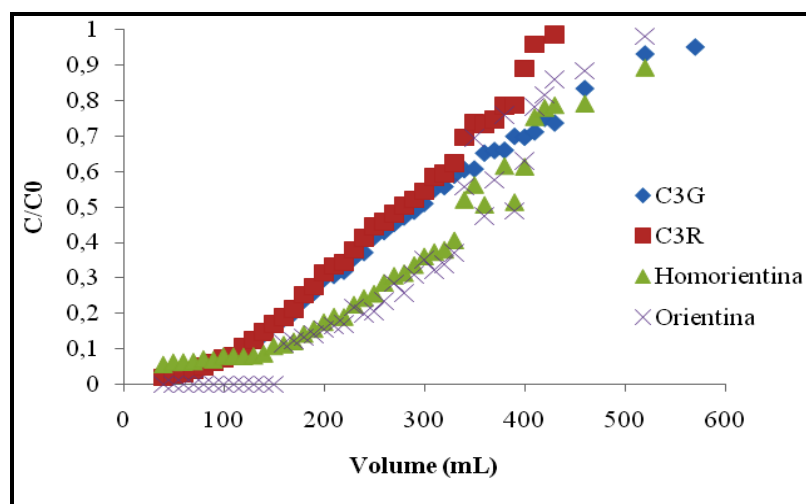
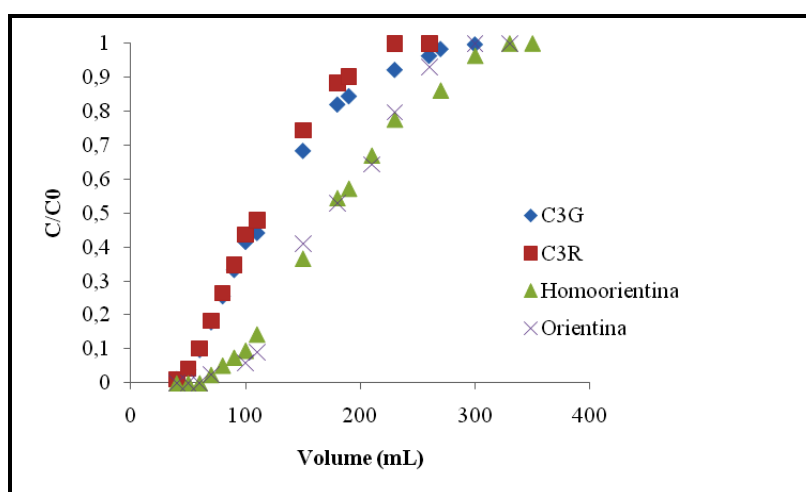
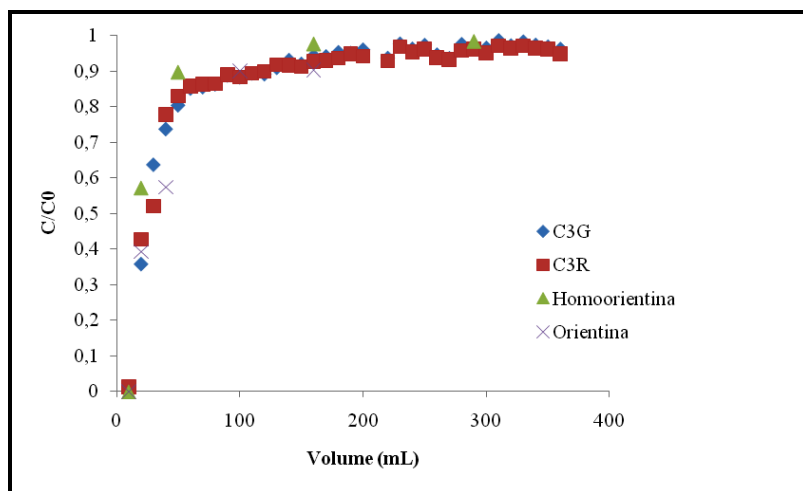


Figura 22. Curva de ruptura dos quatro principais compostos fenólicos de *E. oleracea* para as resinas (A) XAD 2, (B) XAD 1180 e (C) EXA 118. (C3G: cianidina-3-glucosídeo, C3R: cianidina-3-rutinosídeo).

Quanto à interação composto fenólico e resinas, o que pode acarretar em uma maior ou menor seletividade, destaca-se que na resina XAD 1180 (Figura 22-B), a cianidina-3-glucosídeo e cianidina-3-rutinosídeo tiveram menos afinidade com a resina do que homoorientina e orientina, o que gerou um leve alongamento das curvas. Esse comportamento já era esperado visto que as antocianinas são moléculas de natureza mais hidrofílica do que as flavonas e que a resina XAD 1180 é considerada um adsorvente de moderada capacidade adsortiva. Isso implica diretamente na concentração dos compostos fenólicos na solução efluente, assim sendo a concentração de antocianinas obteve seu ápice no intervalo de 50 a 250 mL e ponto de ruptura ao redor de 50 mL de extrato eluido, enquanto que as flavonas apresentaram ponto de ruptura só depois de 80 mL de extrato.

Por sua vez, na resina EXA 118 todos os compostos fenólicos apresentaram comportamento análogo (ponto de ruptura ao redor de 100 mL). Isso evidencia uma menor seletividade desta resina na adsorção de compostos fenólicos presentes em extrato vegetais.

O comportamento dos compostos fenólicos na resina XAD 1180 mostrou-se similar ao encontrado por Fu et al. (2006), o qual estudou a adsorção dinâmica realizada sobre resinas polares e avaliou a curva de ruptura da luteolina presente em extratos de folhas de gandu (*Cajanus cajan* L.).

5 CONCLUSÃO

Este estudo de adsorção enfocou vários aspectos físicos, químicos e tecnológicos que permitiram encontrar muitas informações úteis para compreender a possível seletividade parcial das resinas macroporosas face aos compostos fenólicos.

Em relação à capacidade de retenção de água os resultados permitiram hierarquizar as resinas da seguinte maneira: XAD 2 < EXA 90 < EXA 45 < XAD 4 \approx XAD 761 \approx XAD 16 < XAD 1180 \approx EXA 118 \approx XAD 7. Contudo, essa hierarquia não representa uma polaridade crescente, tampouco ajuda a explicar a seletividade da resina quanto aos compostos fenólicos, mas apresenta boa correlação com a porosidade das resinas.

Quanto ao estudo de seletividade das resinas feito em batelada, os resultados evidenciaram que compostos de natureza mais apolar, como a quercetina, naringenina e apigenina têm maior afinidade com as resinas que compostos mais polares.

Os dados experimentais de adsorção se ajustaram bem ao modelo de Langmuir sendo indicado para descrever o processo de adsorção dos compostos fenólicos em resinas sintéticas macroporosas. Esses resultados contribuíram para o entendimento da seletividade, pois destacou que os compostos fenólicos competem por sítios ativos conforme estejam em presença de diferentes compostos.

Quanto à adsorção dinâmica, a resina XAD 2 mostrou alcançar rapidamente a zona de saturação, enquanto a EXA 118 apresentou comportamento inverso e a XAD 1180 intermediário.

Por fim, os dados sugerem que a melhor seqüência para o fracionamento parcial de compostos fenólicos de um extrato vegetal seria usar a XAD 2 para obtenção de frações mais apolares, XAD 1180, XAD 761 ou EXA 45 para compostos de polaridade intermediária e EXA 118 ou XAD 16 para obtenção de frações mais polares.

REFERÊNCIAS

- ALEKSIEVA, K.; XU, J.; WANG, L. M.; SASSI, A.; PIENKA, Z.; ZHANG, Z.; JERABEK, K. Effects of post-crosslinking of macroreticular styrene-divinylbenzene copolymers on their morphology. **Polymer**. v. 47, 6544- 6550, 2006.
- ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. United States of America: Taylor & Francis, 2006. 1212f.
- BALASUBRAMANIAN, R.; PERUMAL, S. V.; VIJAYARAGHAVAN, K. Equilibrium isothermas studies for the multicomponent adsorption of lead, zinc and cadmium onto Indonesian peat. **Ind. Eng. Chem. Res.** v. 48, 2093-2099, 2009.
- BILGILI, M. S. Adsorption of 4-chloroph enol from aqueous solutions by xad-4 resin: Isotherm, kinetic, and thermodynamic analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, 157-164, 2006.
- BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A. FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, 2000.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 1999.
- CHIN, Y.; CHAI, H.; KELLER, W. J.; KINGHORN, A. D. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (Açaí) wiyh antioxidant and cytoprotectives activities. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v.56, 7759-7764, 2008.
- CHIRINOS, R. S. G. **Polyphenols from the Andean mashua (*Tropaeolum tuberosum*) tuber**: Evaluation of genotypes, extraction, chemical characterization and antioxidant properties. PhD. Thesis, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Bélgica, 2008.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2^{ed}. Lavras, MG: UFLA, 2005. 785f.

- CHU, B. S., BAHARIN, B.S.; MAN, Y. B. C.; QUEK, S. Y. Separation of vitamin E from palm fatty acid distillate using silica: I. Equilibrium of batch adsorption. **Journal of Food Engineering**, v. 62, 97-103, 2004.
- CIOLA, R. **Fundamentos da catálise**, 1^{ed}, São Paulo, SP: Editora Moderna, 1981.
- CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - Nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, 362-372, 1999.
- COLLINS, H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2006.
- COULSON, J. M.; RICHARDSON, J. F. **Chemical Engineering: Particle Technology and Separation Processes**. Inglaterra: Butterworth-Heinemann v. 2, 1^{ed}, 2002, 1208f.
- DAAYF, F.; LATTANZIO, V. **Recent advances in polyphenol research**. Reino Unido: John Wiley & Sons Inc., v.1, 2008. 437f.
- DABROWSKI, A.; PODKOSCIELNY, P. HUBICKI, Z.; BARCZAK, M. Adsorption of phenolic compound by activated carbon - a critical review. **Chemosphere**, v. 58, 1049-1070, 2005.
- 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.
- DI MAURO, A.; FALLICO, B.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Waste water from citrus processing as a source of hesperidine by concentration on styrene-divinylbenzene resin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 48, 2291-2295, 2000.
- DI MAURO, A.; FALLICO, B.; PASSERINI, A.; RAPI SARDA, P.; MACCARONE, E. Recovery of hesperidin from orange peel by concentration of extracts on styrene-divinylbenzene resin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 47, 4391-4397, 1999.
- DO, D. D. **Adsorption Analysis: Equilibria and Kinetics**. Michigan, EUA: Imperial College Press, v.3, 1998, 913f.

- ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; SANTOS-BUELGA, C. **Polyphenol extraction from foods**. The Royal Society of Chemistry. 2003.
- FLEURIET, A.; MACHEIX, J. J. In: RICE-EVANS, C.; PACKER, LESTER. **Flavonoids in health and disease**. 2nd edition. New York: Marcel Dekker, Inc. p. 1-42. 2003. 483f.
- FOX, C. R.; KENNEDY, D. C. Conceptual design of adsorption systems. In **Adsorption Technology**, New York, EUA: edited by Slejko, 1985.
- FREUNDLICH, H. The theory of adsorption. **Zeitschrift fuer Chemie und Industrie der Kolloide**, v. 3, 212-220, 1909.
- 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**, v. 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**, v. 1139, 206-213, 2007.
- GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BERBOSA, W. L. R.; VINCIERI, F. F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Martt (Açaí palm). **Chromatographia**. v. 59, 739-743, 2004.
- GEANKOPLIS, C. J. **Transport process and unit operations**. 2^{ed}. Boston: Allyn and Bacon, 1993. 1006f.
- 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**, v. 1216, 8331-8338, 2009.
- GHARRAS, HASNA. Polyphenols: food sources, properties and applications- a review. **International Journal of Food Science & Technology**. v. 44, 2512-2518, 2009.
- 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**, v. 47, 766-778, 1974.

- GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. General treatment and classification of solute adsorption-isotherm .1. Theoretical. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 47, 755-765, 1974.
- GROTEWOLD, E. **The science of flavonoids**. USA: Springer, 2006. 274f.
- HINES, A. L.; MADDOX, R. N. **Mass transfer: fundamentals and application**. New York: Prentice Hall, 1985.
- 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**. v. 118, 208-214, 2010.
- HOUGEN, O. A.; WATSON, K. M.; RAGATZ, R. A. **Princípios dos processos químicos**. Porto: Lopes da Silva, 1984.
- HURST, W.J. **Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals**. LLC, 2002.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão**. Brasília, DF., 2008. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1270. Acesso em: 21/06/2009.
- IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2^{ed} (1997). Disponível em: <http://old.iupac.org/goldbook/A00155.pdf>. Acessado em: 04/12/08
- JAGANATH, I. B.; CROZIER, A. **Dietary flavonoids and phenolic compounds**. Malaysia: Edited: John Wiley e Sons, Inc, 2010. 50f.
- JARDIM, M. A. G.; MOURÃO, L.; GROISSMAN, M. **Açaí: possibilidades e limites para o desenvolvimento sustentável no estuário amazônico**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2004. 274f.
- KAMMERER, D. R.; CARLE, R.; STANLEY, R. A.; SALEH, Z. S. Pilot-scale resin adsorption as a means to recover and fractionate apple polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, 6787-6796, 2010.

- KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S. SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**. v. 122, 610-617, 2010.
- LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v.40, 1361-1402, 1918.
- LI, P.; WANG, Y.; MA, R.; ZHANG, X. Separation of tea polyphenol from *Green Tea* leaves by a combined CATUFM-adsorption resin process. **Journal Food Engineering**. v. 67, 253-260, 2005.
- LICHTENTHALER, R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.; PAPAGAINNOPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F.; Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) fruits. **International journal of food sciences and nutrition**. v. 56, nº1, 53-64, 2005.
- LIU, W.; ZHANG, S.; ZU, Y.; FU, Y.; MA, W.; ZHANG, D.; KONG, Y.; LI, X. Preliminary enrichment and separation of genistein and apigenin from extracts of pigeon pea roots by macroporous resins. **Bioresource Technology**. v. 101, 4667-4675, 2010.
- MAGGI, L.; STELLA, R.; VALENTINI, M. T. G. Model compound sorption by resins XAD 2, XAD 8 and diethylaminoethylcellulose. **Journal of Chromatography**. v. 478, 225-230, 1989.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Society for Clinical Nutrition**. v. 79. 727-747. 2004.
- MARQUARDT, M.; EIFLER-LIMA, V. L. A síntese orgânica em fase sólida e seus suportes poliméricos mais empregados. **Química Nova**. v. 24, nº 6, p. 846- 855, 2001.
- MOHAN, D.; CHANDER, S. Single, binary and multicomponent sorption of iron and manganese on lignite. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 299, 76-77, 2006.

- MOURA, F. G. **Adsorção seletiva de compostos fenólicos puros em sistema de batelada**. 2010, 84f. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Pará, Belém-PA, 2010.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, 95-111, 2004.
- PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe Oleracea* and *Euterpe Precatoria*. **Food Chemistry**. v. 115, 1199-1205, 2009.
- PACHECO-PALENCIA, L.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 105, 28-35, 2007a.
- PACHECO-PALENCIA, L.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as effected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food Research International**, v.40, 620-628, 2007b.
- PACHECO-PALENCIA, L.; MERTENS-TALCOTT, S. T.; TALCOTT, S. T. Chemical composition antioxidant properties and thermal stability of a phytochemical enriched oil from açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, 4631-4636, 2008.
- PACHECO-PALENCIA, L.; TALCOTT, S. T. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. **Food Chemistry**. v. 118, 17-25, 2010.
- PEQ-Portal da Engenharia Química. **Operações com transferência de massa**. Encontrado em: http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=450&id=188&option=com_content&task=view. Acessado em: 26 de abril de 2009.
- PI, G.; REN, P.; YU, J.; SHI, R.; YUAN, Z.; WANG, C. Separation of sanguinarine and chelerythrine in *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. Based on methyl acrylate-co-

- divinilbenzene macroporous adsorbents. **Journal Chromatography A**. v. 1192, 17-24, 2008.
- 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 Science and Technology**. v. 45, 700-709, 2010.
- POZO-INSFRAN, D. D; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, 1539-1545, 2004.
- 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 & Functional Polymers**. v. 68, 899-909, 2008.
- RIBEIRO, M. H. L.; SILVEIRA, D.; FERREIRA-DIAS, S. Selective adsorption of limonin and naringin from Orange juice to natural and synthetic adsorbents. **Eur. Food Technol**. v. 215, 462- 471, 2002.
- RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. TH. Analytical separation and detection methods for flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, 31-63, 2006.
- ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, 657-691, 2003.
- ROBARDS, K.;PRENZLER, P.D.;TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and theirs roles in oxidative process in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, 401- 436, 1999.
- RODRIGUES, A. S. S.; AGUIAR, A. P.; AGUIAR, M. R. M. P.; SANTA MARIA, L. C. Quaternization reaction of 2-vinylpyridine and 4-vinylpyridine network copolymers for 4-nitrophenol adsorption. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2007.

- RODRIGUES, R. B.; LICHTENTHA-LER, R.; ZIMMERMANN, B. PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total Oxidant Scavenging Capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) Seeds and Identification of Their Polyphenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, 4162-4167, 2006.
- ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, composição e Melhoramento da conservação**. Belém-PA: EDUFPA, 2000. 315p.
- ROHM E HAAS COMPANY. Product Data Sheet – PDS 0529 A, 1-4, 2008.
- ROSSO, V. V.; HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E. C.; BOBBIO, F. O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS. **Journal of food composition and analysis**. v. 21, 291-299, 2008.
- RUTHVEN, D. M., **Principles of Adsorption and Adsorption Processes**. New York, EUA: Wiley, 1984, 453f.
- 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**. v. 51, 571-581, 2003.
- SANTANA, A. C.; COSTA, F. A. in ROGEZ, H. e PENA, R. S. **Olhares Cruzados sobre o Açaí**, no prelo.
- SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J.P. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (acai). **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 54, 8598-8603, 2006.
- SCORDINO, M., DI MAURO, A.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Adsorption of flavonoids on resins: Cyanidin-3-Glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, 1965-1972, 2004.

- SHAHIDI, F; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Flórida: CRC PRESS, 2004, 575f.
- SHERRINGTON, D. C. Preparation, structure and morphology of polymers supports. **Chemical Communication**, 2275-2286, 1998.
- SILVA E. M. **Polyphenols from the Amazonia plant *Inga edulis*: process optimization for the production of purified extracts with high antioxidant capacity**. Louvain, 2006. Tese (Doutorado em Ciências Agronômicas e Engenharia Biológica) – Faculte d’ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain – Bélgica, 2006.
- SILVA, E. M.; POMPEU, D. R.; ROGEZ, H. Optimisation of the adsorption of polyphenols from *Inga edulis* leaves on macroporous resins using an experimental desing methodology. **Separation and Purification Technology**, v.53, 247-280, 2007.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, 71-81, 2002.
- SOUZA, J. N. S. **Etude des propriétés antioxydantes in vivo d’extraits de feuilles de *Byrsonima crassifolia* et *Inga edulis* et caractérisation partielle des composés phénoliques**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculte d’ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium, 2007.
- TEISSEDRE, P. L.; FRANKEL, E. N.; WATERHOUSE, A. L.; PELLEG, H. GERMAN, J. B. Inhibition of in Vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidant from grapes and wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 70, 55-61, 1996.
- TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v.24, n.6, 808-818, 2001.
- 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**. v. 3, 178-181, 1992.

- TREYBAL, R. E. **Mass transfer operations 3^{ed}**. McGrall Hill. 1981.
- 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**. v. 1018, 29-40, 2003.
- VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Holanda: Springer, 2006. 285f.
- YAMAMOTO, S.; HAKODA, M.; ODA, T.; HOSONO, M. Rational method for designing efficient separations by chromatography on polystyrene-divinylbenzene resins elued with aqueous ethanol, **Journal of Chromatography A**, v. 1162, 50-55, 2007.
- YANG, R. T. **Adsorbents: Fundamentals and Application**. New Jersey: John & Wiley, Inc., 2003. 425f.
- 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 and Functional Polymers**, v. 68, 768-774, 2008.
- ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M. H. Chemistry, natural souces, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. **Food chemistry**. v. 109, 691-702, 2008.