

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**EXTRAÇÃO DE CORANTES DE URUCUM POR
PROCESSOS ADSORTIVOS UTILIZANDO ARGILAS
COMERCIAIS E *COLLOIDAL GAS APHRONS***

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do
Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção
do título de Doutor em Engenharia Química**

Ricardo Wissmann Alves

**Orientador: Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Paula Jauregi**

**Florianópolis – SC
Fevereiro 2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Aos meus pais

***“Nunca ande pelo caminho
traçado, pois ele conduz
somente até onde os outros
foram”***

Graham Bell

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza e prof^a Dr^a Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza pela paciência, incentivo, conhecimentos à mim passados e pela amizade. À minha co-orientadora no exterior, prof^a Dr^a Paula Jauregi, também por sua paciência, entusiasmo, dedicação e amizade.

Aos professores Dr^a Marta Cristina Teixeira Duarte, Dr^a Teresa Massako Kakuta Ravagnani, Dr^a Edna Regina Amante, Dr^a Regina de Fátima Peralta Muniz Moreira e Dr^a Heloísa de Lima Brandão pela participação na banca examinadora, contribuindo para este trabalho.

Aos meus colegas do laboratório – LABMASSA, em especial ao Juarez, Luciane, Jaime, Lucile, Heloísa, Heloysa, Gabi, Anderson e Clarice pela amizade, discussões de trabalho e pelas boas risadas que me proporcionaram e; aos meus amigos dos laboratórios da Universidade de Reading – Escola de Biociência dos Alimentos, em especial a Elisabeth que, com seu conhecimento e bom humor me ajudou muito no meu trabalho.

Aos meus colegas de Doutorado, Cris, Vivi, Cíntia, Audrei e Cláudia, pelo apoio sempre. Em especial a Cris que de uma forma ou de outra sempre esteve por perto.

Ao Departamento de Engenharia Química, em especial a coordenadoria de Pós-Graduação pelo suporte.

Aos professores do Departamento de Engenharia Química que contribuíram para o meu aprendizado e crescimento.

Ao secretário da coordenação do CPGENQ, o amigo Edevilson da Silva, pela sua amizade, atenção e estar sempre disposto a ajudar nos mais diversos problemas.

A CAPES pelas bolsas de Doutorado e Doutorado Sanduíche, permitindo o desenvolvimento deste trabalho.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, seja por conhecimentos técnicos ou por apenas um sorriso.

Aos meus pais, José Valdemar e Vanda, por terem sempre me incentivado a estudar e ser uma pessoa íntegra e, pelo apoio incondicional. A minha irmã Ruth que sempre esteve do meu lado e me apoiou.

A Deus por ter me mantido sempre íntegro e me dar forças quando mais precisei.

ÍNDICE

| | |
|--|------------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | x |
| ÍNDICE DE TABELAS | xiv |
| RESUMO..... | xv |
| ABSTRACT..... | xvi |
| 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS | 1 |
| 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 5 |
| 2.1 – Pigmentos..... | 5 |
| 2.1.1 – Classificação | 5 |
| 2.2 – Pigmentos Naturais | 9 |
| 2.2.1 – Razões para Utilizar Aditivos de Cor | 10 |
| 2.2.2 – Importância dos Corantes Naturais | 10 |
| 2.3 – Carotenóides | 12 |
| 2.3.1 – Classificação | 13 |
| 2.3.2 – Distribuição | 15 |
| 2.3.3 – Carotenóides como Antioxidantes | 15 |
| 2.3.4 – Efeitos Farmacológicos..... | 16 |
| 2.4 – O Urucum..... | 17 |
| 2.4.1 – Usos e Utilidades | 20 |
| 2.4.2 – Propriedades dos Pigmentos | 24 |
| 2.4.3 – Degradação | 29 |
| 2.4.4 – Toxicologia | 31 |
| 2.5 – Processos de Obtenção de Corantes de Urucum | 32 |
| 2.5.1 – Processos de Extração Mecânica | 33 |
| 2.5.2 – Processos de Extração com Solventes | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 2.6 – Procedimentos Analíticos Utilizados na Análise da Bixina/Norbixina .. | 41 |
| 2.6.1 – Métodos Espectrofotométricos | 41 |
| 2.6.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) | 44 |
| 2.6.3 – Cromatografia em Camada Delgada | 46 |
| 2.6.4 – Cromatografia em Papel..... | 47 |
| 2.7 – Adsorção..... | 48 |
| 2.7.1 – Forças e Energias de Adsorção | 54 |
| 2.7.2 – Equilíbrio de Adsorção..... | 55 |
| 2.7.3 – Isotermas de Adsorção | 56 |
| 2.7.4 – Interpretação das Isotermas | 58 |
| 2.7.5 – Cinética de Adsorção | 59 |
| 2.7.6 – Adsorção em Fase Líquida | 61 |
| 2.7.7 – Regeneração do Adsorvente | 62 |
| 2.7.8 – Tipos de Adsorventes..... | 65 |
| 2.8 – Colóides | 78 |
| 2.9 – Surfactantes | 78 |
| 2.10 – Colloidal Gas Aphrons (CGA) | 80 |
| 2.10.1 – Geração de CGAs | 84 |
| 2.10.2 – Estabilidade de CGAs..... | 84 |
| 2.10.3 – Caracterização de CGAs | 86 |
| 2.10.4 – Usos de CGA..... | 87 |
| 3 – MATERIAL E MÉTODOS | 89 |
| 3.1 – Sementes de Urucum..... | 89 |
| 3.2 – Adsorventes | 90 |
| 3.3 – Padrão de Bixina | 91 |
| 3.4 – Reagentes e Materiais Diversos | 91 |
| 3.5 – Equipamentos | 92 |

| | |
|---|------------|
| 3.6 – Extração dos Pigmentos | 93 |
| 3.7 – Determinação de Bixina na Semente | 94 |
| 3.8 – Determinação de Norbixina na Semente..... | 95 |
| 3.9 – Determinação de Umidade na Semente | 96 |
| 3.10 – Teste dos Adsorventes – Adsorção e Dessorção de Bixina | 97 |
| 3.11 – Geração das CGAs..... | 98 |
| 3.12 – Extração de Norbixina Utilizando CGAs | 99 |
| 3.13 – Análise do Surfactante | 101 |
| 3.14 – Concentração Micelar Crítica (CMC) | 102 |
| 3.15 – Tempo de Meia-Vida e Gás <i>Hold-up</i> | 103 |
| 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO | 106 |
| 4.4 – Padrão de Bixina | 106 |
| 4.1 – Testes de Adsorção com Acetato de Etila..... | 108 |
| 4.1.1 – Outros Adsorventes | 118 |
| 4.2 – Testes de Adsorção com Clorofórmio | 121 |
| 4.3 – Testes de Dessorção | 125 |
| 4.5 – <i>Colloidal Gas aphrons</i> | 129 |
| 4.5.1 – Estabilidade, Gás <i>hold-up</i> e CMC | 129 |
| 4.5.2 – Recuperação de Norbixina..... | 134 |
| 4.5.3 – Mecanismo de Separação | 139 |
| 5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES | 143 |
| 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 146 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1 – Molécula de um Carotenóide..... | 13 |
| Figura 2 – Estruturas de Alguns Carotenóides | 14 |
| Figura 3 – O Urucuzeiro com suas Cápsulas..... | 18 |
| Figura 4 – Cápsulas e Flores do Urucuzeiro..... | 19 |
| Figura 5 – Corte Longitudinal de uma Cápsula de Urucum..... | 19 |
| Figura 6 – Estrutura Molecular da Bixina: $C_{25}H_{30}O_4$ (pm 394,51)..... | 22 |
| Figura 7 – Estrutura Molecular da Norbixina: $C_{24}H_{28}O_4$ (pm 380,48)..... | 23 |
| Figura 8 – Estrutura Química dos Pigmentos do Urucum | 28 |
| Figura 9 – Classificação de Brunauer das Isotermas | 58 |
| Figura 10 – Isoterma de Adsorção de Capacidade Variável..... | 59 |
| Figura 11 – Processo de Adsorção em uma Partícula Adsorvente | 60 |
| Figura 12 – Esquemas de Dessorção | 63 |
| Figura 13 – <i>Colloidal Gas Aphron</i> | 81 |
| Figura 14 – Célula de Filtração..... | 93 |
| Figura 15 – Extração dos Pigmentos. (a) Extração dos Pigmentos das Sementes com Solução de KOH. (b) Filtração da Solução com os Pigmentos utilizando uma Célula de Filtração de Vidro com Nitrogênio.... | 94 |
| Figura 16 – Hélice de Quatro Pás do Agitador utilizado para Geração de CGAs | 99 |
| Figura 17 – Agitador utilizado para Geração de CGAs | 99 |
| Figura 18 – Extração de Norbixina utilizando CGAs | 101 |
| Figura 19 – Drenagem das CGAs em função do Tempo..... | 104 |
| Figura 20 – FTIR do Padrão de Bixina | 107 |
| Figura 21 – Espectro de Varredura do Padrão de Bixina em Clorofórmio | 108 |
| Figura 22 – Espectro de Adsorção em Solução de Acetato de Etila e Vários Adsorventes | 109 |
| Figura 23 – Comportamento da Adsorção em Engelhard com Acetato de Etila | 110 |
| Figura 24 – Cinética da Adsorção em Engelhard com Acetato de Etila | 110 |
| Figura 25 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Optimum 380 FF | 111 |

| | |
|--|------------|
| Figura 26 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Supreme 180 FF | 112 |
| Figura 27 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Actisil 280 FF | 112 |
| Figura 28 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Terrana 580 FF..... | 113 |
| Figura 29 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Engelhard F160 | 113 |
| Figura 30 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Solução com Polaridade Reduzida em 50 % e Adsorvente Engelhard F160 | 114 |
| Figura 31 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 3,44..... | 115 |
| Figura 32 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 3,01..... | 115 |
| Figura 33 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 2,15..... | 116 |
| Figura 34 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 1,72..... | 116 |
| Figura 35 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 1,29..... | 117 |
| Figura 36 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução Diluída de Acetato de Etila com Polaridade de 4,30..... | 118 |
| Figura 37 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita L como Adsorvente..... | 119 |
| Figura 38 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita Y como Adsorvente..... | 119 |
| Figura 39 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita ZSM5 como Adsorvente..... | 120 |
| Figura 40 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Sílica Gel como Adsorvente..... | 120 |
| Figura 41 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Optimum 380 FF como adsorvente | 122 |

| | |
|--|------------|
| Figura 42 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Supreme 180 FF como adsorvente | 122 |
| Figura 43 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Terrana 580 FF como adsorvente | 123 |
| Figura 44 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Engelhard F160 como adsorvente | 123 |
| Figura 45 – Isotermas de Adsorção da Bixina em Clorofórmio | 125 |
| Figura 46 – Dessorção Optimum 380 FF em Acetona..... | 126 |
| Figura 47 – Dessorção Supreme 180 FF em Acetona | 126 |
| Figura 48 – Dessorção Terrana 580 FF em Acetona | 127 |
| Figura 49 – Dessorção Engelhard F160 em Acetona | 127 |
| Figura 50 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 1 mmol/L de CTAB pH 8..... | 130 |
| Figura 51 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 4 mmol/L de CTAB pH 8..... | 130 |
| Figura 52 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 2 mmol/L de CTAB pH 6..... | 131 |
| Figura 53 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 2 mmol/L de CTAB pH 8..... | 131 |
| Figura 54 – Gás <i>hold-up</i> das CGAs geradas a partir de Soluções 1, 2 e 4 mmol/L de CTAB | 132 |
| Figura 55 – Tempo de Meia-vida das CGAs geradas a partir de Soluções 1, 2 e 4 mmol/L de CTAB | 133 |
| Figura 56 – Tensão Superficial em função do Log da Concentração de CTAB | 134 |
| Figura 57 – Recuperação de Norbixina na Fase CGA para quatro Soluções Diferentes de CTAB e uma Solução de AOT..... | 135 |
| Figura 58 – Razão Molar Surfactante/Norbixina | 135 |
| Figura 59 – Solução Inicial de Pigmentos de Urucum | 137 |
| Figura 60 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 1 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL | 137 |

- Figura 61 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 2 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL 138**
- Figura 62 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 4 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL 138**
- Figura 63 – Mecanismo de Formação do Complexo Norbixina-CTAB 140**

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|------------|
| Tabela 1 – Resultados das Análises Espectroscópicas UV/Visível | 26 |
| Tabela 2 – Nome e Peso Molecular dos Pigmentos das Sementes de Urucum..... | 27 |
| Tabela 3 – Valores de R_f e R Relativos ao Oil Yellow AB para a Bixina e Compostos Relacionados | 48 |
| Tabela 4 – Tipos de Adsorção..... | 53 |
| Tabela 5 – Estrutura da Superfície e Área dos Adsorventes..... | 66 |
| Tabela 6 – Características dos Adsorventes | 90 |
| Tabela 7 – Composição Química Média dos Adsorventes | 91 |
| Tabela 8 – Matriz dos Ensaio de Recuperação de Norbixina | 105 |
| Tabela 9 – Adsorção dos Corantes de Urucum Extraídos de Sementes sem Óleo | 114 |
| Tabela 10 – Adsorção dos Corantes de Urucum para Outros Adsorventes Utilizados em relação ao Tempo..... | 121 |
| Tabela 11 – Adsorção dos Corantes de Urucum em Clorofórmio | 124 |

RESUMO

A utilização de produtos naturais em substituição aos sintéticos na indústria alimentícia, em especial os corantes, é uma tendência mundial demonstrada pelo mercado globalizado e pelas restrições impostas pela Organização Mundial de Saúde. O urucum é um dos principais corantes naturais para alimentos utilizado mundialmente e seu principal pigmento é o carotenóide bixina, que representa mais de 80% dos carotenóides totais contidos na semente. A norbixina é um ácido dicarboxílico derivado da hidrólise da bixina. O objetivo deste trabalho foi o estudo de processos adsorptivos utilizando argilas comerciais e *colloidal gas apheresis* (CGAs) para obtenção de um produto com concentração elevada de bixina (utilizando argilas comerciais) ou norbixina (por *colloidal gas apheresis*), a partir da extração de pigmentos das sementes de urucum. O processo utilizando argilas comerciais foi realizado por ensaios de adsorção da bixina nas mesmas a partir de soluções brutas de extração dos pigmentos com acetato de etila e clorofórmio e posterior dessorção utilizando acetona. Outro processo estudado utilizando *colloidal gas apheresis*, que são microbolhas encapsuladas por camadas de surfactante, foi realizado utilizando um surfactante catiônico e um aniônico. Para este processo, partiu-se de uma solução bruta de extração dos pigmentos das sementes com KOH 0,5% e as CGAs geradas serviram como material adsorvente para a norbixina presente na solução bruta. Pelos resultados obtidos, a adsorção da bixina utilizando argilas comerciais mostrou-se eficiente, porém sua dessorção foi baixa. O processo utilizando CGAs geradas por um surfactante catiônico (CTAB) mostrou-se um processo viável, com boa recuperação da norbixina, sendo a máxima de 94%.

ABSTRACT

The use of natural products instead of synthetic ones in the food industry, especially dyes, is a worldwide tendency demonstrated by the globalized market and for the imposed restrictions of the World Health Organisation. Annatto is one of the main natural dyes used in food worldwide, and its main pigment is the carotenoid bixin, which represents more than 80% of the total carotenoids found in the seed. Norbixin is a dicarboxylic acid resultant from bixin hydrolysis. The aim of this work was the study of adsorptive processes using commercial clays and colloidal gas aphrons (CGAs) to obtain a product with high bixin content (using commercial clays) or high norbixin content (using colloidal gas aphrons), from pigments extracted from annatto seeds. The process using commercial clays was carried out through the adsorption of bixin into them from raw extraction solutions of pigments in ethyl acetate and chloroform, and further desorption using acetone. Another process was studied using colloidal gas aphrons, which are microbubbles encapsulated by surfactant layers, was carried out using a cationic and an anionic surfactant. For this process, the generated CGAs were the adsorbent material for norbixin presented in the raw extraction solution of pigments in KOH 0.5%. According to the obtained results, bixin adsorption using commercial clays have shown to be efficient, however its desorption was low. The process using CGAs generated from a cationic surfactant (CTAB) has shown a viable process, with a good norbixin recovery, where the best recovery achieved was 94%.

1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A tendência demonstrada pelo mercado globalizado, em restringir o uso de corantes sintéticos em alimentos e as restrições impostas pela Organização Mundial de Saúde tem levado a indústria e pesquisadores ao interesse por materiais naturais, em particular os vegetais, que são usados como corantes.

A cor está associada com muitos aspectos da nossa vida. Com relação aos alimentos, os principais fatores para avaliar a qualidade de um alimento são a cor, o sabor e a textura. A cor pode ser considerada a mais importante delas, porque se não for apelativa, os consumidores não desfrutarão do sabor e textura de qualquer alimento.

A cor também pode ser a chave para catalogar o alimento como seguro, com boas características estéticas e sensoriais: as cores indesejáveis na carne, frutas e vegetais nos avisam sobre um perigo potencial ou pelo menos da presença de sabores indesejáveis, entre outras reações. Muitos estudos têm enfatizado a relação da cor com o limite de detecção de sabor, com as sensações de doçura ou salinidade, com a susceptibilidade e preferência por produtos. A cor que vemos em um alimento, claramente indica o sabor que iremos provar. Em uma indústria alimentícia, por exemplo, se o produto fabricado possuir uma cor de morango, ela

pode indicar ao consumidor uma alta qualidade do produto, enquanto que um produto com uma cor fraca ou cor fracamente brilhante pode indicar um produto de baixa qualidade ou inferior.

O urucum é um dos principais corantes naturais utilizados mundialmente. Características raras, como a obtenção de extratos hidrossolúveis ou lipossolúveis a partir de uma mesma matéria-prima e a estabilidade conferida por sua propriedade de se ligar a determinadas proteínas faz do urucum um dos principais corantes naturais para alimentos utilizados em todo o mundo. Além desta aplicabilidade na indústria alimentícia, vários outros segmentos utilizam este corante, como no tingimento de tecidos, para dar cores aos vernizes, em rações para aves, na medicina, produtos farmacológicos e em cosméticos.

O Brasil é considerado o terceiro mais importante exportador mundial de sementes de urucum, depois do Peru e Quênia, contudo a qualidade do produto brasileiro no mercado internacional é considerada baixa (FARIA e ROCHA, 2000). Os maiores importadores são os Estados Unidos, Reino Unido, França, Japão e Venezuela (SILVA, 1999).

O principal pigmento do urucum é o carotenóide bixina e, representa mais de 80 % dos carotenóides totais presentes na semente. Sua tonalidade varia entre o amarelo e o vermelho. É estável em alimentos processados na presença de agentes redutores e oxidantes, a bixina supera algumas das desvantagens dos corantes sintéticos do tipo azo, que têm elevada reatividade em relação aos agentes oxidantes (cloro, hipoclorito) e redutores (dióxido de enxofre, ácidos ascórbico e cítrico e alguns flavorizantes). Essa reatividade dos corantes artificiais causa descoloração nos alimentos industrializados onde estão presentes.

Os corantes de urucum são obtidos por processos mecânicos através de atrição e raspagem das sementes ou por extração com solventes. As diferenças nas propriedades corantes dos extratos de sementes de urucum resultam dos processos de extração, onde há, muitas vezes, a formação de produtos com diferentes tonalidades e solubilidades. A bixina apresenta instabilidade, sofrendo degradação quando exposta a certas condições de temperatura, luz e ar (FARIA, 1998 e NAJAR *et al.*, 1988). Em determinados processos de secagem pode ocorrer oxidação e reações de isomerização levando a degradação. A temperatura do processo de extração dos pigmentos é a principal responsável pelo balanço vermelho/amarelo da coloração. Portanto, o incremento de tecnologias de processamento mais eficazes poderá contribuir significativamente na qualidade do produto final (corante), bem como no uso mais racional da matéria-prima (sementes).

Os processos de extração do corante atualmente existentes não garantem uma padronização do produto final nem a obtenção de um extrato com pureza elevada e, normalmente a separação seletiva não pode ser eficientemente alcançada utilizando técnicas comerciais como a filtração e centrifugação.

Este trabalho tem seu foco centrado no desenvolvimento tecnológico de um processo para a obtenção de um bioproduto de grande interesse, no qual o Brasil é o terceiro maior produtor mundial.

O trabalho foi desenvolvido em duas partes, onde se iniciou com um processo de adsorção utilizando argilas comerciais com o objetivo de adsorver bixina a partir de uma solução de extração dos pigmentos das sementes de urucum, e posterior dessorção da bixina para a obtenção de um produto concentrado. O processo de adsorção mostrou-se altamente eficiente, porém a dessorção da bixina não foi

satisfatória. Então, um novo processo utilizando uma nova tecnologia de adsorção, por *colloidal gas aphrons* (CGAs), foi estudado.

CGAs consiste na utilização de microbolhas encapsuladas por camadas de surfactante agindo como adsorventes. Este processo tem ampla faixa de aplicações em biotecnologia. Foi utilizado um surfactante catiônico (Brometo de cetiltrimetilamônio - CTAB) e um surfactante aniônico (di-[2-etilhexil] sulfosuccinato de sódio - AOT) para a geração das CGAs, com variação de parâmetros de concentração do surfactante, volume de CGAs e pH.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Pigmentos

Pigmentos são compostos químicos que absorvem luz na faixa de comprimento de onda da região do visível. A cor produzida é devida a uma estrutura específica de molécula (cromóforo); esta estrutura captura a energia e a excitação que é produzida por um elétron de um orbital externo a um orbital maior; a energia não absorvida é refletida e/ou refratada para ser capturada pelo olho, e impulsos neurais gerados são transmitidos ao cérebro onde eles podem ser interpretados como uma cor (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000).

2.1.1 – Classificação

De acordo com DELGADO-VARGAS *et al.* (2000), os pigmentos podem ser classificados por suas origens, pela estrutura química do cromóforo, pelas características estruturais dos pigmentos naturais ou ainda como aditivos de alimentos.

2.1.1.1 – Por suas origens

Os pigmentos podem ser classificados por suas origens como naturais, sintéticos ou inorgânicos. Os pigmentos naturais são produzidos por organismos vivos tais como as plantas, animais, fungos superiores e microrganismos. Os pigmentos sintéticos são obtidos em laboratório. Ambos pigmentos, naturais e sintéticos, são compostos orgânicos. Os pigmentos inorgânicos podem ser encontrados na natureza ou reproduzidos por síntese.

2.1.1.2 – Pela estrutura química do cromóforo

Os pigmentos podem ainda ser classificados levando em consideração a estrutura química do cromóforo como:

- Cromóforo com sistemas conjugados: carotenóides, antocianinas, betalainas, caramelo, pigmentos sintéticos e lacas.
- Porfirinas metal-coordenadas: mioglobina, clorofila e seus derivados.

2.1.1.3 – Pelas características estruturais dos pigmentos naturais

Os pigmentos naturais podem ser classificados por suas características estruturais como:

-
- Derivados tetrapirrólicos: clorofilas e heme. Estes compostos têm uma estrutura com anéis pirrólicos em disposições lineares ou cíclicas.
 - Derivados isoprenóides: carotenóides e iridóides. Os isoprenóides, também chamados de terpenóides, representam uma grande família de compostos naturais. Eles são encontrados em todos os reinos, onde executam múltiplas funções (hormônios, pigmentos, fitoalexinas). Cerca de 23.000 compostos isoprenóides individuais já foram identificados e muitas estruturas novas são relatadas anualmente. Por sua abundância e estrutura, dois subgrupos de compostos são considerados pigmentos: quinonas e carotenóides.
 - Compostos N-heterocíclicos diferentes de tetrapirróis: purinas (encontradas nos ácidos desoxirribonucléico e ribonucléico, DNA e RNA respectivamente), pterinas (presente em toda forma de vida – responsáveis pela cor de alguns insetos, olhos de vertebrados, urina humana e bactéria), flavinas (a riboflavina é o principal composto deste grupo e é sintetizada em todas as células vivas de microrganismos e plantas – a riboflavina é encontrada no leite e em uma ampla faixa de vegetais com folhas, carne e peixe), fenazinas (encontradas em bactérias), fenoxazinas (encontradas em fungos e insetos) e betalainas.
 - Derivados benzopiranos (compostos heterocíclicos oxigenados): antocianinas e outros pigmentos flavonóides, que são os metabólitos secundários mais estudados (dos flavonóides, as antocianinas são os pigmentos mais importantes; eles produzem cor do laranja ao azul em pétalas, frutas, folhas e raízes. Os flavonóides também contribuem para a

cor amarela das flores onde estão presentes com carotenóides ou sozinhos em 15 % das espécies de plantas).

- Quinonas: benzoquinona, naftoquinona, antraquinona. Este é o maior grupo em número e variação estrutural. Também são mais amplamente distribuídos do que outros pigmentos naturais (com exceção dos carotenóides e melaninas). As quinonas são encontradas em plantas.
- Melaninas: São compostos poliméricos nitrogenados cujo monômero é o anel indol. As melaninas são responsáveis pela maior parte das colorações preta, cinza e marrom dos animais, plantas e microrganismos.

2.1.1.4 – Como aditivos de alimentos

A classificação dos pigmentos com relação a aditivos de alimentos pela FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos é:

- Pigmento certificado. São pigmentos feitos pelo homem e subdivididos como pigmentos sintéticos e lacas.
- Pigmento isento de certificação. Este grupo inclui os pigmentos derivados de fontes naturais tais como vegetais, minerais ou animais, e os derivados de fontes naturais.

2.2 – Pigmentos Naturais

A cor está associada com muitos aspectos da vida humana, influenciando no vestuário, na alimentação, entre outros vários aspectos.

A cor, além de estar associada à estimulação do apetite, também pode ser um indicativo da degradação dos alimentos, causando um instinto de rejeição aos mesmos. Muitos estudos têm enfatizado a relação da cor com o limite de detecção de sabor, com as sensações de doçura ou salinidade, com a susceptibilidade e preferência por produtos. A cor que vemos em um alimento, claramente indica o sabor que iremos provar, por exemplo, se o produto fabricado possuir uma cor de morango, ela pode indicar ao consumidor uma alta qualidade do produto, enquanto que um produto com uma cor fraca ou cor fracamente brilhante pode indicar um produto de baixa qualidade ou inferior (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000 e DOWNHAM e COLLINS, 2000).

Os alimentos têm suas cores naturais próprias, e estas podem sofrer alterações pelo processamento, conservação e transporte das regiões produtoras aos centros consumidores. Para a manutenção de suas propriedades, alguns aditivos devem ser adicionados para permitir que tais produtos tenham uma aparência desejável e sejam seguros para o consumo. Assim, os aditivos são usados para simular as cores que são encontradas nos produtos naturais.

2.2.1 – Razões para Utilizar Aditivos de Cor

Conforme DELGADO-VARGAS *et al.*, (2000), pode-se justificar a utilização de aditivos de cor para:

1. Restaurar a aparência original do alimento devido à ocorrência de mudanças durante o processamento e armazenagem;
2. Assegurar a uniformidade de cor para evitar variações de tonalidade por variações sazonais;
3. Intensificar as cores que são normalmente encontradas nos alimentos e o consumidor associará esta cor melhorada com a qualidade do alimento;
4. Proteger o sabor e as vitaminas susceptíveis à luz;
5. Dar ao alimento uma aparência atrativa, enquanto que sem o aditivo o alimento não será um item apetitoso;
6. Preservar a identidade ou caráter pelo qual o alimento é reconhecido;
7. Assegurar o compromisso visual da qualidade do alimento.

2.2.2 – Importância dos Corantes Naturais

Desde as primeiras civilizações, os produtos naturais foram usados para dar uma apresentação atrativa aos produtos feitos pelo homem e até mesmo como pintura para o corpo. Açafrão e outras espécies eram usados freqüentemente para dar a cor amarela em diversos alimentos e existe evidência de que a manteiga era

pigmentada com estes produtos. As primeiras informações a respeito do uso de corantes derivados de minerais datam do século XIX; contudo alguns deles causaram sérios problemas de saúde. Cromato de chumbo e sulfato de cobre foram usados para pigmentar balas, mas no processo de pigmentação arsênico e outras impurezas eram adicionadas freqüentemente. Naquela época também começaram os usos de corantes de alcatrão e outros derivados de petróleo no processamento de alimentos, medicamentos e cosméticos (DOWNHAM e COLLINS, 2000).

Os corantes sintéticos têm sido usados por muitos anos. Em 1938 foi reconhecido o uso de aproximadamente 200 e hoje em dia somente sete podem ser usados na pigmentação de alimentos. Contudo, nos últimos 30 anos os aditivos sintéticos têm sido severamente criticados, e os consumidores mostram uma rejeição a estes produtos e especialmente devido aos efeitos carcinogênicos associados, aumentando assim a demanda pelos corantes naturais.

No período de 1960 a 1970 nos Estados Unidos, os movimentos ativistas ambientais fizeram uma intensa campanha contra os aditivos sintéticos para alimentos, e esta atitude foi convertida em um fenômeno mundial. Atualmente, o número de vantagens dos corantes naturais sobre os sintéticos tem aumentado devido às propriedades farmacológicas associadas aos pigmentos naturais.

Em 1994, o mercado de corantes naturais teve um valor estimado de 250 milhões de dólares, e 65 % deste valor correspondeu aos aditivos de cor para alimentos, com uma taxa de crescimento anual de 5 a 10 % em relação a 3 a 5 % para os pigmentos sintéticos. Contudo, é necessário observar que os corantes sintéticos possuem vantagens bem conhecidas sobre os corantes naturais baseado no alto poder de pigmentação, estabilidade, armazenagem, facilidade no

processamento e são mais baratos e disponíveis em quantidades ilimitadas. Por outro lado, alguns produtos possuem um bom valor de mercado somente se eles forem coloridos com produtos naturais, como por exemplo, na manufatura do queijo Cheddar, somente o pigmento de urucum é utilizado e na pigmentação de produtos de frango, sendo que corantes sintéticos não são adequados.

De acordo com DELGADO-VARGAS *et al.* (2000), apesar de todas estas informações a respeito dos corantes naturais e considerando-se o grande número de artigos sobre corantes naturais, leva a crer que a área destes corantes para alimentos é muito ativa, mas de fato não é, porque a maioria deles não é aplicável em nível industrial por não atenderem os requisitos econômicos, legais e de segurança que a maior parte dos governos têm estabelecido para os aditivos de alimentos.

2.3 – Carotenóides

O termo carotenóides se refere a um grupo de pigmentos de cor amarela a vermelha, os quais são amplamente distribuídos: nos reinos vegetal e animal, fungos e bactérias (KARRER e JUCKER, 1950 e DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000).

Em geral, são compostos que possuem oito unidades isoprenóides cuja ordem é invertida no centro da molécula (Figura 1). Todos os carotenóides podem ser considerados como derivados do licopeno ($C_{40}H_{56}$) por reações envolvendo: (1) hidrogenação, (2) deshidrogenação, (3) ciclização, (4) inserção de oxigênio, (5)

migração de dupla ligação, (6) migração metil, (7) alongação de cadeia e (8) encurtamento de cadeia (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000).

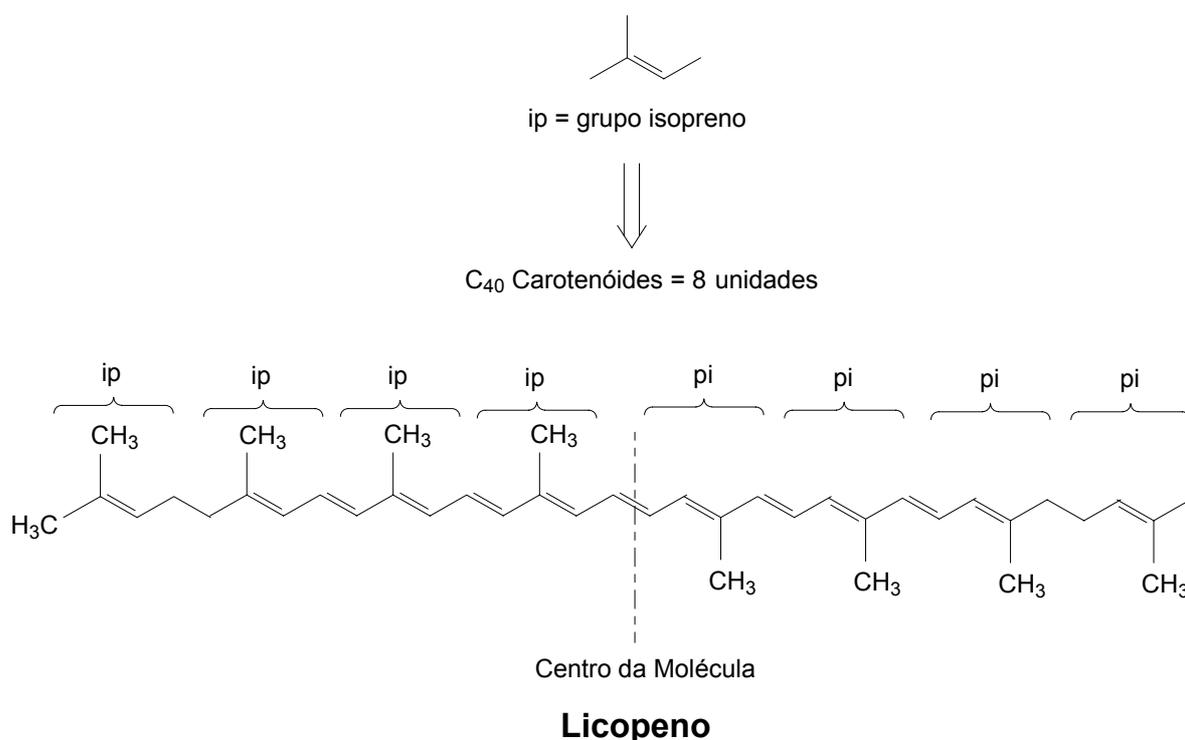


Figura 1 – Molécula de um Carotenóide

2.3.1 – Classificação

Os carotenóides são classificados por sua estrutura química: carotenos que são constituídos por carbono e hidrogênio e oxicarotenóides ou xantofilas que possuem carbono, hidrogênio e oxigênio.

Ainda, os carotenóides têm sido classificados como primários ou secundários. Os carotenóides primários agrupam os compostos requeridos pelas plantas na fotossíntese (β -caroteno, violaxantina e neoxantina), enquanto que os carotenóides secundários estão localizados nas frutas e flores (α -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina, capsantina, capsorubina).

Algumas estruturas de carotenóides são mostradas na Figura 2.

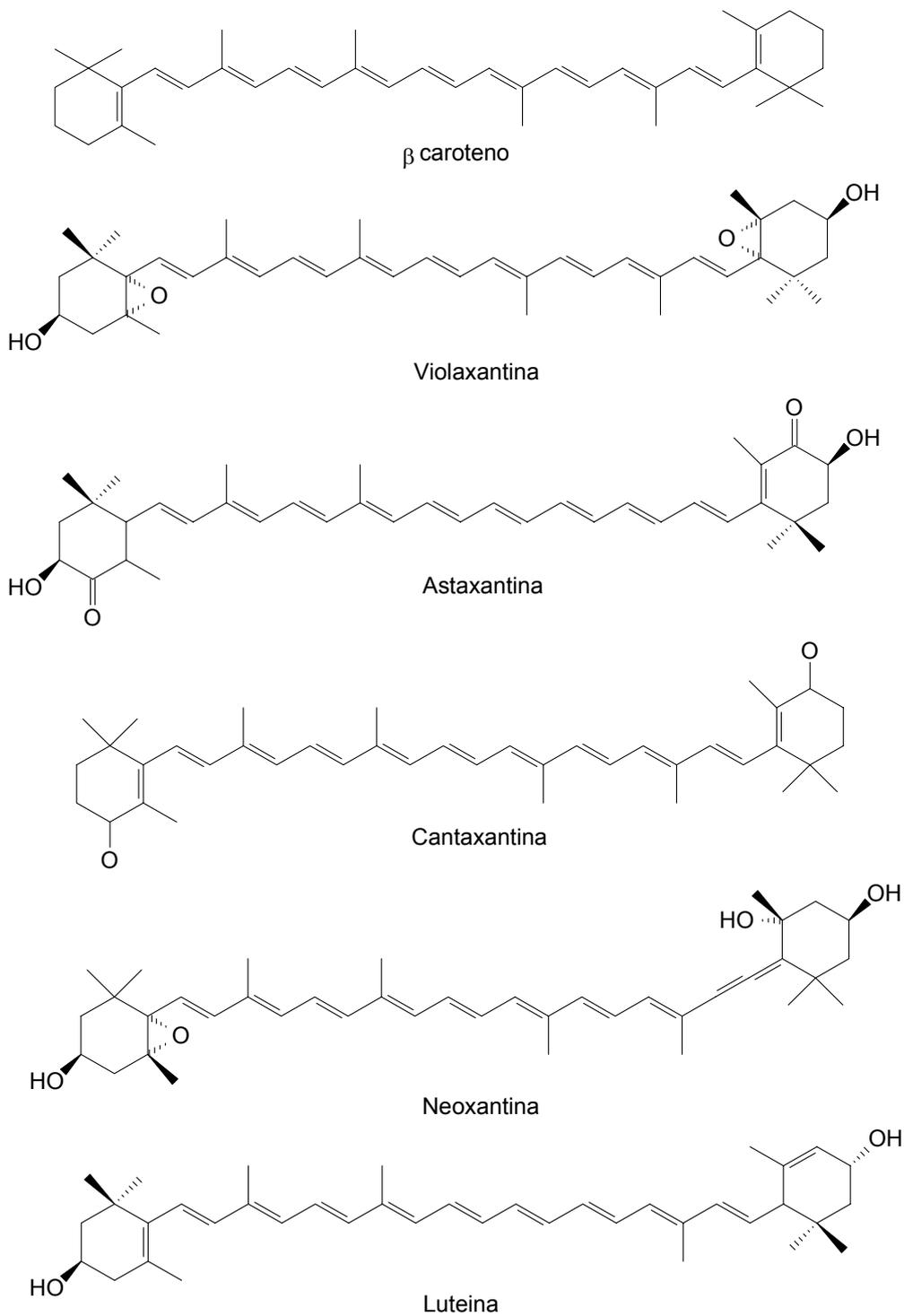


Figura 2 – Estruturas de Alguns Carotenóides

2.3.2 – Distribuição

Os carotenóides são o grupo de pigmentos mais amplamente distribuído. Eles têm sido identificados em organismos fotossintéticos e não fotossintéticos: em plantas superiores, algas, fungos, bactérias, e em pelo menos uma espécie de cada forma de vida animal. Os carotenóides são responsáveis por muitas das cores brilhantes, como o vermelho, laranja e amarelo, das frutas, vegetais, fungos, flores, e também pássaros, insetos, crustáceos e trutas. Somente os microrganismos e plantas podem sintetizar os carotenóides; os carotenóides em animais provém destas duas fontes, embora eles possam ser modificados durante seu metabolismo para serem acumulados nos tecidos.

Mais de 300 carotenóides foram identificados até 1972, e cerca de 600 até 1992. Na verdade, este número já foi excedido considerando que muitos carotenóides foram isolados de organismos marinhos. A produção total de carotenóides na natureza foi estimada em 10^8 toneladas por ano, e sua maior parte está concentrada em quatro carotenóides: fucoxantina, em algas marinhas; luteína, violaxantina, e neoxantina, em folhas verdes (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000 e DOWNHAM e COLLINS, 2000).

2.3.3 – Carotenóides como Antioxidantes

Os carotenóides executam várias funções biológicas. Em particular, eles têm um importante papel na proteção da célula como antioxidantes contra radicais livres

e espécies de oxigênio reativas, como o oxigênio molecular *singlet* (MONTENEGRO *et al.*, 2002 e KIOKIAS e GORDON, 2003).

Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que o papel fotoprotetor dos carotenóides está relacionado com sua atividade antioxidante ou com a modulação de outros antioxidantes celulares. Ainda, foi estabelecido que a estrutura dos carotenóides tem uma grande influência na sua atividade antioxidante; por exemplo, a cantaxantina e a astaxantina mostram melhor atividade antioxidante do que o β -caroteno ou a zeaxantina (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000 e DOWNHAM e COLLINS, 2000).

A atividade antioxidante da luteína, licopeno, urucum, β -caroteno e γ -tocoferol foi avaliada em triglicerídios sob efeito do ar e da luz. Foi relatado que a luteína, o licopeno e o β -caroteno atuam como pro-oxidantes, favorecendo a formação de hidroperóxidos; contudo, se uma pequena quantidade de γ -tocoferol for adicionada a estes pigmentos, o fenômeno é revertido e eles atuam como antioxidantes com uma atividade mais alta do que o γ -tocoferol. O urucum mostrou atividade antioxidante, contudo, isto poderia ser devido a compostos fluorescentes desconhecidos. Foi sugerido que os carotenóides podem ser usados em alimentos para prevenir a degradação de outros componentes (HAILA *et al.*, 1996 e DOWNHAM e COLLINS, 2000).

2.3.4 – Efeitos Farmacológicos

Conforme DELGADO-VARGAS *et al.*, (2000), mais de 600 carotenóides são conhecidos, e 50 deles são consumidos em alimentos para serem transformados no

nutriente essencial, vitamina A que é necessária no processo de visão, manutenção epitelial, secreção das mucosas e reprodução.

Após sua absorção, estes carotenóides são metabolizados por uma ruptura oxidativa a retinal, ácido retinóico e pequenas quantidades de produtos de quebra. Os carotenóides são transportados por lipoproteínas plasmáticas. Os carotenóides protegem animais de laboratório de inflamações induzidas por UV e certos tipos de câncer.

Pesquisas têm mostrado que os carotenóides têm fornecido benefícios contra doenças relacionadas com a idade, contra algumas formas de câncer (em especial câncer de pulmão), acidente cardiovascular, degeneração macular e catarata (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000, DOWNHAM e COLLINS, 2000 e TAYLOR e HOBBS, 2001).

2.4 – O Urucum

O urucum é uma planta da família das Bixáceas e é conhecido pelo seu nome botânico por *Bixa orellana* L. O arbusto é originário da América Tropical, podendo atingir alturas entre 2 e 6 metros. Tem folhas codiformes, pontudas e dentadas.

Suas grandes flores são hermafroditas de cor azul róseo, com cinco pétalas nas extremidades dos galhos, formando fascículos; deles nascem cápsulas ovóides (cachopas) com dois ou três carpelos cobertos de espinhos flexíveis, contendo cada uma em média 54 sementes rodeadas de polpa mole, tenaz, vermelha, que constitui o pigmento propriamente dito.

As cápsulas são bi ou trivalvares e cada uma traz uma placenta linear no centro.

As folhas são caducas, caindo anualmente após a grande colheita no período de setembro a outubro (BALIANE, 1982 e GALINDO-CUSPINERA *et al.*, 2002). As Figuras 3, 4 e 5 mostram o urucuzeiro, suas cápsulas e flores e o corte de uma cápsula, respectivamente.



Figura 3 – O Urucuzeiro com suas Cápsulas

Fonte: www.tradewindsfruit.com/lipstick_tree5.jpg



Figura 4 – Cápsulas e Flores do Urucuzeiro

Fonte: http://www.rain-tree.com/Plant-Images/Bixa_orellana_p3jpg.jpg



Figura 5 – Corte Longitudinal de uma Cápsula de Urucum

Fonte: www.tobago.hm/folk/herb-pics/z-bixa1.jpg

A frutificação se inicia a partir do segundo ano; no terceiro, a produção já é considerada comercializável.

A colheita é feita manualmente, quando as cachopas se encontram secas no próprio pé. Existem dois períodos de colheita: um em março (safrinha) e outro em agosto/setembro (quando se dá a maior força da produção).

Na colheita, são usadas tesouras de podas ou podões, que cortando os galhos, retiram a inflorescência, contendo entre 15 e 20 cachopas. Estas, após colhidas, são levadas em balaios para terreiros ou depósitos, onde depois da secagem são imediatamente beneficiadas em máquinas fabricadas para tal fim. Essas máquinas separam as cachopas das sementes e as classificam para posteriormente serem embaladas em sacos de polietileno ou de estopa, onde se conservam por mais de cinco anos em perfeitas condições, sem nenhum tratamento fitossanitário. A máquina descachopadeira, movida a motor de 5 Hp, por exemplo, pode beneficiar até 200 sacos por dia.

O urucuzeiro pode viver até 50 anos, sendo de 30 a sua vida útil econômica (BALIANE, 1982).

A planta, devido à sua ampla distribuição geográfica, é responsável por mais de 50 nomes diferentes, conforme CARVALHO e HEIN (1989). Neste trabalho a planta será denominada como urucuzeiro e a semente por urucum.

São conhecidas, hoje, diversas variedades, entretanto, as mais comuns são: Focinho de rato, Cabeça de moleque, Peruana e Wagner. Esta última apresenta vantagens sobre as demais; além de possuir suas cachopas indeiscentes (não se abrem ao secar no pé) são trivalvares, tendo em média 104 sementes por cachopa, ou seja, o dobro das demais variedades nativas conhecidas (BALIANE, 1982).

2.4.1 – Usos e Utilidades

O objetivo final da cultura do urucuzeiro é a extração dos corantes bixina e norbixina. A bixina de coloração variando de vermelha a castanho avermelhada é

lipossolúvel e a norbixina de coloração castanho-avermelhado a castanho, é hidrossolúvel (FALESI, 1987).

Nos últimos cem anos, os corantes de urucum eram utilizados em laticínios com alto teor de gordura como, por exemplo, manteiga e queijos. Hoje em dia também são utilizados em uma ampla faixa de produtos como cereais, salgadinhos, sorventes e temperos (LANCASTER e LAWRENCE, 1996).

Conforme BALIANE (1982), outras utilizações industriais são dadas sob a forma de:

Colorau – obtido através da mistura do pó pigmentoso de urucum com fubá, este na proporção de 90%. É usado como condimento caseiro.

Óleo – produzido dos grãos, após a extração do pigmento e usado na composição de vários produtos industriais, um deles empregado no revestimento das laranjas, para lhes conferir melhor apresentação e conservação.

Pasta, pó solúvel e oleosos – na indústria, são usados para tingir tecidos, nas cores amarela, alaranjada e vermelha forte, e também para avivar e modificar certas tintas. São usados, ainda, para dar cores aos vernizes, às graxas animais – especialmente queijos, manteigas, margarinas e salsichas – aos sorvetes, picolés e refrigerantes, bem como às bebidas alcoólicas e carnes em geral.

Rações para aves em postura – o grão triturado do urucum entra na proporção de 0,8% nas rações avícolas, pois o caroteno influencia a pigmentação da casca e da gema dos ovos.

Medicina – como antidiarréico, antifebril. As sementes são reputadas como estomáticas e tonificantes do aparelho gastrointestinal. A massa do urucum é usada eficazmente nas queimaduras, evitando formação de bolhas.

Cosméticos – na fabricação de pós faciais, esmaltes, batons e creme bronzeador da pele.

2.4.1.1 – Extrato de Urucum

O extrato de urucum é conhecido como um dos mais antigos corantes (COLLINS, 1992), utilizado desde a antiguidade para a coloração de alimentos, têxteis e cosméticos. Tem sido utilizado nos Estados Unidos e Europa por cerca de 100 anos como um aditivo de cor a manteigas e queijos.

O principal princípio corante encontrado nos extratos a base de óleo ou gordura das sementes de urucum é o carotenóide bixina, indexado com o número 75120 EEC No. E 160b, que é o monometiléster do ácido dicarboxílico norbixina (WHO/FAO, 1976; KARRER e JUCKER, 1950). A estrutura molecular destes compostos é apresentada nas Figuras 6 e 7.

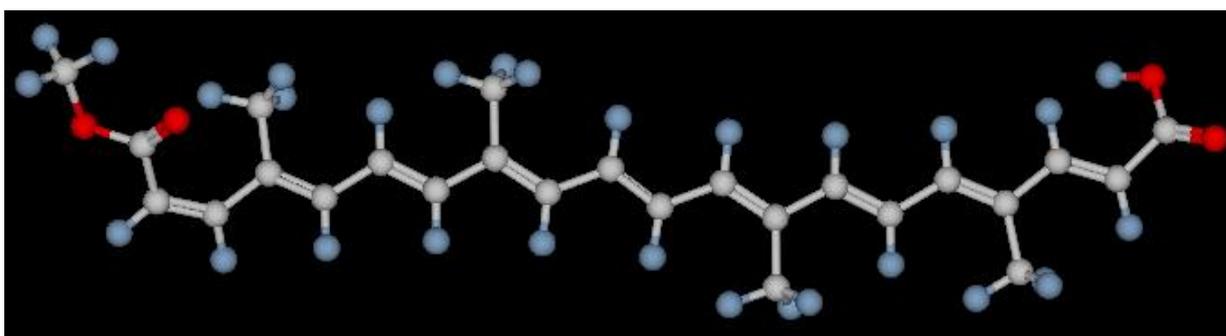


Figura 6 – Estrutura Molecular da Bixina: $C_{25}H_{30}O_4$ (pm 394,51)

O maior corante em extratos aquosos alcalinos é a norbixina:

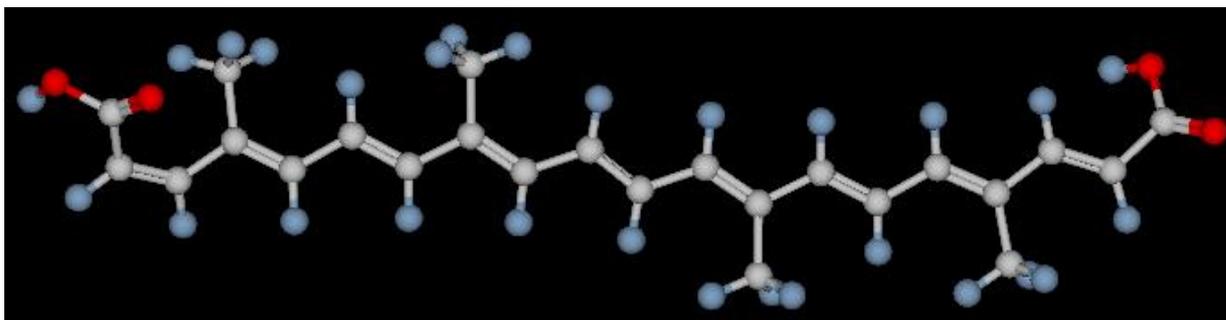


Figura 7 – Estrutura Molecular da Norbixina: $C_{24}H_{28}O_4$ (pm 380,48)

De acordo com BOUVIER *et al.* (2003), o mecanismo da biossíntese da bixina ainda não está esclarecido, contudo tem sido sugerido que um carotenóide C_{40} , provavelmente o licopeno, possa ser o precursor da bixina.

O extrato de urucum é vendido em diversas formas físicas, incluindo pó seco, emulsões de propilenoglicol/monoglicerídeos, soluções e suspensões de óleo e soluções aquosas alcalinas contendo de 0,1 a 30% de corante ativo calculado como bixina ou norbixina, como apropriado. É utilizado em produtos a níveis de 0,5 a 10 ppm como cor pura, resultando em tonalidades que variam do amarelo manteiga ao pêssego, dependendo do tipo de preparação de cor empregado e a coloração do produto (MARMION, 1991).

O comportamento químico do extrato de urucum é essencialmente o da bixina, um material cristalino vermelho-marrom que se funde a $198^{\circ}C$. É moderadamente estável à luz e tem boa estabilidade frente à oxidação, mudança de pH e ataque microbiano. A bixina é muito estável até temperaturas de $100^{\circ}C$, sendo pouco estável a temperaturas de 100 a $125^{\circ}C$, onde tende a formar o ácido 13-carbometoxi-4,8-dimetiltridecahexano-oico (MARMION, 1991).

A bixina foi o primeiro *cis*-carotenóide de ocorrência natural a ser isolado a partir de fontes naturais (COLLINS, 1992 e JONDIKO e PATTENDEN, 1989). Embora tenha sido isolado pela primeira vez em 1875, somente em 1961 a sua estrutura completa e estereoquímica foram estabelecidas através de estudos de ressonância magnética nuclear. A estereoquímica 9'-*cis* dada ao pigmento foi mais tarde confirmada através de síntese. A bixina pertence à relativamente pequena família dos apocarotenóides naturais cuja formação ocorre pela degradação oxidativa de carotenóides C₄₀. Outros exemplos de apocarotenóides incluem a crocetina, β-*apo*-10'-carotenal e β-citraurina. Embora algumas evidências suportem a proposta que certos apocarotenóides são derivados de degradações, nenhuma evidência detalhada com relação a bixina foi publicada (JONDIKO e PATTENDEN, 1989). O cromóforo da bixina é o sistema conjugado de duplas ligações que conferem a cor particular a bixina, mas estas ligações duplas conjugadas também são a fonte da susceptibilidade da bixina a alterações pelo oxigênio e esta é a maior causa da sua perda de cor, assim como em outros carotenóides (COLLINS, 1992).

2.4.2 – Propriedades dos Pigmentos

O teor de pigmentos presentes nas sementes de urucum varia de acordo com a variedade da cultura, do solo, do clima e dos tratamentos culturais, podendo encontrar sementes com menos de 1% e até com mais de 4% de bixina. A norbixina, também proveniente das sementes de urucum, tem poder de coloração similar à bixina e é o pigmento natural mais usado no Brasil, cerca de 80% do consumo. A conversão da bixina em norbixina é feita pela diluição da bixina em meio alcalino, que após a

separação e secagem é comercializada na forma de pó ou pasta (CARVALHO e HEIN, 1989).

CASTRO (1992) e FARIA (1998) fizeram uma compilação das propriedades dos extratos das sementes de urucum apresentadas por vários autores, comitês e organismos internacionais de controle de aditivos em alimentos e saúde. As propriedades mais importantes são apresentadas a seguir.

Propriedades da bixina: lipossolúvel, solúvel em clorofórmio, acetona, éter etílico, etanol etc. e insolúvel em água; absorvância máxima a 439 nm, 470 nm e 501 nm em clorofórmio e a 526 nm, 491 nm e 457 nm em dissulfeto de carbono; o coeficiente de extinção é $E_{1\text{cm}}^{1\%}(470) = 2826$ em $\text{CHCl}_3/10$ mg bixina pura; ponto de fusão 198°C ; coloração amarela em extrato diluído e vermelha escura em extrato concentrado; instável a luz e a temperaturas acima de 125°C .

Propriedades da norbixina: hidrossolúvel, insolúvel em álcool, propileno glicol, óleo e gordura; absorvância máxima a 527 nm, 491 nm e 458 nm em dissulfeto de carbono e ponto de fusão de 300°C . A norbixina é instável na presença de luz e em solução quando se muda o pH.

Propriedades do norbixato de sódio e potássio: solúvel em água, insolúvel em acetona, clorofórmio, éster, óleos e gorduras e moderadamente solúvel em álcool, e tem absorvância máxima a 454 e 482 nm para solução de 0,01% de NaOH.

SCOTTER *et al.* (1994) fizeram análise espectrofotométrica e em cromatografia líquida de alta eficiência em extrato para quantificar os pigmentos das sementes de urucum (*cis* e *trans* bixina e norbixina) e obtiveram os comprimentos de onda máximos, cujos valores encontrados estão de acordo com os propostos por

REITH e GIELEN (1971) e são apresentados na Tabela 1. Segundo WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA (1992) o método de quantificação dos carotenóides das sementes de urucum por cromatografia líquida de alta eficiência é menos preciso que por espectrofotometria. A quantificação deve ser feita através de padrões puros da bixina e da norbixina.

A *cis*-bixina, cerca de 80 % da bixina presente nas sementes de urucum, apresenta uma cor laranja e é insolúvel em água. A forma *cis* é mais instável e converte parcialmente na forma *trans* e no produto amarelo resultante da degradação térmica através de aquecimento no processamento (LANCASTER e LAWRENCE, 1996; e PRESTON e RICKARD, 1980). Porém a forma *cis* pode passar totalmente para a forma *trans* mais estável, quando em solução de clorofórmio na presença de iodo (CARVALHO e HEIN, 1989). A forma *trans* tem cor vermelha, é estável e é solúvel em óleo (PRESTON e RICKARD, 1980).

Tabela 1 – Resultados das Análises Espectroscópicas UV/Visível

| Composto | Solvente | Autor | Comprimento de Onda máximo (nm) | Coefficiente de Extinção ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) |
|-----------------|-------------------|-------|---------------------------------|---|
| cis-bixina | CHCl ₃ | A | 501 e 470 | 2880 e 3230 |
| cis-bixina | CHCl ₃ | B | 501 e 470 | 2773 e 3092 |
| trans-bixina | CHCl ₃ | A | 507 e 476 | 2970 e 3240 |
| trans-bixina | CHCl ₃ | B | 506 e 474 | 2853 e 3134 |
| cis-norbixina | 0,1 M NaOH | A | 482 e 453 | 2550 e 2850 |
| cis-norbixina | 0,1 M NaOH | B | 481 e 453 | 2503 e 2818 |
| trans-norbixina | 0,1 M NaOH | A | 486 e 457 | ND |
| trans-norbixina | 0,1 M NaOH | B | 487 e 456 | ND |

A = REITH e GIELEN (1971); B = SCOTTER *et al.* (1994); ND = não possível de determinar devido a baixa solubilidade.

A bixina é o mono-metil éster de um ácido dicarboxílico de um composto carotenóide; a norbixina é o ácido derivado da hidrólise deste éster e o produto de degradação possui estrutura C₁₇, (ácido 4,8-dimetiltetradecaheptaenoico).

McKEOWN (1961) determinou a estrutura deste pigmento amarelo produzido pela degradação térmica da bixina. SCOTTER (1995) caracterizou os produtos da degradação térmica da bixina e constatou que o principal produto de degradação térmica é o ácido 4,8-dimetiltetradecaheptaenoico (C₁₇). Este composto se isomeriza em solução para formar pequenas quantidades de isômeros *cis* e suscetíveis a hidrólise, formando vários compostos análogos a bixina e norbixina em termos de suas estruturas químicas e propriedades cromatográficas. O principal mecanismo foi postulado como um processo eletrolítico. Em estudos posteriores, SCOTTER *et al.* (2000) e SCOTTER *et al.* (2001), relataram ainda a formação de *m*-xileno e tolueno, porém este último em menores quantidades, juntamente com o produto de degradação C₁₇.

A Tabela 2 mostra as fórmulas e respectivos pesos moleculares da bixina e da norbixina nas formas *cis* e *trans* e do produto amarelo de degradação e a Figura 8 (FRANCIS, 1987) mostra as estruturas químicas destes compostos e seus derivados.

Tabela 2 – Nome e Peso Molecular dos Pigmentos das Sementes de Urucum

| Nome | Fórmula molecular | Peso Molecular |
|---|--|----------------|
| α -bixina ou <i>cis</i> -bixina | C ₂₅ H ₃₀ O ₄ | 394 |
| β -bixina ou <i>trans</i> -bixina | C ₂₅ H ₃₀ O ₄ | 394 |
| α -norbixina ou <i>cis</i> -norbixina | C ₂₄ H ₂₈ O ₄ | 380 |
| β -norbixina ou <i>trans</i> -norbixina | C ₂₄ H ₂₈ O ₄ | 380 |
| Produto amarelo de degradação | C ₁₇ H ₂₀ O ₄ | 288 |

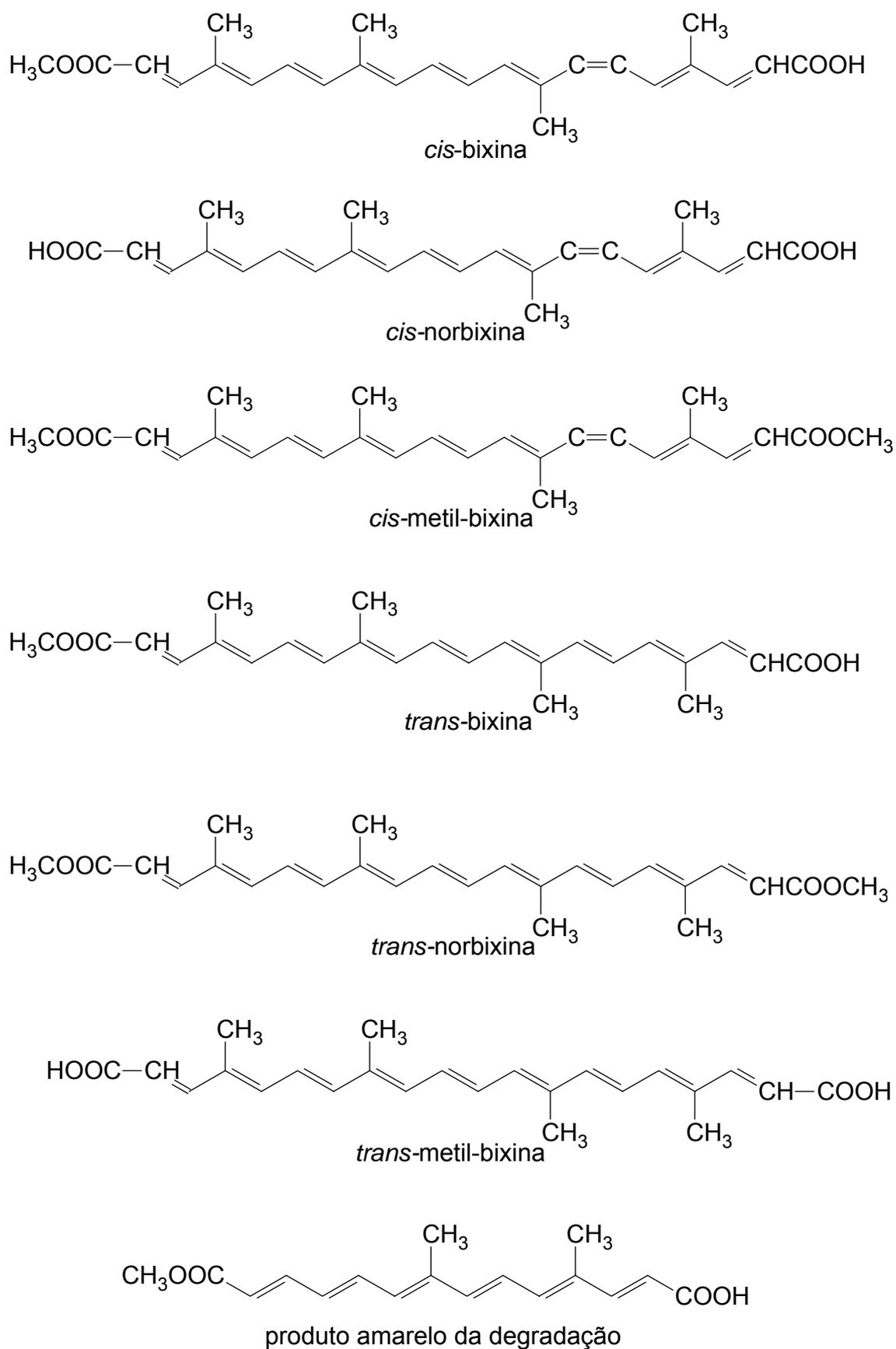


Figura 8 – Estrutura Química dos Pigmentos do Urucum

A instabilidade dos pigmentos do urucum pela luz, calor e pela oxidação na presença de alguns solventes é objeto de estudo de vários pesquisadores (FARIA, 1998). Estes estudos procuraram explicar o mecanismo da degradação e também tiveram como objetivo estabelecer faixas operacionais para o processamento destes pigmentos.

O extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo ar em meio anidro, mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luz, os quais são proporcionais à intensidade desta. A persistência da cor sob forte iluminação pode ser aumentada pela adição de palmitato de ascorbil. A presença de radicais livres ou, qualquer promotor dessas espécies em extratos de urucum deve ser evitada, pois estudos indicam que pode ocorrer uma perda rápida de cor sempre que for promovida a formação de radicais livres (NAJAR *et al.*, 1988).

As diferenças nas propriedades corantes dos extratos de sementes de urucum resultam dos processos de extração, onde há, muitas vezes, a formação de produtos com diferentes tonalidades e solubilidades (CARVALHO e HEIN, 1989).

2.4.3 – Degradação

IVERSEN e LAM (1953) mostraram que a bixina dissolvida em óleo vegetal ou outros solventes se submete a séries complexas de isomerizações e degradações quando aquecida a temperaturas de extração. Um pigmento amarelo foi isolado de uma preparação comercial de extrato de urucum. Utilizando o método de cromatografia em papel (McKEOWN, 1961), foi separada uma série de pigmentos a partir do extrato de urucum comercial. Os efeitos do tratamento térmico de um

extrato comercial podem ser observados em comparação com o extrato da semente *Bixa Orellana L.*

PINHEIRO *et al.* (1990) e SILVA (1991) analisaram a degradação da bixina durante o processamento das sementes de urucum em leite de jorro e compararam com o colorífico produzido com a semente natural e a semente processada.

CARVALHO *et al.* (1993b) estudaram a degradação de um corante sólido obtido por extração alcoólica dos pigmentos das sementes de urucum, em embalagens com diferentes taxas de permeabilidade ao oxigênio, a temperatura de 30 °C, por um período de 368 dias, concluindo que materiais de embalagens com taxas de permeabilidade ao oxigênio de até 42 cm³ (CNTP)/m²/dia a 25 °C conferiram adequada proteção ao produto durante um ano de estocagem a 30 °C e 90 % UR na ausência de luz. Tal barreira ao oxigênio pode ser obtida com estruturas co-extrudadas ou laminadas de nylon e polietileno de baixa densidade.

PASSOS *et al.* (1997) avaliaram a degradação térmica da bixina durante a secagem do extrato de urucum em leitos de jorro, por cromatografia líquida de alta eficiência, constatando que não há uma degradação térmica significativa a temperatura de 50 °C, quando comparada a uma secagem intensiva a temperatura de 105 °C.

ALVES (2001) e ALVES *et al.* (2002), estudaram o efeito do tempo de armazenagem das sementes de urucum em um processo mecânico de extração dos pigmentos e constataram que o percentual de corante no extrato final é função do tempo de armazenagem, sendo que para menores tempos de armazenagem, obtém-se maiores teores de corante. Este comportamento está em concordância com NAJAR *et al.* (1988), que mostraram que o extrato de urucum tem uma estabilidade

considerável à oxidação pelo ar em meio anidro, mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luz, os quais são proporcionais à intensidade da luz.

2.4.4 – Toxicologia

PAUMGARTTEN *et al.* (2002), avaliaram a toxicidade de extratos de urucum (28 % de bixina) em ratas. Quantidades de até 500 mg/kg de massa corporal/dia foram introduzidas diretamente no estômago das ratas grávidas, para avaliar o efeito nas mães e nos fetos. Nenhum efeito adverso foi relatado nas mães, nem nos fetos. O extrato de urucum não induziu nenhum aumento na incidência de anomalias externas visíveis, viscerais ou do esqueleto dos fetos. Portanto, o estudo sugere que o extrato de urucum não mostrou-se tóxico para as mães nem embriotóxico nos ratos.

Estudos realizados por LIMA *et al.* (2003), utilizando extratos de urucum na alimentação de ratos machos mostraram que, sob as concentrações estudadas, o extrato de urucum não apresentou atividade mutagênica ou antimutagênica nas células da medula dos ratos. HAGIWARA *et al.*, (2003) fizeram um estudo sobre a toxicidade de extratos de urucum (norbixina) em ratos machos e fêmeas, pela administração do extrato na alimentação por treze semanas. Nenhum efeito adverso foi observado nas dietas de 0,1 % (69 mg/kg de massa corporal/dia nos machos e 76 mg/kg de massa corporal/dia nas fêmeas), embora em doses maiores administradas (0,3 % e 0,9 %), notaram uma elevação no peso absoluto e relativo do fígado dos ratos de ambos sexos, mudanças na bioquímica do sangue – aumento da fosfatase alcalina, fosfolipídios, proteínas totais, albumina e a taxa albumina/globulina.

Em outro estudo realizado por HAGIWARA *et al.*, (2003), sobre a promoção de tumor de fígado em ratos por extratos de urucum, foi concluído que este não possui potencial hepatocarcinogênico no rato, mesmo quando administrado em doses elevadas como 200 mg/kg de massa corporal/dia se comparada a dose aceitável de 0 – 0,065 mg/kg/dia, portanto indicando que o perigo de um potencial hepatocarcinogênico para o homem podem ser ausente ou desprezível.

FLEISCHER *et al.* (2003) estudaram a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos das folhas e sementes de urucum, os quais mostraram atividade contra as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas testadas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) e ao fungo *Candida albicans*. Os resultados encontrados deram suporte ao uso do urucum na medicina tradicional, particularmente como gargarejo para dores de garganta e higiene oral.

2.5 – Processos de Obtenção de Corantes de Urucum

Os pigmentos das sementes de urucum podem ser extraídos por processos mecânicos através de atrição e raspagem das sementes e físico-químicos através de solventes, ou ainda, pode ser realizado utilizando enzimas (ALVES, 2001). A extração por solventes pode ser feita por três métodos básicos, extração alcalina (solução de NaOH ou KOH) em que resulta na conversão da bixina em norbixina, extração com óleo (soja, milho) e extração através de solventes orgânicos (clorofórmio, etanol, acetona, propilenoglicol) em que resulta na forma mais pura dos pigmentos. Todas as técnicas devem levar em consideração a degradação destes

pigmentos pela luz e calor excessivos. De acordo com LANCASTER e LAWRENCE (1996), a temperatura e a duração do processo de aquecimento são responsáveis pelo balanço vermelho/amarelo da coloração.

Os pigmentos do urucum estão localizados no pericarpo da semente, os quais ficam aderidos à superfície por meio de uma resina. Esta característica facilita a extração, pois não é necessário triturar as sementes (SILVA, 1999).

2.5.1 – Processos de Extração Mecânica

As principais vantagens da extração mecânica em relação à extração por solvente são: a obtenção do extrato de bixina sem a extração de outras substâncias como os glicídios que agem como impurezas no concentrado de corante; a não utilização de solventes, evitando a combinação destes no extrato; a não necessidade de separar o solvente do extrato; e tampouco efetuar o processo de secagem do mesmo após a extração (ALVES, 2001).

GUIMARÃES *et al.* (1989), MASSARANI *et al.* (1992), BARRETO *et al.* (1989) estudaram a produção de um concentrado de bixina através da atrição em leito de jorro e compararam com outros produtos obtidos em processos não aerados, como a betoneira em que obtiveram um concentrado com mais de 20% em bixina.

2.5.1.1 – Extração por Atrito

Dentro do grupo de metodologias de extração sem o uso de solventes, utilizando apenas o atrito (extração mecânica), encontram-se: extração em leito de

jorro e extração com moinho de bolas. Na extração em leito de jorro, a simples movimentação das sementes de urucum faz com que os choques entre as mesmas liberem a bixina no fluxo de ar. Já na extração com moinho de bolas, além do atrito entre as sementes, ocorre o atrito entre as bolas e as sementes, fazendo com que o extrato seja liberado. É importante ressaltar que o fraturamento das sementes deve ser evitado uma vez que o corante de interesse está presente no arilo da semente, película localizada na superfície da mesma, e não no seu interior (ALVES, 2001).

Estudos realizados demonstram que a bixina é facilmente extraída das sementes pelo atrito e impacto das partículas. Esta técnica mecânica pode requerer um tratamento prévio das sementes, no qual estas são secas à uma temperatura baixa preservando a qualidade do pigmento.

MASSARANI *et al.* (1992) e PASSOS *et al.* (1997) desenvolveram um leito de jorro cônico não convencional, onde o processo de secagem das sementes é efetuado juntamente com a extração da bixina. A degradação térmica da bixina no processo de secagem é estudada por BARONCELLI *et al.* (1997). GUIMARÃES *et al.* (1989) também desenvolveram estudos utilizando um leito de jorro cônico, operando com ar à temperatura ambiente e a coleta do pó (concentrado de bixina) efetuada com o auxílio de um ciclone. FARIA e ROCHA (2000) otimizaram a secagem das sementes de urucum em leito de jorro fixo, obtendo um conteúdo de umidade final no intervalo de 5 a 10 % e uma concentração de bixina mais alta que 2,86 % em base seca. Estes valores de umidade são recomendados para que se possa manter a qualidade do pigmento.

ALVES (2001) estudou a extração de corantes de urucum utilizando um moinho de bolas de alumina, e constatou que a fração granulométrica com mais alto

teor de bixina ficou entre 100 e 250 Mesh. A desvantagem deste processo de extração é o elevado tempo de processamento, aliado à necessidade de recuperação da massa de corante de urucum contida nas frações granulométricas de maior tamanho.

2.5.2 – Processos de Extração com Solventes

A bixina presente no arilo da semente de urucum pode ser extraída por meio de solventes orgânicos ou soluções alcalinas. Na literatura são encontrados vários processos de extração de corantes de urucum utilizando diferentes solventes orgânicos como etanol, acetona, cloreto de etila e outros (PRESTON e RICKARD, 1980; CARVALHO, 1990; PRENTICE-HERNANDEZ e RUSIG, 1992; SIMPSON *et al.*, 1993; ALVES, 2001).

Vários autores estudaram a extração dos pigmentos das sementes de urucum com solventes. INGRAN e FRANCIS (1969) aplicaram dois métodos para a extração dos pigmentos das sementes de urucum. O primeiro consiste na produção de uma massa através da extração por solvente orgânico seguida de purificação, precipitação e cristalização para obtenção da bixina pura; o segundo refere-se à produção de um concentrado em bixina através da extração com óleo vegetal ou propilenoglicol a 125° C.

PRESTON e RICKARD (1980) descreveram alguns métodos para extração dos corantes de urucum, descritos a seguir.

Bixina solúvel em óleo:

As sementes de urucum, imersas em óleo vegetal a uma temperatura não superior a 70° C, são mecanicamente raspadas para remover o pericarpo do resíduo da semente por um processo conhecido como raspagem. O espessado do pigmento em óleo é aquecido sob vácuo a uma temperatura que não exceda 130° C. A solução é filtrada para remover os materiais insolúveis. Os principais carotenóides incluem a *trans*-bixina, um produto amarelo de degradação térmica e a *cis*-bixina.

Suspensão em óleo:

Existem três métodos importantes, os quais são descritos a seguir:

- a) O extrato do pericarpo em óleo comestível após a raspagem é centrifugado e as partículas mais finas são misturadas com óleo para formar uma suspensão. Quando o tratamento térmico não é usado, o produto amarelo de degradação não é observado, estando presentes neste caso, a *cis*- e *trans*-bixina.
- b) Extração com solvente: O pigmento do urucum é extraído por um solvente adequado, como a acetona, por exemplo. O extrato é lavado com hexano ou outro solvente no qual o pigmento é virtualmente insolúvel, para remover as impurezas e odores indesejados. Moendo em óleo comestível para um tamanho de partícula de cerca de 10 microns é então levada a produção de uma suspensão microcristalina em óleo. Os solventes incluem a acetona, diclorometano, etanol, petróleo leve e propan-2-ol. Os maiores carotenóides presentes são a *cis*- e *trans*-bixina.

- c) Extração com mono- e di-glicerídeos, etc: A extração utilizando produtos de grau alimentício tais como os mono- e di-glicerídeos, ácidos graxos livres ou propilenoglicol também é praticada.

Urucum solúvel em água:

- a) A partir da semente: O pericarpo da semente do urucum é extraído por agitação em álcali aquoso a temperaturas que não excedam 70 °C para dar uma solução aquosa de sais de sódio ou potássio de norbixina, provavelmente na forma *cis* e *trans*.
- b) A partir da bixina extraída por solvente: A bixina, derivada da extração do pericarpo por um ou mais estágios, seguida pela remoção do solvente, é hidrolisada com álcali aquoso para produzir os sais de sódio ou potássio de norbixina.

BHALKAR e DUBASH (1983) examinaram vários métodos de extração utilizando água, álcali e solventes orgânicos para verificar as taxas de extração mais altas. Para a extração dos pigmentos na superfície da semente, o uso do carbonato de sódio foi eficiente. A concentração ótima de carbonato de sódio foi de 0,4 % e a extração máxima dos pigmentos foi atingida em cerca de 5 horas de agitação. O hidróxido de sódio deu uma extração de pigmentos totais de 73,9 %.

Uma mistura ótima de solvente encontrada foi de 25 % de clorofórmio em etanol (v/v) e foi utilizada para extrair os pigmentos das sementes de urucum a várias proporções de sementes versus solvente, para diferentes intervalos de tempo. Tomando os pigmentos totais como 760 mg/100 g de sementes, o percentual de extração dos pigmentos pelo solvente sob diferentes condições mostrou que usando

a proporção semente:solvente de 1:1 ou 1:2, somente 45 a 50 % dos pigmentos totais foram extraídos em 1 a 3 horas em um agitador giratório. Na proporção semente:solvente de 1:4, 57 % dos pigmentos totais foram extraídos na primeira hora e 60 % em 2 e 3 horas de agitação. Contudo, se o solvente é retirado após cada hora e substituído pela proporção solvente:sementes de 4:1 com solvente novo, até 76,5 % dos pigmentos totais do urucum podem ser obtidos em 3 horas.

Quando 20 g de sementes de urucum foram agitadas com 100 mL de água por 3 horas, 715 mg de pigmentos brutos foram separados. O efeito de abrasão nas camadas superficiais das sementes com 16 a 20 esferas de vidro durante a agitação mostrou-se benéfica. Um aumento de 33 % nos pigmentos brutos foi encontrado na proporção de 1:1 no sistema sementes:material abrasivo. Após a decantação das sementes e material abrasivo, o pigmento bruto foi obtido por centrifugação. Contudo, ainda foram encontradas no sobrenadante, quantidades consideráveis de pigmento. Em outro experimento, 20 g de sementes foram colocadas junto com 20 g de material abrasivo e agitadas com 40 mL de água por 3 e 6 horas. O pigmento foi extraído do abrasivo centrifugado e do líquido aquoso sobrenadante com clorofórmio e foi calculada a concentração do pigmento em mg/100 g de sementes. Nas primeiras 3 horas de abrasão, 14 % do pigmento foi perdido na fase aquosa, enquanto que após 6 horas de abrasão, 21 % dos pigmentos totais permaneceram na fase aquosa. Dessa forma, este método de extração dos pigmentos do urucum por abrasão tem um inconveniente devido à dificuldade de recuperação dos pigmentos da fase aquosa.

Comparando-se os métodos, BHALKAR e DUBASH (1983) verificaram que pelo método de extração utilizando água, este deu uma extração de cerca de 61 %

dos pigmentos totais após 6 horas de agitação. Desta forma, este método necessita de bastante tempo e requer muitas operações unitárias. No caso do método utilizando hidróxido de sódio, 74 % dos pigmentos são extraídos em 1 hora, mas ainda grandes volumes devem ser manipulados e no final o pigmento tem que ser dissolvido no solvente. O método de extração por solvente dá um máximo de 76 % de extração. Este é simples e, portanto, o melhor.

CARVALHO (1990) apresentou dois processos para extração dos pigmentos das sementes de urucum. O primeiro, utiliza solventes orgânicos que tenham propriedade de solubilizar a bixina. O segundo, utiliza solventes alcalinos para obtenção da norbixina; estes processos permitiram obter um produto concentrado em até 50 % em pigmentos do urucum.

PRENTICE-HERNANDEZ e RUSIG (1992) estudaram a obtenção do extrato de urucum utilizando etanol como solvente e duas fontes de sementes, uma contendo 1,88% de bixina e outra contendo 2,35 %, num método simples e de baixo custo, considerando o equipamento e solvente utilizados. Após o processamento, o produto final seco foi obtido com 65,47 % de bixina e um rendimento de extração de 4,33 % em relação às sementes de mais alta concentração de bixina.

SILVA *et al.* (1994) estudaram a extração dos pigmentos das sementes de urucum em leito fixo com solventes nos estados líquido e vapor, sendo que o rendimento da extração foi maior usando solvente com temperatura acima do ponto de ebulição. Testaram vários solventes, sendo que os mais eficientes foram o clorofórmio, a acetona, o éter etílico e o etanol. Nesse trabalho, constataram que abaixo de 80 °C a degradação da bixina pelo calor é desprezível. Verificaram

também que na extração dos pigmentos com as sementes trituradas o rendimento não aumentou, além do inconveniente do arraste de impurezas pelo solvente.

PIMENTEL (1995) aplicou a precipitação ácida para purificar os extratos das sementes de urucum obtidos através de hidróxido de potássio 0,1 N e hidróxido de amônia 0,52 N em etanol a 58 %. Os produtos purificados apresentaram maiores teores para a extração com hidróxido de amônia e etanol os quais foram obtidos na forma líquida, pasta ou pó.

PASSOS *et al.* (1997) desenvolveram um método para a produção de extrato de urucum em pó pela secagem de extratos alcalinos aquosos em um leite de jorro. Os resultados mostraram um alto conteúdo de pigmentos encontrados no urucum, comparáveis com aqueles encontrados em produtos comerciais e aqueles obtidos pela atrição em leitos de jorro, conforme MASSARANI *et al.* (1992).

ALVES (2001) estudou a extração dos corantes utilizando água e etanol como solventes e com agitação mecânica. A extração mais eficiente se deu com etanol como solvente, alcançando extratos com teores de 32 %, calculado como norbixina, e um rendimento de extração de 79 %.

Um método para a produção de concentrado de urucum a partir de extratos alcalinos aquosos utilizando leite de jorro foi estudado por SHUHAMA *et al.* (2003). Eles obtiveram um rendimento de 4 % na obtenção do extrato concentrado de urucum com concentração menor que 13,3 % de bixina, mas com tamanhos de partículas ultrafinas onde o efeito de maior importância no processo foi o decréscimo no conteúdo do pigmento em temperaturas acima de 80 °C.

2.6 – Procedimentos Analíticos Utilizados na Análise da Bixina/Norbixina

A análise dos extratos, conforme PRESTON e RICKARD (1980), a partir de vários processos comerciais mostra os seguintes maiores carotenóides:

Bixina solúvel em óleo { C₁₇ – Produto da degradação térmica
trans-bixina
cis-bixina

Suspensão de bixina em óleo { cis-bixina + alguma trans-bixina

Bixina extraída com solvente { cis-bixina + alguma trans-bixina

Extratos solúveis em água:

a) Extrato da semente aquoso de álcali
b) Hidrólise em álcali aquoso da bixina extraída com solvente { cis- e trans-norbixina (sais de Na ou K)

2.6.1 – Métodos Espectrofotométricos

A bixina e seus isômeros têm uma absorvância máxima à cerca de 500 nm e 470 nm em clorofórmio, enquanto que os pigmentos de degradação amarelos apresentam uma absorvância máxima à cerca de 404 nm e 428 nm (em clorofórmio) e não absorvem a 500 nm (McKEOWN e MARK, 1962).

Análises do espectro a 500 nm e 404 nm podem determinar ambos o conteúdo total de pigmentos e o conteúdo de bixina do extrato (McKEOWN e MARK, 1962; REITH e GIELEN, 1971).

De acordo com CARVALHO e HEIN (1989), a bixina apresenta picos máximos de absorção em clorofórmio a 469-470 e 501-503 nm.

YABIKU e TAKAHASHI (1992) descreveram métodos para a determinação de bixina e norbixina. Para a determinação de bixina, utilizaram clorofórmio como solvente, leitura a 470 nm e para o cálculo da concentração utilizaram o coeficiente de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2826$. Para a determinação de norbixina, utilizaram soluções de hidróxido de potássio a 5 % e 0,5 %, leitura a 423 nm e para o cálculo da concentração $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 3473$. O percentual encontrado de norbixina pode ser expresso como bixina multiplicando-se pelo fator de 1,037, porém, este fator não está correto porque o pigmento analisado pelo método de extração alcalina é o sal da norbixina e não a norbixina. O valor correto deste fator para a transformação em bixina é a divisão do valor obtido, como sal de potássio da norbixina, por 1,16 ou por 1,076 quando o valor obtido é expresso como sal de sódio, uma vez que o fator é encontrado pela divisão do peso molecular da bixina pelo peso molecular do sal de potássio ou sódio e não pelo peso molecular da norbixina pura. Esta correção está de acordo com CARVALHO *et al.* (1993).

KATO *et al.* (1992) utilizaram um método para determinação de bixina/norbixina nas sementes que consiste na extração da norbixina em meio alcalino, utilizando uma solução 0,1 N de hidróxido de sódio. Após a extração, filtração e centrifugação, foi feita uma diluição apropriada para leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda correspondente a 480 nm e um coeficiente de extinção de 2870, para obtenção do percentual de norbixina. A este percentual foi multiplicado o fator de conversão igual a 1,037 para obtenção do percentual de bixina, o mesmo utilizado por YABIKU e TAKAHASHI (1992).

SCOTTER *et al.* (1998) utilizaram os seguintes métodos:

Para determinação de bixina em extrato óleo-solúvel, dissolveram e diluíram aproximadamente 0,1 g da amostra com uma solução de ácido acético (10 % v/v) em clorofórmio em um frasco de 200 mL. Retiraram uma alíquota de 1 mL e diluíram para 10 mL usando uma solução de ácido acético (3 % v/v) em clorofórmio para dar uma solução de amostra em ácido acético (3,7 % v/v) em clorofórmio. A absorvância da solução diluída foi medida a 505 nm e 474 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra uma solução de referência de ácido acético (3 % v/v) em clorofórmio. O conteúdo de bixina foi determinado pela referência aos coeficientes de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2790$ a 505 nm e $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 3130$ a 474 nm.

Para determinação da norbixina em extrato solúvel em água, dissolveram e diluíram aproximadamente 0,1 g da amostra com uma solução de ácido acético (5 % v/v) em clorofórmio em um frasco de 200 mL. Retiraram uma alíquota de 1 mL e diluiu para 10 mL com clorofórmio para dar uma solução de amostra de ácido acético (0,5 % v/v) em clorofórmio. A absorvância da solução diluída foi medida a 503 e 473 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra uma solução de referência de ácido acético (0,5 % v/v) em clorofórmio. O conteúdo de norbixina foi determinado pela referência aos coeficientes de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2290$ a 503 nm e $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2620$ a 473 nm.

Para determinação do total de pigmentos solúveis do extrato, aproximadamente 0,1 g de amostra foi dissolvida e diluída em 100 mL de clorofórmio. A absorvância da solução foi varrida na faixa de comprimento de onda de 400 a 600 nm em uma cubeta de quartzo de 1 cm contra a referência de clorofórmio. O comprimento de onda de absorção máxima na região de 500 nm foi

determinado e sua absorvância medida, bem como em 404 nm. O conteúdo total de pigmento expresso como bixina foi calculado usando a Equação 2.6.1-1.

$$\text{Pigmento Total (\%)} = \frac{[(A_{\text{máx}} + A_{404}) - (0,256 \cdot A_{\text{máx}})]}{282,6} \times \frac{100}{\text{PA}} \times \frac{\text{VD}}{1000} \quad (2.6.1-1)$$

onde:

$A_{\text{máx}}$ = absorvância máxima medida

A_{404} = absorvância medida a 404 nm

0,256 = fator relativo às absorvâncias 404 e 501 nm para a bixina em clorofórmio

282,6 = absorvidade molar da bixina a 501 nm em clorofórmio.

VD = volume da alíquota para diluição

DEGNAN *et al.* (1991) calcularam o conteúdo de pigmento das sementes, expresso em percentual de bixina, após repetidas extrações com CHCl_3 , com leitura de absorvância a 501 nm e coeficiente de extinção $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2826$ (litros de $\text{CHCl}_3/10$ g de bixina).

Cabe ressaltar, que um grande problema na determinação do percentual de bixina está no valor do coeficiente de extinção, pois há uma variação do mesmo conforme o autor e também a dificuldade de se conseguir um padrão de bixina, o qual poderia ser utilizado para a confirmação deste valor.

2.6.2 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência permite algumas vantagens no que diz respeito à degradação da amostra durante a análise, evitando alguns problemas como a decomposição fotoquímica, oxidativa e térmica aos quais os pigmentos

estão sujeitos na cromatografia de camada delgada. A decomposição fotoquímica é eliminada porque a separação ocorre em uma coluna de aço inoxidável. A decomposição oxidativa é minimizada porque a separação ocorre relativamente rápida e também porque o oxigênio é removido da fase móvel durante o processo de degaseificação (ROUSEFF, 1988). A degradação térmica é evitada, pois a separação pode ser realizada a baixas temperaturas.

ROUSEFF (1988) apresentou um método de separação por HPLC para determinação de pigmentos em corantes para alimentos, urucum e *turmeric*. O tempo de análise para o sistema isocrático foi de 10 minutos e para o sistema de gradiente, 22 minutos. A separação isocrática empregou uma coluna 25 cm X 4,6 cm i.d. Zorbax ODS com uma mistura 58:42 (v/v) de água:tetrahidrofurano (THF), a 1 mL/min. ALVES (2001) utilizou a mesma mistura e vazão, porém com coluna Nucleosil 120-5 C18 (250 X 4,6 mm) e pré-coluna Nucleosil 5 C18 120 (30 X 4,6 mm), detecção a 464 nm e o tempo de análise foi de 8 minutos com boa resolução e forma do pico da bixina.

A preparação das amostras consiste na diluição e filtração dos extratos. Os três maiores pigmentos no *turmeric*, identificados do fluxo do espectro visível e fluorescente foram a curcumina, dimetóxicurcumina e bisdimetóxicurcumina. A absorbância, excitação e emissão máxima para os três curcuminóides mais os carotenóides bixina e norbixina, foram determinadas.

De acordo com ROUSEFF (1988), os pigmentos no urucum e *turmeric* são razoavelmente hidrofóbicos pois são fortemente retidos em uma fase estacionária não polar tal como C₁₈. Experimentos utilizando colunas C₁₈ com os solventes mais comuns de fase reversa tais como água-metanol e água-acetonitrila não foram

satisfatórios. Mesmo que a eluição da fase móvel possa ser ajustada para alcançar um fator de capacidade (k) satisfatório, a forma do pico (“tailing”) foi um problema. Felizmente, os sistemas de solvente água:tetrahidrofurano produziram excelente resolução e forma do pico.

ALVES (2001) também utilizou como condição cromatográfica, a técnica descrita por BARONCELLI *et al.* (1997) em um sistema isocrático e fase móvel metanol:água:ácido acético (87:12:1) e detecção a 405 nm. No artigo de BARONCELLI *et al.* (1997), a norbixina deveria ter um tempo de retenção de cerca de 14 minutos, porém a realizada por ALVES (2001) teve um tempo de retenção de 24 minutos devido a pequenas diferenças na fase móvel, diferente marca de coluna e do equipamento.

2.6.3 – Cromatografia em Camada Delgada

Diversos métodos de cromatografia em camada delgada têm sido desenvolvidos. O método utilizado por PRESTON e RICKARD (1980) foi desenvolvido para isolar e identificar os principais componentes nas preparações comerciais de extrato de urucum e ajudar em estudos do destino metabólico dos pigmentos de urucum no rato e no homem.

SILVA (1999) realizou a análise utilizando placas cobertas por uma camada de sílica gel G60 MERCK. Na fase móvel foi utilizada uma mistura de clorofórmio-acetona-ácido acético (50:50:1) colocada em uma cuba de vidro, onde as placas contendo os corantes foram mergulhadas por 30 minutos a temperatura ambiente.

Nas placas foram aplicadas amostras da bixina pura, da norbixina pura, extrato das sementes de urucum em clorofórmio e os extratos dos experimentos para várias condições estudadas, para a verificação da faixa que se extrai mais bixina na forma *cis* ou *trans*, e outros componentes.

ARIMA *et al.* (1980) testaram dois tipos de placas: cromatoplasmas de sílica gel 60 (sem indicador fluorescente) e cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄ com zona de concentração, de dimensões de 20 x 20 cm e espessura de 0,25 mm. Cada zona colorida foi aplicada sob iluminação suave e as placas desenvolvidas ao abrigo da luz, em cuba previamente saturada. Como fase móvel, utilizaram vários solventes e misturas com diferentes polaridades, porém os mais eficientes foram éter etílico 5 % em éter de petróleo e éter etílico 50 % em éter de petróleo. Os cromatogramas foram pulverizados com solução de parafina líquida em éter de petróleo, a fim de retardar o processo de descoloramento dos carotenóides por ação do ar.

2.6.4 – Cromatografia em Papel

McKEOWN (1961) descreveu um método para a separação da bixina e compostos relacionados, utilizando a cromatografia em papel por partição. Foram estudados a bixina lábil (forma *cis*), a norbixina lábil, a metilbixina lábil e seus correspondentes isômeros estáveis (forma *trans*).

O método consiste na preparação de uma tira de papel impregnada com uma solução 50 % (v/v) de N,N-dimetilformamida (DMF) em acetona e deixada secar ao ar por 10 minutos com o papel suspenso na posição vertical. Após a secagem, gotejar rapidamente na linha de início previamente marcada, 2 microlitros de uma

solução 0,2 % de Oil Yellow AB (1-fenil-azo-2-naftilamina) em DMF para referência, e 2 microlitros de soluções de bixina as quais se quer analisar. Desenvolve-se o cromatograma por fluxo descendente, utilizando ciclohexano-clorofórmio-DMF-ácido acético na proporção 85:10:3:2 por três horas, ou até que uma separação satisfatória seja obtida. Determinam-se os valores de R dos pigmentos desconhecidos com respeito ao Oil Yellow AB e compara-se com os valores dados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de R_f e R Relativos ao Oil Yellow AB para a Bixina e Compostos Relacionados

| Composto | R_f (média) | R_{AB} |
|---------------------|---------------|----------|
| Norbixina estável | 0,009 | 0,037 |
| Norbixina lábil | 0,014 | 0,058 |
| Bixina estável | 0,09 | 0,37 |
| Bixina lábil | 0,14 | 0,58 |
| Oil Yellow AB | 0,24 | 1,00 |
| Metilbixina estável | 0,38 | 1,58 |
| Metilbixina lábil | 0,56 | 2,33 |

2.7 – Adsorção

Adsorção é o fenômeno no qual moléculas em uma fase fluida se concentram em uma superfície sólida sem mudança química. De um modo geral a adsorção acontece como resultado de forças não balanceadas na superfície as quais atraem e seguram certas moléculas, o adsorbato, do fluido ao redor da superfície do sólido, o

adsorvente. A energia de adsorção determina a força com a qual a molécula é adsorvida relativa a outras moléculas no sistema (SUZUKI, 1990).

Uma grande capacidade de adsorção é alcançada por uma área superficial específica também grande, mas a criação de uma grande área superficial interna em um volume limitado inevitavelmente aumenta o grande número de poros de pequeno tamanho entre as superfícies de adsorção. O tamanho do microporo determina a acessibilidade das moléculas de adsorbato à superfície de adsorção, assim a distribuição do tamanho do poro do microporo é outra propriedade importante para caracterizar a adsorvidade dos adsorventes.

Alguns adsorventes possuem poros maiores em adição aos microporos, os quais resultam da granulação de pós-finos ou cristais finos em pellets ou originam na textura de materiais brutos. Estes poros chamados de macroporos possuem um tamanho de diversos micrometros. Os macroporos funcionam como caminhos de difusão das moléculas de adsorbato da parte externa do grânulo para os microporos em pós-finos e cristais. Adsorventes contendo macroporos e microporos são normalmente ditos terem estruturas de poros “bi-dispersas” (SUZUKI, 1990).

Quanto ao tamanho dos poros, estes podem classificar-se em três categorias, conforme sugere a IUPAC: microporos, diâmetro < 2nm; mesoporos, diâmetro 2 –50 nm; macroporos, diâmetro > 50nm.

A polaridade da superfície corresponde à afinidade com substâncias polares tais como a água. Adsorventes polares são então chamados de hidrofílicos e alguns exemplos destes são os aluminossilicatos, como as zeólitas, alumina porosa, sílica gel ou sílica-alumina. Por outro lado, adsorventes não polares são geralmente hidrofóbicos. Adsorventes carbonáceos e poliméricos são típicos adsorventes não

polares. Estes adsorventes possuem maior afinidade por óleo do que por água (SUZUKI, 1990).

A adsorção, sendo essencialmente um efeito de superfície, deve ser distinguida da absorção, a qual implica na penetração de um componente através do corpo de um segundo (DECHOW, 1989).

Nas últimas décadas, com o avanço das pesquisas e conhecimentos na área, bem como o acentuado desenvolvimento registrado na petroquímica, a adsorção passou a ser utilizada como uma operação unitária importante dentro da engenharia química. Atualmente, a adsorção é aplicada em processos de purificação e separação, apresentando-se como uma alternativa importante e economicamente viável em muitos casos.

A separação de misturas em duas ou mais correntes, enriquecidas com espécies as quais deseja-se recuperar é uma aplicação mais recente dos processos adsorptivos e que vem desenvolvendo-se muito nos últimos anos devido à capacidade destes processos realizarem separações importantes em situações onde a destilação convencional se revela ineficiente ou onerosa (RUTHVEN, 1984).

Os processos de adsorção para a purificação de água, vinho e óleos, utilizando adsorventes sólidos, particularmente carvão, têm sido usados por séculos. Com a expansão da indústria química no último século e com o desenvolvimento de aplicações na biotecnologia nas últimas décadas, a faixa de substâncias purificadas por adsorção tem crescido enormemente.

De acordo com DECHOW (1989), na indústria alimentícia com processos fermentativos, a adsorção é utilizada em processos de recuperação de fermentação: para remover moléculas indesejáveis, tais como corantes, da solução do produto de fermentação; para adsorver o produto de fermentação para aumentar sua concentração quando o produto é eluído do meio de adsorção; ou para adsorver seletivamente os solutos no fluxo de produção da fermentação e separá-los por cromatografia.

Outras aplicações com o emprego da adsorção estão na descolorização de açúcar (carvão de ossos), na recuperação e purificação de muitos antibióticos (resina de poliestireno, carvão ativado), na recuperação de enzimas (adsorvente de acrilato, argila bentonítica), na adsorção de microrganismos (carvão, sílica gel, e aluminossilicatos), na remoção de ácidos orgânicos e aminas de soluções aquosas (carvão, adsorventes a base de estireno ou metacrilato), na adsorção de vitaminas (adsorventes de estireno porosos), na recuperação de glucoronídeos e sulfatos (adsorventes poliméricos hidrofóbicos) entre outras (DECHOW, 1989).

Apesar da longa história de aplicações da adsorção, a pesquisa dos fundamentos da adsorção tem somente cerca de 60 anos. Uma gama de substâncias, incluindo fenol, ácido succínico e ácidos alifáticos mais simples foram adsorvidos em carvão a partir de soluções aquosas diluídas, viabilizando a determinação das isotermas de adsorção (DECHOW, 1989).

O requisito primário para um processo de separação econômico é um adsorvente com alta seletividade, capacidade de adsorção e vida útil. A seletividade pode depender tanto da diferença na cinética de adsorção como no equilíbrio de adsorção. A maioria dos processos atuais de adsorção dependem da seletividade de

equilíbrio. Considerando tais processos, é conveniente definir um fator de separação:

$$\alpha_{AB} = \frac{X_A / X_B}{Y_A / Y_B} \quad (2.7-1)$$

onde X_A e Y_A são, respectivamente, as frações molares do componente A nas fases adsorvida e fluida no equilíbrio. O fator de separação definido desta maneira é precisamente análogo a volatilidade relativa, a qual mede a facilidade com a qual os componentes podem ser separados por destilação. A analogia é, portanto, puramente formal e não há relação quantitativa entre o fator de separação e a volatilidade relativa. Para dois dados componentes a volatilidade relativa é fixada enquanto que o fator de separação varia amplamente dependendo do adsorvente.

A busca por um adsorvente adequado é geralmente o primeiro passo no desenvolvimento de um processo de separação por adsorção. Uma vez que o fator de separação geralmente varia com a temperatura e normalmente também com a composição, a escolha de condições adequadas para maximizar o fator de separação é a maior consideração no design do processo. A seleção preliminar de adsorventes adequados pode ser feita algumas vezes diretamente a partir das constantes de Henry disponíveis.

Separações cinéticas são geralmente possíveis somente com peneiras moleculares tais como zeólitas ou peneiras de carbono. A seletividade cinética é medida pela taxa da difusividade do microporo ou difusividade intracristalina para os componentes considerados. Diferenças nas taxas de difusão entre moléculas de peso molecular comparável se tornam grande o suficiente para promover uma separação útil somente quando a difusão é dificultada por efeitos estéricos. Isto

requer que o diâmetro do microporo seja comparável com as dimensões da molécula que se difunde. Por causa dos requisitos geométricos serem rígidos para uma separação com peneira molecular, tais separações são menos comuns do que aquelas baseadas nas diferenças de equilíbrio de adsorção ou nas diferenças moderadas na difusividade intracristalina (RUTHVEN, 1984).

Os fenômenos adsorptivos são classificados quanto às forças responsáveis, em dois tipos: adsorção química e adsorção física. A adsorção física, que é a forma mais fraca de adsorção, envolve somente forças intermoleculares relativamente fracas enquanto a adsorção química envolve, essencialmente, a formação de uma ligação química entre a molécula de sorbato e a superfície do adsorvente. Embora esta distinção seja conceitualmente útil, existem muitos casos intermediários e nem sempre é possível categorizar um sistema em particular sem se equivocar. A Tabela 4 mostra as características dos dois tipos de adsorção (RUTHVEN, 1984; ZANGWILL, 1988).

Tabela 4 – Tipos de Adsorção

| Adsorção Física | Adsorção Química |
|--|--|
| Baixo calor de adsorção (< 2 ou 3 vezes o calor latente de evaporação) | Alto calor de adsorção (>2 ou 3 vezes o calor latente de evaporação) |
| Não específica | Altamente específica |
| Monocamada ou multicamada. Sem dissociação das espécies adsorvidas. Somente significativa em temperaturas relativamente baixas | Somente monocamada. Pode envolver dissociação. Possível em uma ampla faixa de temperatura. |
| Rápida, não ativada, reversível. Sem transferência de elétrons embora possa ocorrer polarização do sorbato. | Ativada, pode ser lenta e irreversível. Transferência de elétron levando a formação de ligação entre o sorbato e a superfície. |

Como a maioria dos processos adsorptivos de separação são físicos, o calor de adsorção fornece uma medida direta da força de ligação entre o sorbato e a superfície. A adsorção física a partir da fase gasosa é invariavelmente exotérmica. Uma vez que a molécula adsorvida tem no máximo dois graus de liberdade translacional na superfície e a liberdade rotacional das espécies adsorvidas deve sempre ser menor do que a molécula da fase gasosa, a mudança de entropia na adsorção, é essencialmente negativa,

$$(\Delta S = S_{ads} - S_{gas}) \quad (2.7-2)$$

ou seja, para que ocorra uma adsorção significativa, a mudança na energia livre sobre a adsorção (ΔG) também deve ser negativa e, conforme a Equação (2.7-3), é necessário que ΔH seja negativo, ou seja, adsorção exotérmica.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.7-3)$$

Isto também é geralmente verdadeiro para a adsorção em fase líquida, embora o argumento seja menos convincente neste caso e exceções são possíveis (RUTHVEN, 1984).

2.7.1 – Forças e Energias de Adsorção

As forças envolvidas na adsorção física incluem as forças de van der Waals (dispersão – repulsão) e interações eletrostáticas que compreendem a polarização, dipolo e interações quádruplas (SUZUKI, 1990 e RUTHVEN, 1984). As forças de van der Waals estão sempre presentes enquanto que as contribuições eletrostáticas são

significantes somente no caso de adsorventes como as zeólitas devido às suas estruturas iônicas. Embora tais interações sejam propriamente relacionadas com a adsorção física, o calor de adsorção pode ser de uma magnitude geralmente associada com a adsorção química. Além disso, em tais sistemas a adsorção é bastante específica e a taxa é normalmente controlada por um processo de difusão ativado, dando a aparência de uma adsorção química ativada lenta, mesmo que a adsorção na superfície possa ser rápida. Portanto, tais sistemas podem aparentar exibir muitas das características geralmente associadas com a adsorção química (RUTHVEN, 1984).

2.7.2 – Equilíbrio de Adsorção

A capacidade máxima de um adsorvente não pode ser completamente utilizada na prática devido aos efeitos de transferência de massa, envolvidos no processo de contato fluido-sólido. Para estimar a capacidade de adsorção prática ou dinâmica, primeiramente é essencial ter a informação do equilíbrio de adsorção. Então, análises cinéticas são conduzidas dependendo dos tipos de processos de contato (SUZUKI, 1990).

A maioria dos modelos teóricos para a adsorção foram desenvolvidos para gases adsorvidos em sólidos. Contudo, estes modelos também provaram serem úteis para solutos líquidos com adsorventes sólidos. Para qualquer sistema específico de soluto, solvente e adsorvente, os sítios da superfície do adsorvente são cobertos. É a afinidade relativa desta superfície pelo soluto e pelo solvente que determina a eficiência da adsorção do soluto.

As isotermas de adsorção são utilizadas para representar os pontos de equilíbrio do soluto adsorvido na superfície como uma função da concentração do soluto na solução, ou seja, quando um adsorvente está em contato com um fluido de uma dada composição, acontece a adsorção e após um tempo suficientemente longo, o adsorvente e o fluido atingem o equilíbrio. Neste estado, a quantidade de componente adsorvido na superfície, principalmente nos microporos, é determinada (SUZUKI, 1990). No equilíbrio, a taxa de soluto sendo adsorvida na superfície é igual à taxa do soluto deixando a superfície (DECHOW, 1989). A relação entre a quantidade adsorvida e a concentração na fase fluida a uma determinada temperatura é chamada de isoterma de adsorção (SUZUKI, 1990).

2.7.3 – Isotermas de Adsorção

A isoterma de adsorção é ponto de partida para qualquer análise do processo de adsorção. Ela é uma parte essencial da modelagem da cinética de adsorção e, portanto, essencial para o design do processo em batelada ou coluna, eficiência e economia. A isoterma revela o grau de purificação que pode ser alcançado, a quantidade aproximada de adsorvente necessária para alcançar um determinado grau de pureza e a sensibilidade do processo de purificação para a concentração do soluto (DECHOW, 1989).

Em geral, para a adsorção física em uma superfície homogênea e em baixas concentrações, a isoterma toma uma forma linear com uma inclinação limite constante, e a relação pode ser expressa pela Lei de Henry, dada pela seguinte relação:

$$q = Kc \quad (2.7.3-1)$$

ou

$$q = K'p \quad (2.7.3-2)$$

onde q representa a concentração da fase adsorvida, c a concentração da fase fluida e p a pressão parcial da fase fluida, no caso de gases.

A constante de Henry (K ou K') é uma constante de equilíbrio termodinâmico e sua dependência com a temperatura segue a lei de van't Hoff (equação 2.7.3-3). A adsorção em zeólitas bem como a adsorção em fase vapor geralmente é um processo exotérmico e, neste caso, o valor da constante decresce com o aumento da temperatura.

$$\frac{d \ln K'}{dT} = \frac{\Delta H_0}{RT^2} \quad (2.7.3-3)$$

A Lei de Henry é bastante útil para baixas concentrações de sorbato, mas ao aumentar-se gradativamente esta concentração, as interações entre as moléculas adsorvidas aumentam e ocorre uma saturação na fase adsorvida. Logo, com o aumento das concentrações as isotermas podem tomar formas mais complexas.

Uma classificação dos diferentes tipos de isotermas universalmente empregada é a classificação de Brunauer, que as divide em cinco diferentes tipos (Figura 9). A adsorção em sólidos microporosos geralmente apresenta isotermas do tipo I; as formas mais complexas estão associadas com a adsorção multicamada e/ou com variações do tamanho dos poros. Muitos modelos matemáticos de isotermas de adsorção encontram-se reportados na literatura para correlacionar dados de equilíbrio para os vários tipos de isotermas existentes.

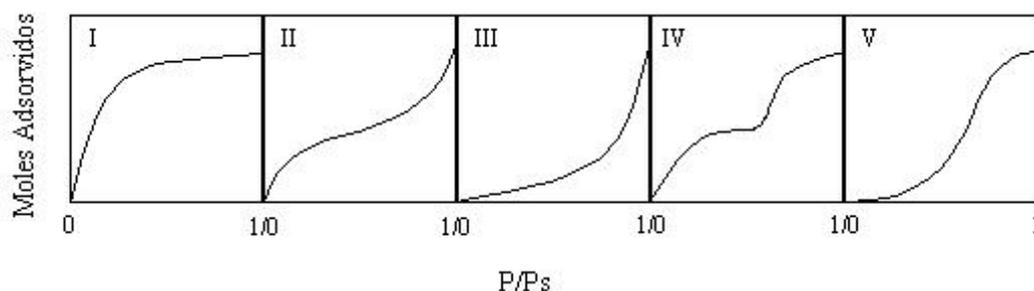


Figura 9 – Classificação de Brunauer das Isotermas

2.7.4 – Interpretação das Isotermas

Algumas regras básicas e algumas advertências que são práticas na interpretação de uma isoterma são apresentadas a seguir (PERUZZO, 2003):

- Uma curva de isoterma plana indica uma pequena zona de transferência de massa, querendo dizer que o agente adsorvente geralmente adsorve compostos com uma capacidade constante em uma faixa relativamente ampla de concentração de equilíbrio.
- Uma curva de isoterma inclinada indica uma ampla zona de transferência de massa, com um aumento na capacidade de adsorção com o aumento da concentração de equilíbrio.
- Uma mudança na inclinação da isoterma geralmente ocorre para uma solução que contém vários compostos com capacidades variáveis de adsorção. Um ponto de inflexão ocorre quando um composto é preferencialmente adsorvido sobre outro e ocorre dessorção, para que o composto preferencialmente adsorvido possa utilizar sítios previamente ocupados por compostos mais fracamente adsorvidos. A Figura 10 ilustra uma isoterma de adsorção de capacidade variável.

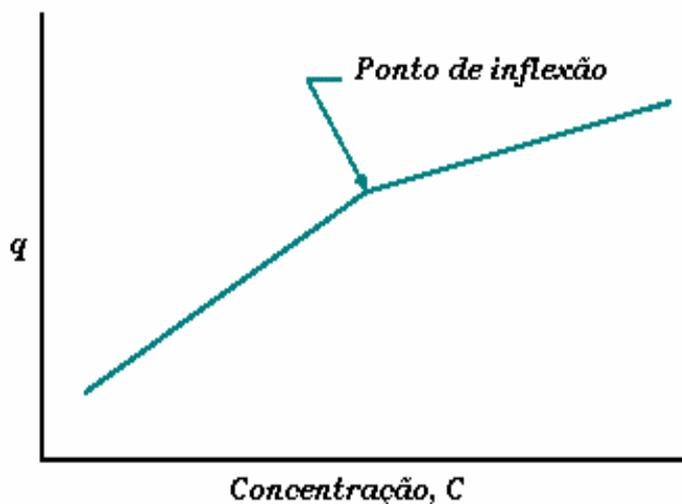


Figura 10 – Isotherma de Adsorção de Capacidade Variável

2.7.5 – Cinética de Adsorção

A adsorção de pequenas moléculas em uma superfície de um sólido não poroso normalmente acontece rapidamente, desde que a solução não seja viscosa. Moléculas maiores necessitam um tempo maior para atingir o equilíbrio de adsorção.

A adsorção por sólidos porosos também pode ser rápida nos casos onde o lodo líquido-adsorvente é continuamente agitado. A adsorção de macromoléculas se dá mais lentamente.

A Figura 11 ilustra as diferentes etapas no processo de adsorção as quais devem ser incluídas ou levadas em conta para sua modelagem. Primeiro, o soluto se move da solução bulk para a vizinhança do material adsorvente. Se o adsorvente for um material poroso, o soluto se difunde no fluido contido dentro dos poros. O soluto pode adsorver no exterior da partícula adsorvente ou na superfície de seus poros. Uma vez adsorvido, o soluto (agora o adsorbato) pode se difundir ao longo da

superfície dos poros. O conceito de difusão na superfície junto com a superfície dos poros foi introduzido para explicar as difusividades efetivas as quais foram determinadas serem mais altas do que difusividades moleculares.

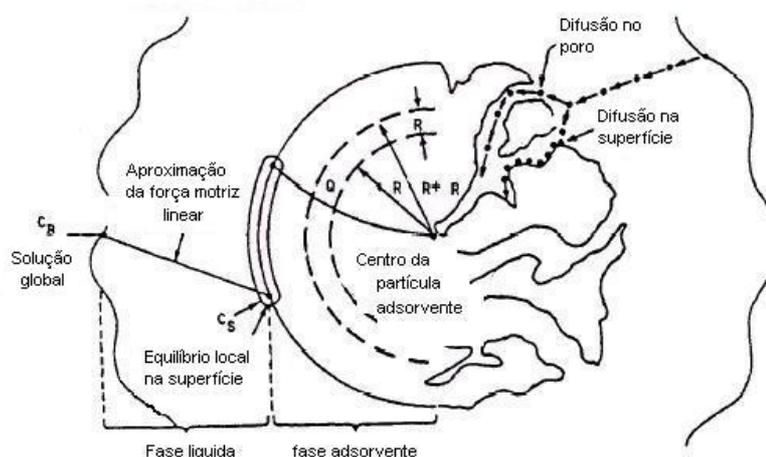


Figura 11 – Processo de Adsorção em uma Partícula Adsorvente

O processo de adsorção normalmente ocorre muito mais rapidamente do que a difusão através da solução global ou do que os processos de difusão no poro ou na superfície. Portanto, é razoável dizer que somente os processos de difusão estão incluídos nas descrições matemáticas da taxa de adsorção (DECHOW, 1989).

Depois de conhecido o equilíbrio de adsorção entre os componentes da mistura a ser separada, o próximo passo para a modelagem e projeto de tal processo é conhecer as resistências à transferência de massa na partícula do adsorvente.

Um adsorvente poroso em contato com uma fase fluida pode apresentar três diferentes resistências à transferência de massa: resistência no filme externo à partícula, resistência à difusão nos macroporos e resistência à difusão nos

microporos. Dependendo das características de cada sistema particular, uma destas resistências pode ser dominante, sendo as demais desprezíveis, ou pode ter-se a necessidade de considerar uma combinação de tais fatores.

A resistência à transferência de massa no fluido externo relaciona-se com as características hidrodinâmicas do sistema, que determinam a camada laminar que envolve a partícula sólida. Na região dos macroporos os mecanismos de difusão podem ser diversos, entre os quais: difusão molecular, difusão Knudsen, difusão na superfície e fluxo Poiseulle. Em fase gasosa a difusão Knudsen e a difusão na superfície são os mecanismos dominantes, enquanto que em fase líquida a difusão molecular parece ser a mais importante. A difusão nos microporos está associada com efeitos estéricos e interações de campo potencial entre a molécula e os canais microporosos que tomam a mesma ordem de grandeza (RUTHVEN, 1984).

2.7.6 – Adsorção em Fase Líquida

Apesar de sua importância industrial, a adsorção em fase líquida tem sido muito pouco estudada, em relação à adsorção em fase vapor. Não há diferença no princípio entre a adsorção em fase líquida e em fase vapor, uma vez que, termodinamicamente a concentração na fase adsorvida no equilíbrio com um líquido deve ser precisamente a mesma que no equilíbrio com vapor saturado. As diferenças aparecem na prática porque na adsorção em fase líquida, pode-se relacionar as altas concentrações da fase adsorvida próximas ao limite de saturação.

As isotermas de modelo simples, desenvolvidas primariamente para descrever a adsorção em fase vapor, se adequam melhor em concentrações de sorbato baixas e não se tornam confiáveis quando se aproximam da saturação. Tais modelos são, portanto, de aplicabilidade limitada para a correlação dos dados de adsorção em fase líquida (RUTHVEN, 1984).

2.7.7 – Regeneração do Adsorvente

O processo de adsorção não é um processo fixo e a regeneração ou reativação do adsorvente é necessária para sua reutilização. O objetivo primário da regeneração é restaurar a capacidade de adsorção do adsorvente enquanto que o objetivo secundário é recuperar componentes de valor presentes na fase adsorvida.

Uma vez que as operações de adsorção são um processo cíclico composto da etapa de adsorção e etapa de regeneração, a eficiência e custo da regeneração têm papéis importantes no processo de adsorção como um todo.

Existem vários processos alternativos disponíveis para a regeneração dos adsorventes:

1. Dessorção por um fluxo inerte ou um fluxo a baixa pressão;
2. Dessorção a alta temperatura onde a isoterma de adsorção é consideravelmente vantajosa para a dessorção;
3. Dessorção pela mudança de afinidade entre o adsorbato e o adsorvente por um reagente químico;

4. Dessorção pela extração de adsorbatos por solventes fortes;
5. Remoção de adsorbatos por decomposição térmica ou decomposição bioquímica;

Os métodos 1 e 2 são comumente utilizados para a regeneração de adsorventes utilizados para adsorção em fase gasosa. Naturalmente o método 2 pode ser aplicado para adsorção em fase líquida se a relação de equilíbrio permitir em casos específicos. A Figura 12 mostra estes esquemas de dessorção.

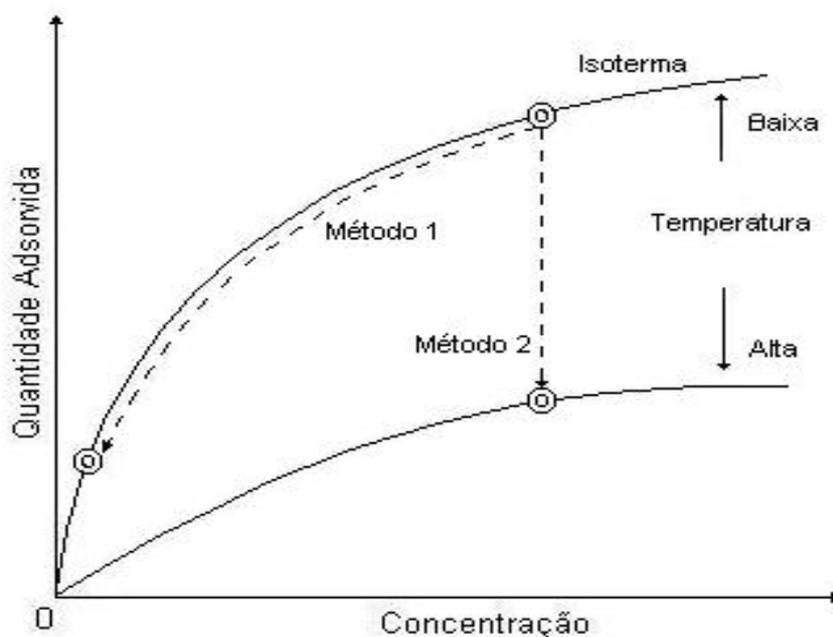


Figura 12 – Esquemas de Dessorção

A dessorção usando um fluxo inerte livre de adsorvente é essencialmente a mesma operação que a adsorção, a qual pode ser analisada pelas mesmas equações básicas com condições iniciais e de contorno diferentes. O mesmo é válido para dessorção à alta temperatura (dessorção térmica) exceto que a relação

de equilíbrio é muito diferente. Também, na atual operação de dessorção térmica, o tratamento não isotérmico se torna importante na maioria dos casos. A combinação da dessorção à baixa pressão e adsorção à alta pressão é o princípio da operação de *pressure swing* (balanço de pressão) (PSA).

Os métodos 3 e 4 são específicos para a adsorção em fase líquida e especialmente efetivos quando se deseja a recuperação do adsorbato. A dessorção por meio de uma solução alcalina é normalmente utilizada para a recuperação de ácidos orgânicos adsorvidos em carvão ativo. Neste caso, a baixa adsorvidade dos ácidos orgânicos dissociados em comparação com ácidos orgânicos de forma molecular é utilizada. Também, a dessorção extrativa de compostos orgânicos adsorvidos pelo uso de solventes orgânicos é um exemplo de regeneração de solvente, onde a extração de um adsorbato por um solvente, bem como a substituição de sítios de adsorção por moléculas de solvente adsorvidas resulta na dessorção efetiva das moléculas de adsorbato.

Quando compostos orgânicos multicomponentes e desconhecidos são adsorvidos em carvão ativado como no caso de tratamento de água, a dessorção simples não é aplicável para restaurar completamente a capacidade de adsorção. Neste caso, a regeneração à alta temperatura por gases oxidantes, como vapor d'água (regeneração térmica), a qual lembra o processo de ativação de carvão ativado, é normalmente utilizada. Quando compostos orgânicos adsorvidos são biologicamente suscetíveis à decomposição ou quimicamente oxidáveis, a oxidação bioquímica ou química pode ser empregada para a regeneração do carvão ativado utilizado no tratamento de água (SUZUKI, 1990).

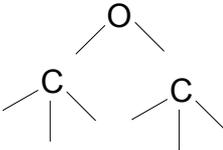
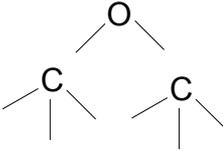
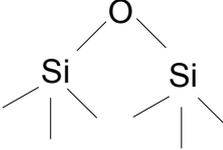
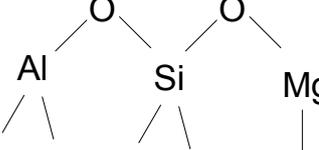
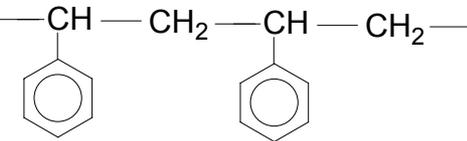
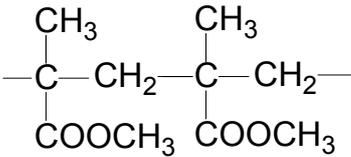
2.7.8 – Tipos de Adsorventes

Segundo DECHOW (1989), a utilidade de um adsorvente em um processo de purificação é uma função de sua composição, da presença e tipo de grupos funcionais na superfície, porosidade e área superficial, grau de polaridade e hidrofobicidade/hidrofobicidade relativa. Os adsorventes que têm sido e continuarão a ser os mais utilizados em purificações em biotecnologia são o carvão ativado, óxidos de silício e alumínio e polímeros orgânicos.

O carvão de ossos, naturais e sintéticos, são grânulos utilizados quase que exclusivamente para descoloração de açúcar. O carvão ativado é derivado da pirólise da madeira ou carvão. A alumina ativada é um gel cristalino sintético e poroso formado em pellets esféricos ou grânulos. A sílica gel é um gel não cristalino sintético e poroso formado em pellets esféricos ou grânulos. Os aluminossilicatos do tipo zeólita (peneiras moleculares) são únicos no que diz respeito ao tamanho dos poros, pois sua síntese produz um volume de poros de tamanho quase 100 % uniforme. O polímero sintético macroporoso mais comum utilizado na adsorção são copolímeros de estireno-divinilbenzeno, metacrilato-divinilbenzeno ou fenol-formaldeído (DECHOW, 1989).

A funcionalidade superficial geralmente aceita destes materiais assim como a área superficial destes materiais é apresentada na Tabela 5 (DECHOW, 1989).

Tabela 5 – Estrutura da Superfície e Área dos Adsorventes

| Adsorvente | Estrutura | Área Superficial Específica (m ² /g) |
|----------------------|---|---|
| Carvão de osso |  | 60 – 80 |
| Carvão granular |  | 200 – 500 |
| Sílica Gel |  | 600 |
| Zeólitas |  | 400 |
| Poliestireno |  | 100 – 700 |
| Polimetilmetacrilato |  | 100 – 500 |

Embora seja possível analisar os constituintes químicos destes adsorventes, é difícil caracterizar a natureza química de suas superfícies. Em geral, os adsorventes polares contêm grupos na superfície capazes de ligações de hidrogênio com os materiais adsorvidos. Esta é provavelmente a propriedade mais importante

deste tipo de adsorvente. Adsorventes não polares não possuem propriedades de ligações de hidrogênio e as forças de dispersão de London se tornam as mais importantes no mecanismo de adsorção. Os polímeros sintéticos podem ter grupos funcionais para aumentar sua força adsortiva.

Uma vez que a adsorção ocorre na superfície do adsorvente, a área superficial total é um parâmetro importante. Se a superfície do adsorvente fosse completamente uniforme, a quantidade de superfície coberta seria uma função da forma, mas não do tamanho do soluto. Portanto, a capacidade do carvão ativado de adsorver solutos decresce com o aumento do tamanho do soluto, indicando a estrutura fina do poro dentro das partículas de carvão.

Se o adsorvente não possuir poros através de sua estrutura para fornecer sítios de adsorção adicionais, a quantidade máxima de soluto que poderia ser adsorvida aumentaria com a diminuição do tamanho da partícula. Isto tem a limitação prática causada pela queda excessiva de pressão sobre uma coluna empacotada de adsorvente quando o tamanho da partícula se torna muito fina. A maioria dos adsorventes utilizados em processos de purificação industrial possui áreas superficiais maiores que $100 \text{ m}^2/\text{g}$ e partículas na faixa de 150 a 1500 microns em tamanho. Portanto, uma grande porção da área superficial do adsorvente deve consistir de uma rede de poros dentro de cada partícula. O tamanho e uniformidade dos poros afetam a adsorção de moléculas grandes. A área superficial efetiva disponível para adsorção deveria diminuir com o aumento do tamanho molecular do soluto.

A área superficial dos adsorventes é normalmente medida pela degaseificação do adsorvente sob alto vácuo a altas temperaturas, seguida pela adição de uma quantidade de gás conhecida, como nitrogênio (DECHOW, 1989).

O requisito para uma capacidade adsortiva adequada restringe a escolha de adsorventes para processos de separação práticos a adsorventes microporosos com diâmetro de poros na faixa de poucos Ângstrons a poucas dezenas de Ângstrons. Isto inclui os adsorventes microporosos tradicionais como a sílica gel, a alumina ativada e o carvão ativado, bem como os mais recentemente desenvolvidos aluminosilicatos cristalinos ou zeólitas. Existe, portanto uma diferença fundamental entre estes materiais. Nos adsorventes tradicionais, há uma distribuição do tamanho do microporo e tanto o diâmetro médio do microporo quanto à largura da distribuição desta média são controlados pelo processo de manufatura. Por outro lado, o tamanho do microporo de um adsorvente zeolítico é controlado pela estrutura cristalina e não há virtualmente distribuição do tamanho do poro. Isto leva a diferenças significantes nas propriedades adsortivas e é, portanto conveniente considerar as zeólitas e outros adsorventes cristalinos tais como, as peneiras moleculares alumino fosfatos, como uma classe separada de adsorventes.

2.7.8.1 – Sílica Gel

A sílica gel é uma forma parcialmente desidratada do ácido silícico coloidal polimérico. A composição química pode ser expressa como $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. O conteúdo de água, o qual está presente principalmente na forma de ligações químicas do grupo hidroxila, está tipicamente na faixa de 5 % em peso. O material foi

primeiramente desenvolvido durante a primeira guerra mundial para utilização em máscaras de gás embora para isso ela provou ser inferior ao carvão ativado. O diâmetro médio dos poros da sílica gel comercial varia de 20 a 200 Ångstrons.

2.7.8.2 – Alumina Ativada

A alumina ativa é uma forma porosa de grande área do óxido de alumínio, preparada diretamente a partir da bauxita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ou a partir do monohidrato pela desidratação e recristalização a temperatura elevada. A superfície é mais fortemente polar do que a da sílica gel e tem caráter ácido e básico, refletindo a natureza anfotérica do metal. Em temperatura ambiente a afinidade da alumina ativada pela água é comparável com a da sílica gel, mas a capacidade é mais baixa. Em temperaturas elevadas a capacidade da alumina ativada é maior do que a sílica gel e foi, portanto comumente utilizada como dessecante para ar quente de secagem ou fluxos de gás. Para esta aplicação, a alumina ativada tem sido amplamente substituída por adsorventes de peneira molecular os quais exibem uma alta capacidade e uma baixa pressão de vapor de equilíbrio sob a maior parte das condições de importância prática (RUTHVEN, 1984). A área superficial específica está na faixa de 150 – 500 m^2/g com raio de poro de 15 – 60 Ångstrons, dependendo de como são preparadas (SUZUKI, 1990).

2.7.8.3 – Carvão Ativado

O carvão ativado é normalmente feito pela decomposição térmica de material carbonáceo (carvão, madeira, casca de nozes, etc.) pela ativação com vapor d'água ou dióxido de carbono em temperatura elevada (700 – 1000 °C). O processo de ativação envolve essencialmente a remoção de produtos de carbonização alcatroados formados durante a pirólise, e assim abrindo os poros.

A estrutura do carvão ativado consiste de microcristalitos elementares de grafite, mas estes microcristalitos são aglomerados em uma orientação randômica e são os espaços entre os cristais que formam os microporos. A distribuição do tamanho dos poros é tipicamente trimodal. A distribuição e o volume de poros total associado com a faixa de cada tamanho de poro são, portanto, sensíveis às condições de pirólise inicial e procedimentos de ativação. As faixas típicas estão entre 0,15 – 0,5 cm³/g para os microporos, 0,02 – 0,1 cm³/g para os mesoporos e 0,2 – 0,5 cm³/g para os macroporos. Através de procedimentos especiais, é possível preparar carvões ativados com maior porosidade, maior área superficial e maior capacidade de adsorção.

A superfície do carvão é essencialmente não polar embora uma leve polaridade possa surgir quando da oxidação da superfície. Como resultado, os adsorventes de carvão tendem a ser hidrofóbicos e organofílicos. Eles são, portanto, amplamente utilizados para a adsorção de compostos orgânicos na descolorização de açúcar, purificação de água, e sistemas de recuperação de solventes, bem como para a adsorção de vapores de gasolina em automóveis e como adsorvente multipropósito em exaustores e outros sistemas de purificação de ar. Para diminuir a

resistência a transferência de massa, os carvões ativados utilizados para a adsorção a partir da fase líquida possuem geralmente diâmetros de poros maiores do que aqueles utilizados para a adsorção em fase gasosa.

2.7.8.4 – Peneiras Moleculares de Carvão

Os adsorventes de carvão ativado geralmente apresentam pouca seletividade na adsorção de moléculas de tamanhos diferentes. Contudo, através de procedimentos especiais de ativação é possível preparar adsorventes de carvão com uma distribuição muito estreita do tamanho do microporo e o quais se comportam como peneiras moleculares. Alguns exemplos de peneiras moleculares de carvão são as preparadas pela decomposição de dicloreto de polivinilideno, mas mais recentemente uma ampla variedade de materiais tem sido utilizada. A estrutura do poro pode ser modificada por subsequente tratamento incluindo a pirólise controlada de hidrocarbonetos dentro do sistema de microporos e parcial gaseificação sob condições reguladas cuidadosamente. Assim, é possível preparar peneiras de carvão com diâmetros de microporo efetivos variando de 4 a 9 Ângstrons.

2.7.8.5 – Zeólitas

Zeólitas são aluminossilicatos cristalinos porosos. Sua estrutura consiste em um arranjo de tetraedros de SiO_4 e AlO_4 , unidos em vários arranjos regulares através de átomos de oxigênio compartilhados, para formar um látice cristal

contendo poros de dimensões moleculares nos quais as moléculas podem penetrar. Uma vez que a estrutura dos microporos é determinada pelo látice cristal, ela é precisamente uniforme sem distribuição do tamanho do poro. É esta característica que distingue as zeólitas dos adsorventes microporosos tradicionais.

De acordo com RUTHVEN (1994), até 1994 cerca de 38 estruturas diferentes de zeólitas foram identificadas, incluindo as formas naturais e sintéticas.

2.7.8.6 – Carvão de Ossos

De acordo com SUZUKI (1990), acredita-se que o carvão de ossos possui basicamente as mesmas características de adsorção que os carvões ativados. Mas além da habilidade de troca iônica derivada do constituinte principal, grupos funcionais hidroxiapatita de cálcio de matéria animal podem proporcionar habilidade superior de adsorção para remoção de cor, odor e sabor. Em refinarias de açúcar, o carvão de ossos tem sido comumente utilizado como um adsorvente para a descolorização e refino de açúcar desde o século XIX.

2.7.8.7 – Argilas

A argila é um material natural, terroso, de granulação fina, que geralmente adquire, quando umedecido com água, certa plasticidade; quimicamente, são as argilas formadas essencialmente por silicatos hidratados de alumínio, ferro e

magnésio. Designa-se ainda o nome “argila” a um grupo de partículas do solo cujas dimensões se encontram entre uma faixa especificada de valores. O termo “folhelho” é usado para argilas laminadas ou extratificadas naturalmente; pode o folhelho ter a mesma consistência ou textura das argilas usuais ou ser completamente adensado e duro, chamando-se então “argilito”. A palavra “solo” tem interpretações diferentes, conforme seja usada em agricultura, geologia ou engenharia. Há variação considerável na terminologia das argilas e argilominerais nos diversos setores científicos e tecnológicos que se utilizam deste material.

Todas as argilas são constituídas essencialmente por partículas cristalinas extremamente pequenas de um número restrito de minerais conhecidos como “argilominerais”. Uma argila qualquer pode ser composta por partículas de um argilomineral ou por uma mistura de diversos argilominerais. Quimicamente, os argilominerais são compostos por silicatos hidratados de alumínio e ferro, contendo ainda, geralmente, certo teor de elementos alcalinos e alcalino-terrosos.

Os usos ou os produtos industriais em que entram as argilas, quer como matéria-prima fundamental, quer específica, ou então como componente acessório ou alternativo são: agentes absorventes, aceleradores, compostos químicos de alumínio, cerâmica artística, eliminação de resíduos radiativos, materiais porosos expandidos, agentes ligantes, tijolos, telhas e outros materiais de construção, calcimina (mistura seca de argila ou carbonato de cálcio com cola), catalisadores, cimentos, materiais cerâmicos para a indústria química, louça branca, agregados para concreto, cosméticos, lápis coloridos, agentes descorantes e clarificantes, agentes para eliminação de água, etc (SANTOS, 1989 Vol.1).

SHREVE e BRINK (1980) descreve várias áreas e setores de indústrias de processamento químico no qual se usa a argila em algum ponto dos processos industriais, seja diretamente ou como componente específico, acessório ou alternativo.

2.7.8.8 – Argilas Descorantes, Clarificantes ou Adsorventes

Os termos “argila descorante”, “terra descorante”, “argila clarificante” ou “argila adsorvente” são utilizados nas indústrias de óleos para designar argilas que, no estado natural ou após ativação química ou térmica, apresentam a propriedade de adsorver as matérias corantes dissolvidas de óleos minerais, vegetais e animais; não devem ser confundidas com auxiliares de filtração, como diatomito e perlita, os quais retiram as partículas coloridas existentes em suspensão, embora SHAWABKEH e TUTUNJI (2003) tenham utilizado diatomito como adsorvente para a remoção de azul de metileno da água obtendo uma remoção de 42 μmol do corante/100 g; as argilas descorantes são, geralmente, classificadas em três tipos: terra fuller, argilas ativadas e bauxitos ativados.

As argilas utilizadas como matéria-prima para a obtenção de argilas ativadas por ácidos são argilas que, no estado natural, têm um poder descorante muito baixo, mas que desenvolvem um elevado poder descorante pelo tratamento com ácido mineral. As argilas ativáveis por ácidos são geralmente bentonitas cálcicas, isto é, argilas essencialmente montmoriloníticas em que o cátion saturante é predominantemente o cálcio. A ativação ácida serve para transformar a

montmorilonita em montmorilonita ácida pela substituição do sódio, potássio, cálcio (e talvez magnésio) pelo cátion-hidrogênio ou hidroxônio e para reduzir o teor de magnésio, ferro e alumínio (nessa ordem); nessa ativação, parte do hidroxônio é substituído por Al^{3+} estrutural, com destruição parcial do argilomineral; a ativação ácida serve também para aumentar a área específica, isto é, a área externa total das partículas de argila por unidade de massa e, também, a porosidade aparente das argilas. A propriedade de agir como agente descorante está diretamente correlacionada com a presença de íons H^+ e Al^{3+} como cátions trocáveis, em proporções adequadas.

JIANG e ZENG (2003) estudaram os efeitos de montmorilonitas modificadas por espécies poliméricas de Al/Fe, por um surfactante HDTMA (organocátion) e por uma mistura polimérica Fe/Al-HDTMA como adsorventes para o tratamento de água. Os resultados mostraram que as argilas modificadas por Fe/Al-HDTMA possuíam a habilidade de adsorver contaminantes inorgânicos e orgânicos.

O uso de argilas ativadas para a remoção de corantes e surfactantes de águas residuárias de um curtume foi objeto de estudo de ESPANTALEÓN *et al.* (2003). Bentonita ácido-ativada e sepiolita mostraram uma grande capacidade de adsorção de corantes aniônicos normalmente utilizados em curtumes. O surfactante não iônico foi 90 % removido em 10 minutos devido a alta afinidade entre o surfactante e o adsorvente. A bentonita ativada com uma solução 0,5 M de H_2SO_4 foi o adsorvente com melhor desempenho.

2.7.8.8.1 – Classificação das Argilas Descorantes

As argilas bentoníticas e as terras fuller podem ser classificadas da seguinte maneira, com base nas propriedades adsorptivas para as substâncias que, em geral, dão cor aos óleos:

I – Argilas montmoriloníticas do tipo bentonita, que são inativas e praticamente inativáveis.

São utilizadas para lamas de perfuração de poços, para a impermeabilização de barragens e de reservatórios de água, como diluentes de inseticidas e como agente aglomerante de areia de moldagem para fundição.

II – Argilas montmoriloníticas inativas, mas altamente ativáveis por tratamento ácido.

São geralmente bentonitas essencialmente cálcicas.

III – Argilas ativas e extremamente ativáveis pelo tratamento ácido.

IV – Argilas ativas e cuja atividade é pouco afetada pelo tratamento ácido.

V – Argilas ativas cuja atividade é diminuída pelo tratamento ácido.

As propriedades características das argilas das classes I, IV e V são muito persistentes, mas as propriedades das argilas das classes II e III se alteram muito rapidamente pela secagem a temperatura ambiente (SANTOS, 1992 Vol.2).

2.7.8.9 – Interações entre Argilominerais e Substâncias Orgânicas

As argilas como sólidos costumam estar na forma de pós (caulim, por exemplo) ou de macrocristais (vermiculita, por exemplo); também são insolúveis em todos os solventes (porque, se dissolverem, deixariam de conter argilominerais); assim, podem ser consideradas como sendo o adsorvente S; se uma argila ao entrar em contato com a substância orgânica A (neutra ou iônica) com que poderia interagir, três fatos podem ocorrer: (1) A está dissolvido no solvente S; (2) a substância A está na forma de um gás; (3) A é um líquido. Em qualquer deles, íons ou moléculas de A, por difusão, aproximam-se da superfície da argila S; três outros fatos podem ocorrer: (a) ocorrem interações físicas com formação de ligações “fracas” (ligações de van der Waals); (b) ocorrem ligações químicas fortes em decorrência de reações químicas; (c) não ocorre nenhuma interação entre A e S. Então, o sistema “S + A” é deixado em repouso por algumas horas (8 ou 24; tempo de contato ou de residência) até haver sido atingido o equilíbrio (isto é, até a adsorção terminar); retira-se a substância A por separação (filtração; drenagem; vácuo) e fica-se com S recoberto com uma monocamada (ou policamada) de A fixa por interações fracas (adsorção física) ou fortes (adsorção química) ou, se não houver adsorção, a superfície de S volta a ficar “limpa”.

O método experimental mais empregado para o estudo da formação de compostos químicos e da interação entre substâncias químicas orgânicas e argilominerais é o da Espectroscopia no Infravermelho; de acordo com SANTOS (1992 Vol.3) esse é o método geral mais sensível para estudar as alterações de minerais em argilominerais e desses em outros minerais.

Concluindo, determinando experimentalmente e assim conhecendo-se a curva de X/m em função da concentração de equilíbrio, pode-se saber se a interação entre A e S é fraca (adsorção física ou de van der Waals) ou forte (adsorção química). Eliminando o solvente (se houver), pode-se ter produzido uma argila (ou argilomineral) recoberto por uma monocamada (ou policamada) da substância orgânica A (SANTOS, 1992 Vol.3).

2.8 – Colóides

Um colóide é um sistema que consiste de pelo menos uma substância (sólida, líquida ou gasosa) finamente dispersa (fase dispersa) em uma outra substância, sólida, líquida ou gasosa (fase contínua). Os diferentes tipos de sistemas dispersos são classificados dependendo da natureza da fase dispersa e da fase contínua. (FUDA, 2004).

2.9 – Surfactantes

Surfactantes são agentes ativos de superfície. Estes compostos baixam a tensão interfacial pela sua adsorção a superfícies. Esta propriedade é principalmente devida a presença de dois grupos na molécula: uma cabeça polar com alta afinidade pela água (hidrofílica) e um corpo não polar com baixa afinidade pela água (hidrofóbico).

Os surfactantes podem ser classificados em quatro grupos pela natureza do grupo hidrofílico: (1) aniônicos, com o grupo hidrofílico carregando uma carga

negativa, como por exemplo, carboxil ou sulfato, (2) catiônicos, com o grupo hidrofílico carregando uma carga positiva, como por exemplo, haletos de amônio quaternário, (3) não iônicos, onde o grupo hidrofílico não tem carga e (4) anfotéricos, os quais a molécula contém tanto carga negativa como positiva, como por exemplo, sulfobetaínas (FUDA, 2004).

A adsorção de um surfactante a partir de uma solução em uma superfície depende da concentração do mesmo em solução. Quando a concentração do surfactante na solução aquosa alcança um certo nível conhecido como concentração micelar crítica (CMC), as moléculas de surfactante tendem a se agregar de tal maneira que as extremidades hidrofóbicas ficam juntas no interior da estrutura (efeito hidrofóbico), enquanto que as cabeças polares ficam do lado externo da estrutura (SEBBA, 1987). Este arranjo, referenciado como sendo uma micela, é um mecanismo alternativo de adsorção pelo qual a energia interfacial do sistema diminui (FUDA, 2004).

Abaixo da CMC, o surfactante está predominantemente na forma de monômeros. A CMC depende da estrutura do surfactante (tamanho da cadeia do hidrocarboneto) e das condições experimentais (força iônica, contra-íons, temperatura, etc.). As micelas são termodinamicamente estáveis e facilmente reproduzíveis, são destruídas pela diluição com água quando a concentração do surfactante ficar abaixo da CMC. Uma propriedade importante das micelas é o seu poder de solubilizar os mais variados solutos ou espécies pouco solúveis. A quantidade de soluto solubilizada é em geral diretamente proporcional à concentração do surfactante, desde que a concentração do surfactante seja igual ou superior a CMC e que existam várias possibilidades de solubilização no sistema

micelar. Estes efeitos são consequência da solubilização dos reagentes na micela, sendo deste modo atribuídos ao balanço das interações de hidrofobicidade e eletrostática ocorrendo entre os reagentes e o sistema micelar (MANIASSO, 2001).

2.10 – Colloidal Gas Aphrons (CGA)

Colloidal Gas Aphrons são microbolhas (10-100 μm de diâmetro) formadas pela agitação de uma solução de surfactante a alta velocidade (normalmente 8000 rpm). O termo coloidal foi utilizado devido ao pequeno tamanho das bolhas, embora as dimensões não estejam verdadeiramente na faixa coloidal que é aproximadamente 1 nm – 1 μm (JAUREGI P. e VARLEY, 1999; JAUREGI *et al.*, 2000).

Estas dispersões possuem uma grande área interfacial e uma estabilidade relativamente alta, o que pode ser devido à presença de múltiplas camadas de surfactante (NOBLE *et al.*, 1998), separam-se facilmente da fase líquida global, possuem propriedades de fluxo similares a da água (JAUREGI *et al.*, 2000).

CGAs podem ser geradas utilizando surfactantes iônicos ou não iônicos e pode ser possível alcançar condições de separação seletiva de proteínas a partir de uma mistura destas, por exemplo, alterando as condições do tampão (força iônica e pH), conforme NOBLE *et al.*, 1998.

A identificação das propriedades das CGAs tem levado vários pesquisadores a considerar a CGA para várias aplicações, tais como a remoção de metais e

corantes, flotação de células, recuperação de proteínas e transferência de massa em bioreatores (JAUREGI *et al.*, 2000).

Apesar destes estudos de caracterização de CGA, não há evidência conclusiva da estrutura destas microbolhas. A estrutura de CGA foi primeiramente proposta por SEBBA (1987). Conforme o autor, CGAs não são como bolhas convencionais, que possuem ao seu redor uma monocamada de surfactante, mas são bolhas de gás cercadas de três camadas de surfactante (conforme Figura 13). Esta teoria foi baseada em diversas observações experimentais, incluindo medidas de estabilidade. CGAs podem durar por minutos ou horas, se for mantida a agitação, sem coalescência considerável. De acordo com ele, este é o resultado de uma multicamada de filme surfactante ao redor da bolha de gás, a qual retarda a coalescência.

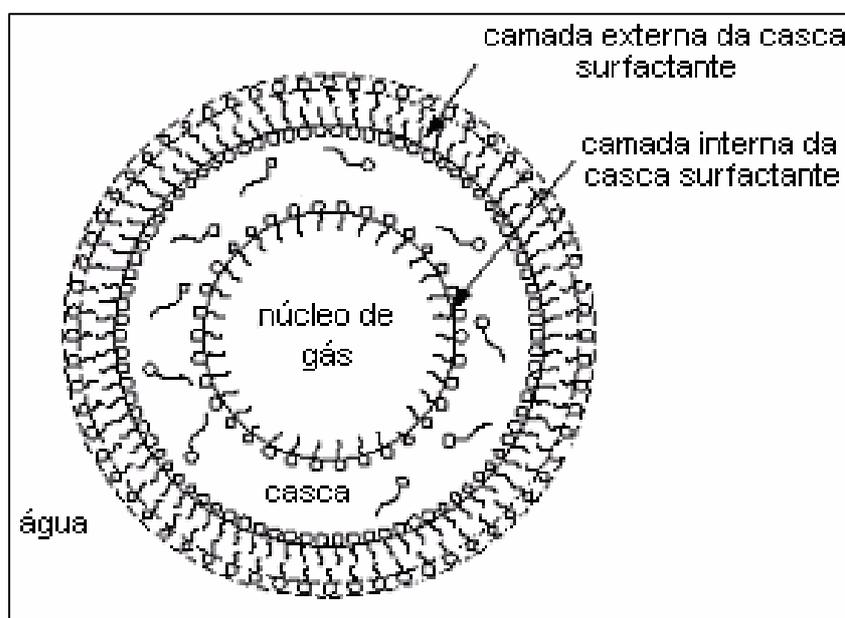


Figura 13 – Colloidal Gas Aphron

A evidência para a estrutura da CGA proposta por SEBBA (1987) não é conclusiva. Conforme JAUREGI *et al.* (2000), a atual literatura sobre CGA é principalmente focada na sua aplicação, com sua estrutura sendo aquela proposta por SEBBA (1987).

Conforme JAUREGI *et al.* (2000), somente dois outros estudos suportaram a estrutura proposta por SEBBA. Primeiramente AMIRI e WOODBURN (1990) apresentaram um método teórico para estimar a espessura da “casca” surfactante no CGA. Eles basearam suas pesquisas em um estudo da taxa de drenagem líquida na dispersão CGA e no cálculo da velocidade de crescimento do *aphron*. A partir destes resultados experimentais eles concluíram que CGAs são compostas de uma interface finita de 750 nm de espessura. Esta espessura é equivalente a 350 moléculas de surfactante arranjadas em camadas consecutivas (se assumido que o comprimento de uma molécula de brometo de cetiltrimetilamônio, CTAB, é equivalente a 2 nm).

BREDWELL e WORDEN (1998) estimaram a espessura da “casca” surfactante (nome comercial Tween 20) a partir do cálculo do coeficiente de transferência de massa em um fermentador utilizando CGA no lugar de bolhas de ar (assumindo que a transferência de massa é limitada pela taxa de difusão ao longo da “casca”). A espessura estimada variou na faixa de 200 a 300 nm.

Nenhum destes estudos valida a hipótese de SEBBA, e as diferenças nas espessuras estudadas diferem significativamente.

Um conhecimento na estrutura da CGA seria de grande valor para a otimização de processos baseados em CGA. Por exemplo, se a estrutura (como o número de camadas de surfactante e espessura da interface) fosse conhecida, o

mecanismo da adsorção de proteínas ao CGA poderia ser completamente entendido (JAUREGI e VARLEY, 1998), e como consequência, a otimização de processos baseados em CGA para a recuperação de proteínas, incluindo a separação seletiva a partir de misturas poderia ser alcançada.

Apesar da falta do entendimento da estrutura e mecanismos de estabilização de dispersões CGA, observações indicam (JAUREGI e VARLEY, 1999 e FUDA, 2004):

- CGAs possuem uma grande área interfacial por unidade de volume para a adsorção de moléculas como resultado de seus tamanhos pequenos e grande *hold-up* (como, a taxa de gás volumétrica na dispersão gás-líquido, tipicamente ao redor de 50 %);
- CGAs exibem relativamente alta estabilidade;
- As propriedades de fluxo destas dispersões são similares às da água (por exemplo, CGAs podem ser bombeadas facilmente, sem colapso, de um lugar para outro);
- A fase *aphron* se separa facilmente da fase líquida “bulk” devido a sua fluabilidade; tipicamente a interface líquido - dispersão, começará a aumentar em menos de um minuto; e
- CGAs apresentam vantagens significativas quanto ao custo de utilização quando comparadas a métodos cromatográficos e por membranas.

2.10.1 – Geração de CGAs

CGAs são geradas pela agitação a alta velocidade de uma solução de surfactante.

De acordo com JAUREGI *et al.* (1997), a formação de CGAs requer um disco horizontal com uma alta rotação. Chicanas também são necessárias para alcançar o regime de mistura requerido.

2.10.2 – Estabilidade de CGAs

As interações eletrostáticas (no caso de surfactantes iônicos) e as forças de superfície contribuirão para a estabilidade das dispersões CGA. Grupos polares ou carregados nas moléculas de surfactante na interface gás-líquido (Figura 13) de *aphrons* adjacentes se repelirão, a qual retardará a coalescência dos *aphrons*.

Como as interações eletrostáticas não são a principal força de estabilização quando as CGAs são feitas a partir de surfactantes não iônicos, outras forças (por exemplo, forças estéricas) devem ter um papel na estabilização destas dispersões.

A estabilidade dos CGAs é medida em termos do tempo para o colapso das mesmas. Em muitos estudos, a estabilidade tem sido descrita em termos de meia vida. O tempo de meia-vida é definido como o tempo necessário para a metade do volume inicial do líquido ser drenado após a agitação ter sido interrompida (JAUREGI, 1997, JAUREGI e VARLEY, 1999, SAVE e PANGARKAR, 1993 e NOBLE *et al.*, 1998).

Vários parâmetros operacionais exercem efeito sobre a estabilidade de CGAs, como a concentração de surfactante à uma velocidade de agitação constante. A velocidade crítica para a geração de CGAs tem sido estabelecida em 5000 rpm. A estabilidade máxima é obtida com concentrações de surfactante acima da concentração micelar crítica (a concentração acima da qual a formação de micela se aumenta significativamente).

Quando os *aphrons* são gerados utilizando surfactantes iônicos, a concentração de sal (força iônica) tem um importante efeito na estabilidade. O efeito da adição de NaCl na estabilidade de CGAs varia com a concentração do sal adicionado. A adição de 0,002 – 0,05 μM de NaCl resulta no aumento da estabilidade enquanto que a adição de 0,07 – 1,37 M de NaCl resulta no decréscimo da estabilidade.

Diferenças no pH não têm efeito significativo na estabilidade de CGAs, embora MATSUSHITA *et al.* (1992), encontraram que dispersões mais estáveis foram obtidas com surfactantes iônicos em comparação com não iônicos. SAVE e PANGARKAR (1994), estudaram diferentes surfactantes iônicos e concluíram que a estabilidade aumenta com o comprimento da cadeia alquila.

DAI e DENG (2003) apresentaram um método para a estabilização das CGAs em temperatura ambiente antes da caracterização da distribuição do tamanho e distorção de bolhas de CGAs com técnicas fotográficas de microscópio. Eles utilizaram cloreto de hexadeciltrimetil amônio em água para formar uma solução de surfactante catiônica de CGAs. A estabilização das microbolhas foi feita colocando-as em contato com uma solução de Na_2SiO_3 neutralizada com HCl (para formar uma solução de sílica sol), gentilmente agitada e, instantaneamente um filme fino de gel

silícico envolveu as bolhas de CGA. A distribuição do tamanho das CGAs foi determinada usando técnicas de microscopia e análise de imagens. Eles concluíram que CGAs podem ser efetivamente estabilizadas por sílica sol e, portanto, fornecer uma maneira conveniente para a caracterização de CGAs.

2.10.3 – Caracterização de CGAs

A caracterização de CGAs é feita pelo gás *hold-up* e pela sua estabilidade.

Gás *hold-up* é definido como a razão do volume de gás na dispersão para o volume total da dispersão (JAUREGI, 1997). É desejável ter um alto gás *hold-up* pois a área superficial do sistema geralmente será maior do que para um sistema com um gás *hold-up* mais baixo, assumindo-se que o diâmetro da bolha seja constante. E ainda, para altos gás *hold-ups*, o volume da fase *aphron* colapsada será menor devido ao alto conteúdo de gás, portanto o enriquecimento desta fase será maior (NOBLE *et al.*, 1998).

A estabilidade das CGAs é avaliada medindo-se o tempo de meia-vida da dispersão (SAVE e PANGARKAR, 1993; JAUREGI, 1997 e NOBLE *et al.*, 1998).

De acordo com o trabalho de NOBLE *et al.* (1998), sobre a recuperação de proteínas utilizando dispersões gás – líquido, a estabilidade e o gás *hold-up* das CGAs têm um papel importante no grau de enriquecimento de proteínas na fase *aphron*. Para alcançar um alto enriquecimento e recuperação de proteínas, é desejado ter um sistema estável de *aphrons* para habilitar a máxima interação antes que as duas fases sejam separadas. Contudo, se a estabilidade da *aphron* é muito alta, o prolongado contato com a *aphron* pode levar à desnaturação da proteína.

O aumento da concentração do surfactante aumenta a estabilidade da dispersão de CGAs. Isto acontece provavelmente devido a um aumento nas forças repulsivas entre as moléculas de surfactante ou na casca surfactante ou na solução bulk, e pode também ser devido a formação de camadas múltiplas de surfactante ao redor das *aphrons* (SEBBA, 1987).

2.10.4 – Usos de CGA

Vários usos de CGA têm sido descritos, como na recuperação de proteínas (JAUREGI *et al.*, 1997; NOBLE *et al.*, 1998; JARUDILOKKUL *et al.*, 2003), remoção de resíduos tóxicos de óleos de solos (ROY *et al.*, 1994 [a,b]; ROY *et al.*, 1995), produção de pó de estanho finamente dividido (RIVIELLO *et al.*, 1994), recuperação de fibras de celulose a partir de águas residuárias da indústria de papel (HASHIM e GUPTA, 1998), flotação de pirita (CILLIERS e BEADSHAW, 1996), remoção de gotículas de óleo dispersas em água (DAI e DENG, 2003) e outros citados por JAUREGI *et al.*, 1997: remoção de metais pesados, flotação de algas unicelulares, clarificação de suspensões, remoção de cristais de enxofre, separação de corantes orgânicos de águas residuárias, tratamento de resíduos, extração aquosa bifásica de uma enzima e remoção de pentaclorofenol de soluções aquosas.

A maior parte dos trabalhos com CGAs até então têm sido focados na demonstração da técnica de separação efetiva para a recuperação de substâncias de valor agregado e também na investigação dos efeitos dos parâmetros operacionais no desempenho da separação. A correlação entre o desempenho da separação e o mecanismo de adsorção às micro bolhas têm sido tentada, porém,

pouco tem sido feito para o entendimento em detalhes do mecanismo de adsorção e separação utilizando CGAs (FUDA, 2004).

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados os materiais e métodos utilizados.

A maior parte do trabalho envolvendo os experimentos utilizando as argilas comerciais foi realizada no Laboratório de Transferência de Massa (LABMASSA) do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina e parte deste trabalho foi continuada na Escola de Biociência dos Alimentos da Universidade de Reading, Inglaterra, onde também foi desenvolvida toda a parte do trabalho envolvendo *Colloidal Gas Aphrons*.

3.1 – Sementes de Urucum

As sementes de urucum foram fornecidas pela empresa Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda, localizada em Valinhos/SP.

3.2 – Adsorventes

Os adsorventes comerciais utilizados neste trabalho foram:

Argilas esmectíticas ativadas Tonsil® Optimum 380 FF e Tonsil® Actisil 280 FF, argila esmectítica fortemente ativada Tonsil® Supreme 180 FF e argila esmectítica natural Tonsil® Terrana 580 FF, fornecidas por Süd Chimie do Brasil Ltda, localizada em Jacareí/SP. As características destes adsorventes são mostradas na Tabela 6 e suas composições químicas médias, na Tabela 7.

Outro adsorvente comercial também utilizado foi Engelhard F-160, fornecido por NASC Comércio Internacional Ltda, localizada em São Bernardo do Campo/SP, tendo umidade de 15 %, acidez residual 2 (mg KOH/g no ponto de virada da fenolftaleína), tamanho de partícula em peneira padrão Tyler de 97 % passando 100 mesh e 95 % passando 200 mesh, densidade aparente de 0,51 g/cc.

Tabela 6 – Características dos Adsorventes

| Adsorvente | MEA (kg/m ³) | Velocidade de Filtração (s) | Tamanho da partícula % Retido em #63 µm | Acidez Livre (%) | Umidade (%) |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|---|------------------|-------------|
| Optimum 380 FF | 650 – 780 | Máx. 60 | Máx. 30 | Máx. 0,70 | 8,0 – 12,0 |
| Supreme 180 FF | 500 – 650 | Máx. 60 | Máx. 25 | Máx. 1,00 | 8,0 – 12,0 |
| Actisil 280 FF | 600 – 750 | Máx. 60 | Máx. 25 | Máx. 0,70 | 8,0 – 12,0 |
| Terrana 580 FF | 850 – 950 | Máx. 60 | Máx. 30 | Isento | 6,0 – 10,0 |

MEA = massa específica aparente

Tabela 7 – Composição Química Média dos Adsorventes

| Composição | Optimum 380 FF | | Supreme 180 FF | | Actisil 280 FF | | Terrana 580 FF | |
|--------------------------------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
| | Min. | Máx. | Min. | Máx. | Min. | Máx. | Min. | Máx. |
| SiO ₂ | 52,5 | 68,1 | 77,0 | 87,0 | 63,0 | 76,2 | 42,0 | 60,0 |
| Al ₂ O ₃ | 11,8 | 16,4 | 2,0 | 8,0 | 7,6 | 12,8 | 16,0 | 20,0 |
| Fe ₂ O ₃ | 4,5 | 7,9 | 1,0 | 3,0 | 3,0 | 5,8 | 6,0 | 10,0 |
| MgO | 0,8 | 5,9 | 0,3 | 0,9 | 0,6 | 3,7 | 1,0 | 8,0 |
| CaO | 0,8 | 5,8 | 0,2 | 0,8 | 0,5 | 3,7 | 1,0 | 8,0 |
| TiO ₂ | 0,5 | 2,5 | 0,7 | 1,3 | 0,6 | 2,0 | 0,4 | 3,0 |
| K ₂ O | 0,2 | 2,2 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 1,4 | 0,3 | 3,0 |
| Na ₂ O | 0,2 | 2,2 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 1,4 | 0,3 | 3,0 |

3.3 – Padrão de Bixina

O padrão de bixina foi fornecido pela empresa Chr Hansen A/S localizada em Hørsholm/Dinamarca, lote nº BX-124-99. A análise do mesmo foi feita por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e espectroscopia na região do visível.

3.4 – Reagentes e Materiais Diversos

Os seguintes solventes/reagentes foram utilizados entre outros: clorofórmio P. A., acetato de etila (Biotec, Nuclear, BDH Laboratory Supplies, UK), CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) e óxido férrico (Fluka BioChemika),

Tris[hidroximetil]aminometano e Chrome azurol S (Sigma), AOT (di-[2-etilhexil] sulfosuccinato de sódio), ácido clorídrico, ácido acético glacial, hidróxido de potássio, fosfato dibásico de sódio, fosfato monobásico de sódio, carbonato de sódio (BDH Laboratory Supplies, UK), filtro de papel (Whatman), filtros para seringas e vidrarias em geral.

3.5 – Equipamentos

Os principais equipamentos utilizados neste trabalho foram:

Agitador mecânico de bancada, modelo SL2T, com uma hélice de quatro pás (D = 30 mm) rodeado por uma cobertura perfurada e leitor digital de velocidade fabricado por Silverson Ltd. (Waterside, Bucks, UK). Os espectrofotômetros utilizados foram: Ultrospec 1100 pro fabricado por Amersham Pharmacia Biotech (Biochrom Ltd., Cambridge, UK), Perkin Elmer Lambda2 UV/Vis acoplado a um microcomputador e um espectrofotômetro UV/Visível da marca Shimadzu modelo UV Mini 1240. Balança analítica da marca Metler Toledo modelo TE-393/1, pHmetro da marca Quimis modelo 400M2, agitador mecânico da marca Fisaton modelo 713A, tensiômetro K11 fabricado por Kruss GmbH, Hamburgo, Alemanha, espectrofotômetro de infravermelho, estufa com circulação de ar modelo MA 035 da marca Marconi.

3.6 – Extração dos Pigmentos

A extração dos pigmentos das sementes foi realizada de duas maneiras, uma para os testes de adsorção com os adsorventes e outra para os testes envolvendo as CGAs.

Para os testes de adsorção com os adsorventes, a extração foi realizada utilizando-se clorofórmio ou acetato de etila como solvente. Uma massa determinada de sementes foi colocada em um Erlenmeyer juntamente com o solvente. A mistura foi colocada em um agitador magnético por 1,5 hora em clorofórmio e 2,5 horas em acetato de etila. Após foi feita a filtração sob pressão utilizando-se nitrogênio, para evitar a degradação dos pigmentos, em uma célula de aço inox com filtro de velocidade de filtração média junto com um filtro de porosidade de 14 μm , conforme esquema mostrado na Figura 14. A faixa de pressão utilizada foi de 2 a 3 bar.

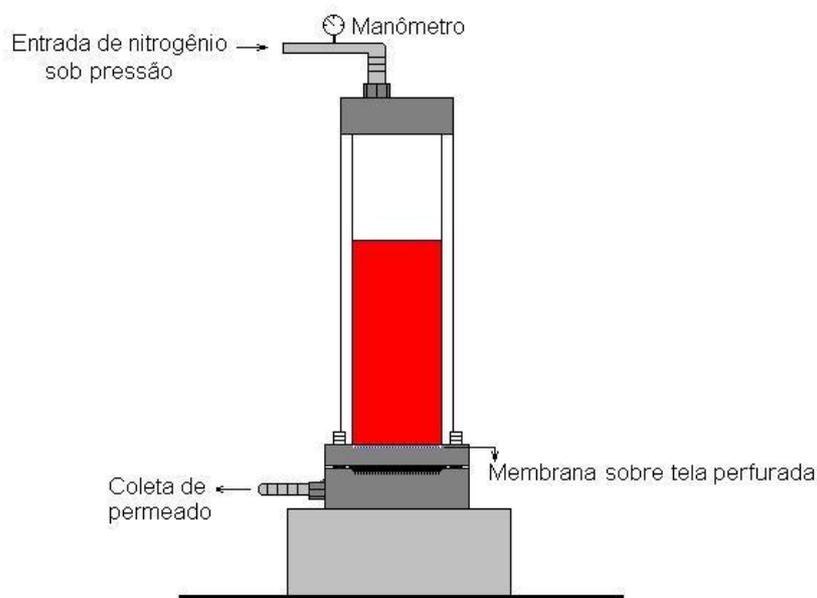


Figura 14 – Célula de Filtração

Para os testes com *colloidal gas aphrons* (CGAs), a extração foi realizada de forma similar, porém foi utilizado um Becker, solução de KOH 0,5 % e agitação magnética por 30 minutos conforme Figura 15. A filtração foi feita em uma célula de vidro e a pressão utilizada foi de 6 bar. A solução resultante contém o sal de potássio da norbixina (norbixato de potássio).

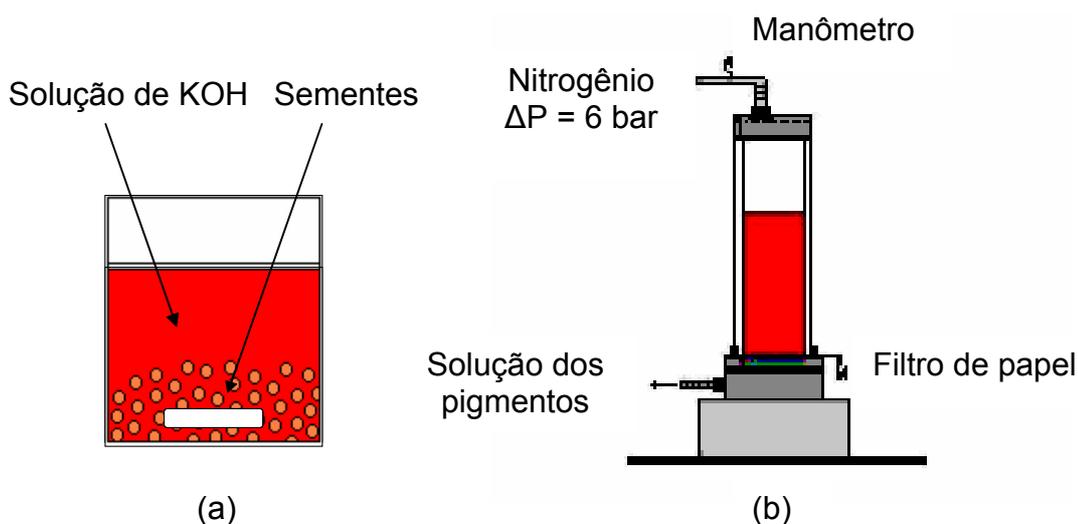


Figura 15 – Extração dos Pigmentos. (a) Extração dos Pigmentos das Sementes com Solução de KOH. (b) Filtração da Solução com os Pigmentos utilizando uma Célula de Filtração de Vidro com Nitrogênio

3.7 – Determinação de Bixina na Semente

É descrito a seguir o método de YABIKU e TAKAHASHI (1992).

Uma massa de 100 g de sementes foi moída em um moinho de facas ou equivalente. Pesada com precisão de mg, cerca de 2 gramas da semente moída foram transferidas para um Erlenmeyer de 300 mL. Foram adicionados 100 mL de clorofórmio com agitação vigorosa durante três minutos. Filtrou-se através de lã de

vidro, recebendo o filtrado em balão volumétrico de 250 mL. O resíduo e a lã foram retornados e re-extraídos com 50 mL de clorofórmio. Filtrou-se em lã de vidro, recebendo o filtrado no mesmo balão volumétrico. O procedimento de extração foi repetido com alíquota de 50 e 30 mL de clorofórmio ou até a extração completa dos pigmentos. O volume foi completado com clorofórmio até 250 mL.

Uma alíquota de 10 mL foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Completou-se o volume com clorofórmio. Uma alíquota de 10 mL foi diluída com clorofórmio em balão volumétrico de 100 mL. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 501 nm, usando clorofórmio como branco.

A concentração da bixina foi encontrada usando-se o coeficiente de extinção:

$$E_{1cm}^{1\%} = 2826 .$$

3.8 – Determinação de Norbixina na Semente

O método utilizado para a determinação de norbixina foi desenvolvido por YABIKU e TAKAHASHI (1992).

Cerca de 25 g de sementes foram pesadas com precisão de mg em um Erlenmeyer de 500 mL. Foi adicionado 150 mL de solução de KOH a 5 %, fervente. Aquecido à ebulição por um minuto e resfriado em água corrente. Filtrou-se através de lã de vidro para um balão volumétrico de 1000 mL e o resíduo foi lavado com 100 mL de água destilada. O processo de lavagem foi repetido por mais sete vezes e completado o volume com água destilada. Uma alíquota de 2 mL dessa solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL, completando-o com solução de

KOH a 0,5%. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 453 nm, em cubeta de 1 cm de percurso óptico, usando como branco a solução de KOH a 0,5 %.

A concentração de norbixina foi encontrada usando-se o coeficiente de extinção: $E_{1cm}^{1\%} = 3473$.

A percentagem de norbixina encontrada multiplicada pelo fator 1,16 dá o percentual de bixina.

3.9 – Determinação de Umidade na Semente

A determinação de umidade descrita a seguir foi realizada de acordo com as NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985).

Uma massa de 2 gramas da amostra foi pesada em placa de Petry, previamente aquecida em estufa a 105 °C por 24 horas, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Aqueceu-se durante 24 horas em estufa a 105° C e resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e foi pesado. As operações de aquecimento em estufa e resfriamento em dessecador foram repetidas até peso constante. O cálculo foi feito pela Equação 3.9-1:

$$Umidade\% = \frac{100 \times N}{P} \quad (3.9-1)$$

onde N é a massa em gramas de umidade e P é a massa em gramas da amostra.

3.10 – Teste dos Adsorventes – Adsorção e Dessorção de Bixina

Visando obter um produto com alto teor de bixina a partir de um extrato bruto de pigmentos de urucum, foram utilizados os adsorventes relacionados na seção 3.2 para a adsorção da bixina deste extrato e sua posterior dessorção e obtenção de um produto concentrado.

Massas conhecidas do adsorvente foram testadas em volumes conhecidos de solução dos pigmentos em acetato de etila ou clorofórmio. Para os testes de dessorção, acetona foi o solvente utilizado.

Para os testes de adsorção com acetato de etila, os adsorventes foram secos a 130° C por 1 hora em estufa com circulação de ar. O tempo de adsorção foi de 15:10 horas em temperatura ambiente, com agitação eventual durante as 3 primeiras horas.

A solução de origem foi feita dissolvendo 0,3405 g de um extrato de urucum com teor de bixina de 14,3 % em 300 mL de Acetato de Etila. A massa de adsorvente utilizada foi de 1,497 g \pm 0,001. O volume de solução de origem utilizado para cada adsorvente foi de 50 mL.

Para os testes de adsorção com clorofórmio, os adsorventes foram secos a 150° C por 12 horas em estufa com circulação de ar. O tempo de adsorção foi de 3 horas em temperatura ambiente, com agitação eventual.

A solução de pigmentos foi feita a partir de uma amostra de 10,003 g de sementes de urucum. Os pigmentos foram extraídos das sementes com 150 mL de

clorofórmio, com auxílio de agitação magnética por 1,5 hora e após, a solução foi filtrada na célula de filtração com nitrogênio.

Os adsorventes utilizados foram secos a 150° C por 12 horas. A massa de adsorvente utilizada foi de 0,5 g ($\pm 0,002$) e o volume da solução filtrada para cada experimento foi de 10 mL, com agitação eventual.

A análise da adsorção foi realizada através dos espectros de varredura das soluções na faixa de 190 a 590 nm ao final das 15:10 horas para o acetato de etila e 3 horas para clorofórmio. O cálculo do percentual adsorvido foi feito pela medida no comprimento de onda de absorção da bixina, que para o acetato de etila é 487 nm e para o clorofórmio é 501 nm, em relação a solução de origem. Do mesmo modo, foi feita a análise da dessorção e o comprimento de onda de adsorção da bixina em acetona é de 487 nm.

3.11 – Geração das CGAs

As soluções de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) foram preparadas em uma solução tampão de Tris[hidroximetilaminometano – HCl] a pH 8, nas concentrações de 1 mmol/L, 2 mmol/L e 4 mmol/L e uma solução de CTAB a 2 mmol/L CTAB foi preparada em água destilada (pH 6,0). A solução 2 mmol/L de AOT (di-[2-etilhexil] sulfosuccinato de sódio) foi preparada em água destilada. As CGAs foram geradas pela agitação de 400 mL de solução de CTAB ou AOT a 8000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente usando um agitador de alta velocidade com hélice quatro pás (D = 30 mm) rodeado por uma cobertura perfurada e leitor digital de velocidade, conforme as Figuras 16 e 17.



Figura 16 – Hélice de Quatro Pás do Agitador utilizado para Geração de CGAs

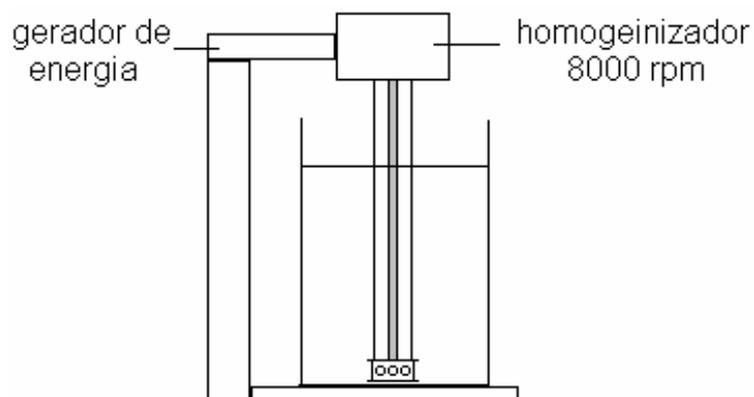


Figura 17 – Agitador utilizado para Geração de CGAs

3.12 – Extração de Norbixina Utilizando CGAs

Com o objetivo de se obter um produto com alto teor de norbixina a partir de um extrato bruto de pigmentos de urucum, um novo processo de separação da norbixina foi estudado utilizando *colloidal gas aphrons* (CGAs).

Para todos os experimentos, 1 mL da solução de pigmentos filtrada foi misturada com um volume conhecido de CGAs a temperatura ambiente e agitado magneticamente por 5 minutos. Após, a solução foi deixada em repouso por 5 minutos para a separação em duas fases: fase CGA ou fase *aphron* (topo) e fase líquida (Figura 18). A fase líquida foi removida com o auxílio de uma pipeta e a fase do topo foi seca por 24 horas em uma estufa a 30° C para se obter um pó fino vermelho.

A extração da norbixina foi calculada pela diferença entre o conteúdo inicial de norbixina na amostra e o conteúdo de norbixina remanescente na fase líquida através de análise espectrofotométrica utilizando uma solução de KOH a 0,5 %. Uma curva de calibração foi feita a partir de uma massa de concentração conhecida de padrão de bixina e esta por sua vez foi convertida a norbixina com o auxílio de uma solução de KOH 0,5 %.

A razão do volume das CGAs para o volume de solução de norbixina foi variada para estudar o efeito das variações na superfície disponível para a adsorção da norbixina bem como a variação do pH.

Os experimentos foram realizados a uma concentração de norbixina constante (1.47 g/L) e concentração de surfactante (1, 2 e 4 mmol/L). Um mililitro da solução de pigmentos foi misturado com diferentes volumes de CGAs (5, 10, 15, 20 e 30 mL), conseqüentemente a concentração da norbixina e surfactante na mistura foram modificados.

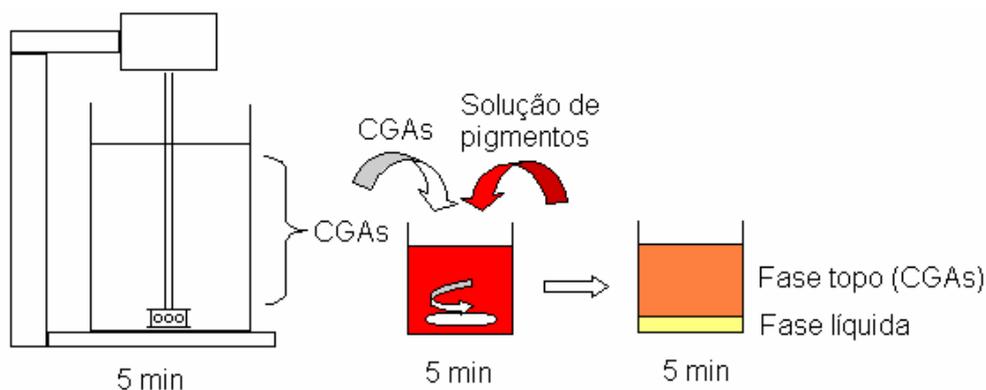


Figura 18 – Extração de Norbixina utilizando CGAs

3.13 – Análise do Surfactante

O conteúdo de surfactante na fase líquida foi analisado utilizando uma metodologia adaptada de SONG e LIANG (1996). O método é baseado na formação de um complexo ternário de Fe (III) – Chrome Azurol – surfactante catiônico, como descrito abaixo.

As seguintes soluções reagentes foram preparadas: solução 2 mmol/L de chrome azurol S (CAS), uma solução 1×10^{-3} mol/L de Fe (III), uma solução tampão de fosfato (pH 5,8, 0,2 mol/L) e uma solução 0,05 mol/L de carbonato de sódio.

As seguintes soluções foram adicionadas em seqüência em um tubo de ensaio: 1 mL de solução CAS, 1 mL de solução de Fe (III), 3 mL de solução tampão de fosfato e 0,3 mL de solução de carbonato de sódio. Após, o tubo de ensaio foi agitado em um vórtex por 20 segundos. Adicionou-se 50 a 500 μ L da amostra e diluído com solução tampão até completar 10 mL de solução total. A solução final foi então agitada em vórtex por mais 20 segundos e analisada utilizando um

espectrofotômetro e leitura no comprimento de onda de 680. A concentração do surfactante na fase do topo foi obtida a partir do balanço de massa.

3.14 – Concentração Micelar Crítica (CMC)

A concentração micelar crítica do surfactante foi determinada pela medida da mudança da tensão superficial como uma função da concentração do surfactante. A tensão superficial foi determinada pelo método de placa de Wilhelmy, no qual uma placa de mica é parcialmente imersa verticalmente no líquido a ser analisado, como descrito por Shaw (1992).

O método de placa de Wilhelmy mede o peso do líquido arrastado por uma placa quando esta é levantada da superfície do líquido. O peso do líquido é proporcional a tensão superficial do mesmo. Quando operado em modo não anexado, a placa é movida em direção a superfície do líquido até o menisco se conectar com a placa e depois a placa é levantada. A tensão superficial é calculada pela força resultante, isto é, a placa é elevada gradualmente e a força máxima de empuxo (F_{\max}) necessária para deslocar a placa do líquido é medida por uma balança de precisão e então automaticamente relacionada à tensão superficial (γ) pela equação:

$$\gamma = \frac{(F_{\max} - mg)}{2(l + t)} \quad (3.14-1)$$

Onde m , l e t são a massa, o comprimento e a espessura da placa, respectivamente, g é a força da gravidade e γ é a tensão superficial expressa como mN/m.

Os experimentos foram realizados a 23 - 25 °C em triplicata. A tensão superficial foi determinada a pH 8 (0,0625 mol/L Tris/HCl). A CMC, que é concentração do surfactante na qual a tensão superficial não decresce mais com o aumento das concentrações do surfactante, como uma consequência do processo de formação de micela, foi estimado pela determinação do ponto de inflexão na curva do gráfico da tensão superficial contra o log da concentração do surfactante.

3.15 – Tempo de Meia-Vida e Gás *Hold-up*

A estabilidade das CGAs foi avaliada pela medida de tempo de meia-vida da dispersão. Após sua geração, as CGAs foram colocadas em uma proveta. O volume da fase líquida ($V_{líq}$), o volume total (V_{Total}) e o volume de *aphrons* ($V_{aphrons}$) foram medidos ao longo do tempo para se determinar o tempo de meia-vida das CGAs. O tempo de meia-vida (\mathcal{G}) foi calculado pela equação:

$$\tau = \frac{V_{l_0}}{2} \quad (3.15-1)$$

Onde V_{l_0} é o volume da fase líquida.

A meia-vida das CGAs é calculada como o tempo necessário para drenar metade do volume inicial de líquido na dispersão CGA. A Figura 19 mostra o desenho esquemático para a drenagem das CGAs em função do tempo (t), onde V_{a0} = volume total da dispersão CGA quando a agitação foi cessada, V_{l_0} = volume inicial da solução de surfactante na dispersão CGA, $V_a(t)$ = volume da dispersão CGA no tempo t , $V_l(t)$ = volume do líquido drenado no tempo t , \mathcal{G} = meia vida, $V_a(\mathcal{G})$ =

volume da dispersão CGA na meia vida \mathcal{G} , $V_l(\mathcal{G}) = V_{l0}/2 =$ volume do líquido drenado na meia vida.

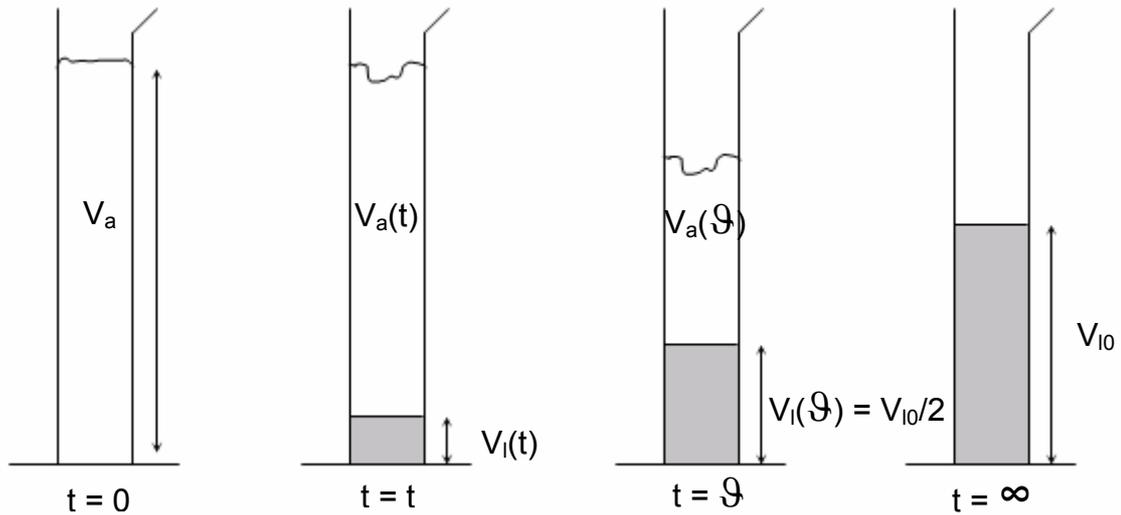


Figura 19 – Drenagem das CGAs em função do Tempo

Gás *hold-up* (ε) é definido como a razão do volume de gás (V_g) na dispersão para o volume total da dispersão (V_{a0}), conforme a equação:

$$\varepsilon = \frac{V_g}{V_{a0}} = \frac{V_{a0} - V_{l0}}{V_{a0}} \quad (3.15-2)$$

Após a caracterização das CGAs através das medidas de gás *hold-up*, CMC e tempo de meia-vida, foram realizados experimentos de recuperação de norbixina a partir de um extrato bruto de pigmentos de urucum, visando o estudo da influência dos parâmetros, concentração do surfactante, volume de CGAs e conseqüente razão molar surfactante/norbixina e pH.

A matriz destes ensaios é apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 – Matriz dos Ensaio de Recuperação de Norbixina

| Solução de surfactante | Concentração (mmol/L) | Volume de CGAs | pH |
|--|------------------------------|-----------------------|-----------|
| Brometo de cetiltrimetilamônio | 1, 2, 4 | 5, 10, 15, 20, 30 | 8 |
| Brometo de cetiltrimetilamônio | 2 | 5, 10, 15, 20, 30 | 6 |
| di-(2-etilhexil) sulfosuccinato de sódio | 2 | 5, 10, 15, 20, 30 | 6 |

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados e discussão referentes à adsorção da bixina utilizando vários adsorventes em solução de pigmentos de urucum em acetato de etila e em clorofórmio e, dessorção dos mesmos com acetona, bem como a análise do padrão de bixina.

A escolha dos solventes, acetato de etila e clorofórmio, para os testes de adsorção, foi devido a bixina possuir boa solubilidade nestes e o solvente escolhido para os testes de dessorção, acetona, foi devido a esta possuir uma polaridade mais alta que o acetato de etila e o clorofórmio, e assim facilitar a dessorção.

São também apresentados os resultados obtidos utilizando *colloidal gas apheresis*, gerados a partir de soluções de surfactante catiônico e aniônico, para a recuperação da norbixina proveniente de um extrato bruto da extração dos pigmentos de urucum com solução de KOH 0,5 %.

4.4 – Padrão de Bixina

Ésteres são caracterizados no infravermelho pela forte absorção devido à frequência de estiramento da ligação C=O entre 1740 e 1700 cm^{-1} . Como os éteres

e álcoois, eles também possuem uma ligação simples C-O que produz bandas muito fortes na região de 1000 a 1200 cm^{-1} . Na análise do padrão de bixina, os picos característicos do OH são encontrados entre 3300 – 2400 cm^{-1} com uma banda forte, C=O a 1716 cm^{-1} com uma banda muito forte e a ligação C-O com uma banda forte a 1287 cm^{-1} e 1159 cm^{-1} muito forte. A Figura 20 mostra o espectro no infravermelho do padrão de bixina.

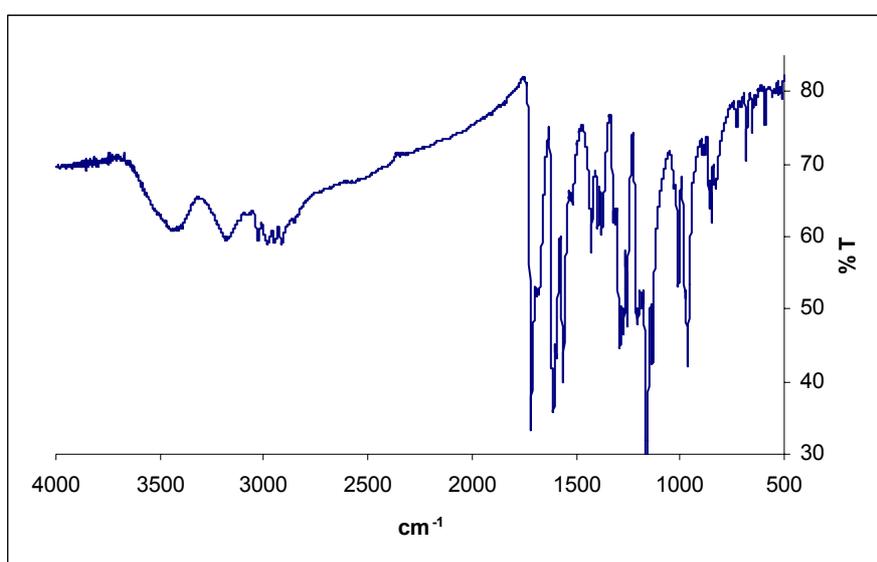


Figura 20 – FTIR do Padrão de Bixina

Quase todos os carotenóides absorvem luz na faixa de comprimento de onda entre 400 e 500 nm e o espectro na região do visível da maior parte dos carotenóides aparece não como um único pico, mas três, devido às transições do nível vibracional mais baixo do estado eletrônico normal da molécula aos níveis vibracionais mais baixos do estado eletrônico excitado (BRITTON *et al.*, Vol.1B, 1995). A Figura 21 mostra o espectro de varredura do padrão de bixina em clorofórmio.

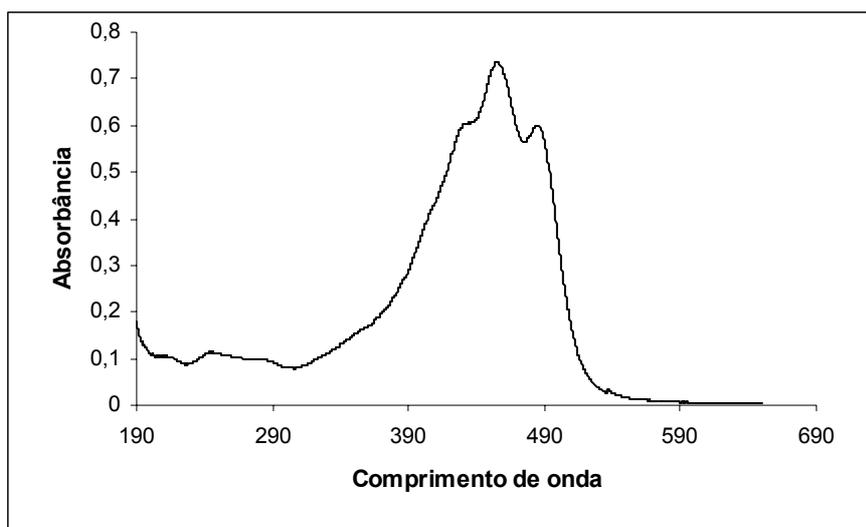


Figura 21 – Espectro de Varredura do Padrão de Bixina em Clorofórmio

4.1 – Testes de Adsorção com Acetato de Etila

Os adsorventes foram secos a 130° C por 1 hora em estufa com circulação de ar. O tempo de adsorção foi de 15:10 horas em temperatura ambiente, com agitação eventual durante as 3 primeiras horas.

A solução de origem foi feita dissolvendo 0,3405 g de um extrato de urucum com teor de bixina de 14,3 % em 300 mL de Acetato de Etila. Os adsorventes utilizados foram Engelhard, Optimum 380 FF, Terrana 580 FF, Supreme 180 FF e Actisil 280 FF e a massa foi de 1,497 g \pm 0,001. O volume de solução de origem utilizado para cada adsorvente foi de 50 mL.

Ao final das 15:10 horas, foi feito um espectro de varredura na faixa de 190 a 590 nm e verificado o percentual de corante adsorvido, conforme a Figura 22.

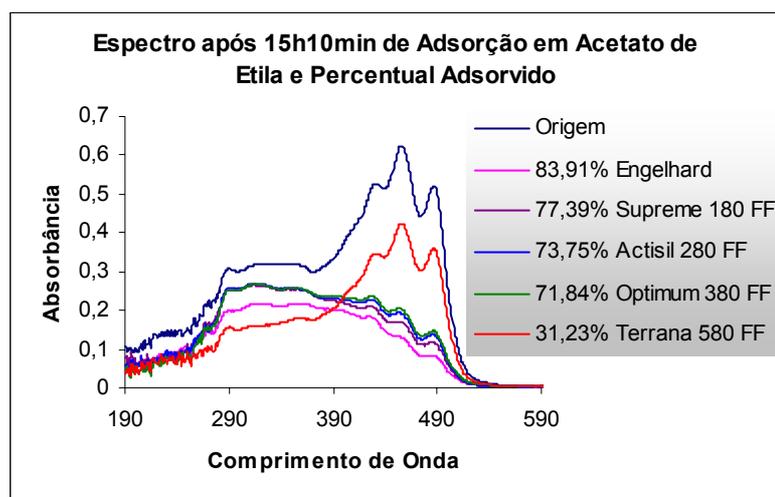


Figura 22 – Espectro de Adsorção em Solução de Acetato de Etila e Vários Adsorventes

Para o acompanhamento da cinética de adsorção, foi utilizado o adsorvente Engelhard que mostrou maior poder adsorvivo. Uma solução do corante foi preparada a partir de 0,3314 g de um extrato com concentração de 14,3 % de bixina em 250 mL de acetato de etila. O adsorvente foi previamente seco a 120° C em estufa de circulação de ar.

Uma massa de 2,5025 g do adsorvente foi colocada em 100 mL da solução de origem. A Figura 23 mostra o comportamento da adsorção através de varredura em espectrofotômetro no intervalo de 190 a 590 nm.

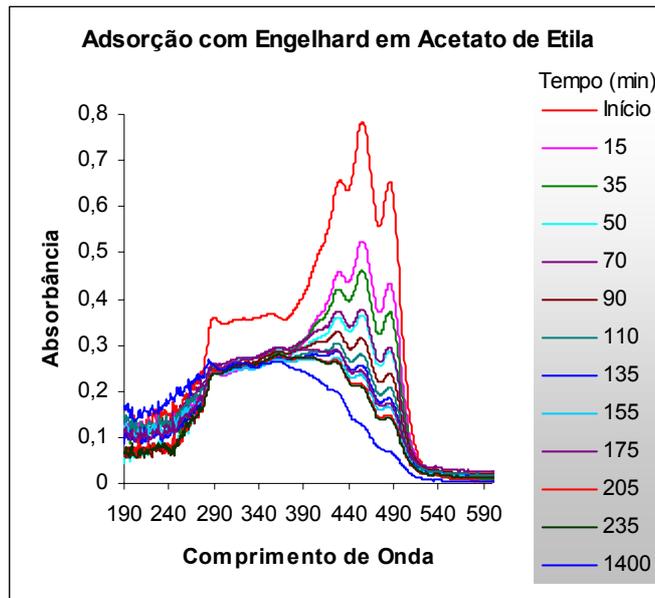


Figura 23 – Comportamento da Adsorção em Engelhard com Acetato de Etila

A Figura 24 mostra a cinética de adsorção e observa-se que a partir de 200 minutos de adsorção não houve variação significativa do percentual de adsorção da bixina.

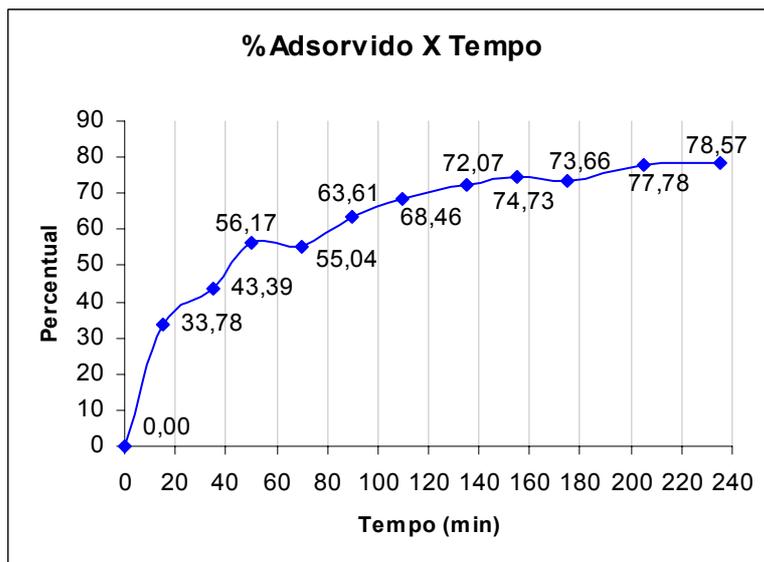


Figura 24 – Cinética da Adsorção em Engelhard com Acetato de Etila

Para verificar a influência do óleo contido nas sementes de urucum sobre a adsorção, o óleo de uma amostra de sementes foi extraído com hexano em Soxhlet, por 5 horas. Uma amostra de 20,196 g das sementes sem o óleo foi colocada em agitação magnética com 300 mL de acetato de etila por 2,5 horas. Após, a solução foi filtrada utilizando uma célula de filtração com nitrogênio. A partir da solução filtrada, cada experimento utilizou 25 mL desta e 1 grama de adsorvente. Os resultados obtidos são mostrados nas Figuras 25 a 29, conforme metodologia apresentada na seção 3.10.

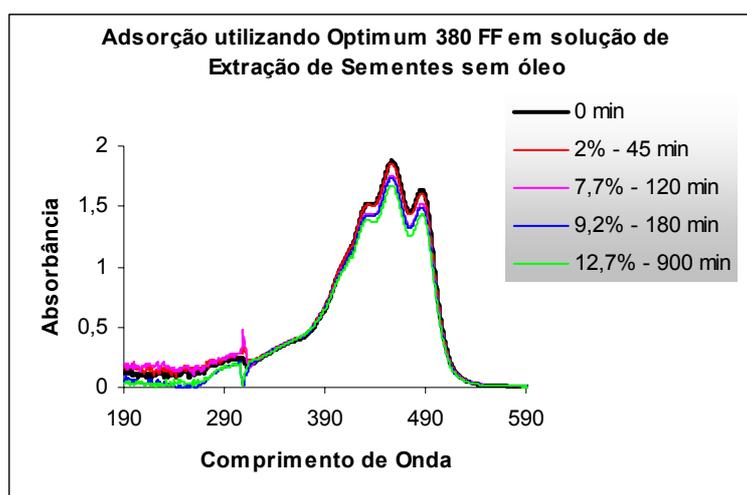


Figura 25 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Optimum 380 FF

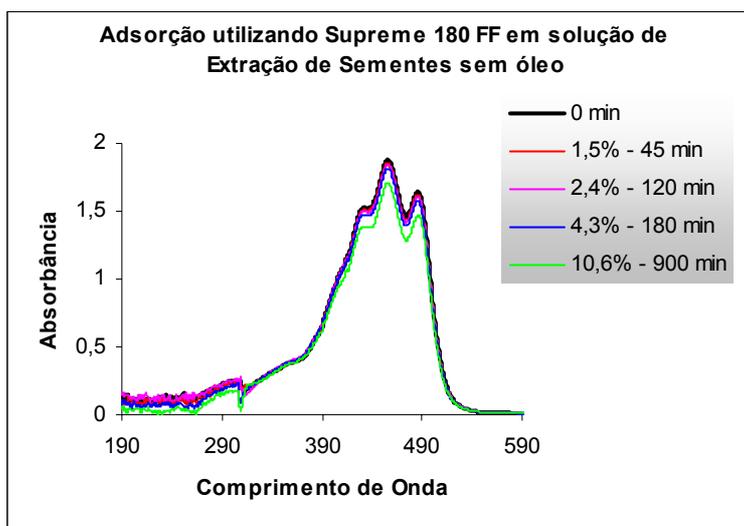


Figura 26 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Supreme 180 FF

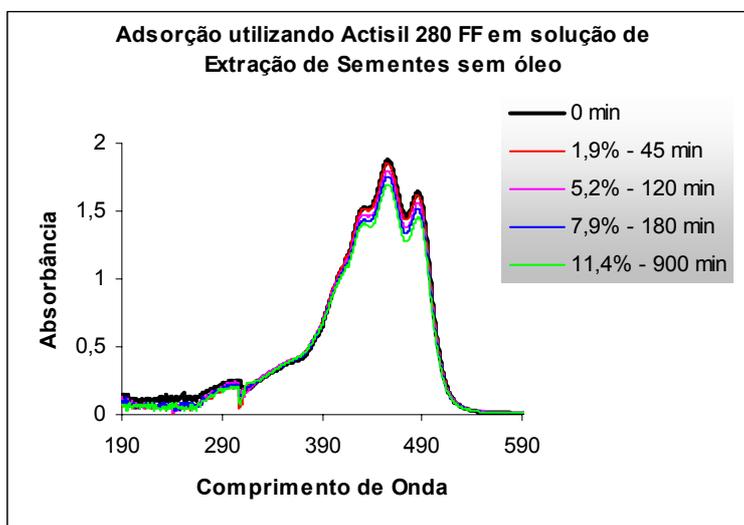


Figura 27 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Actisil 280 FF

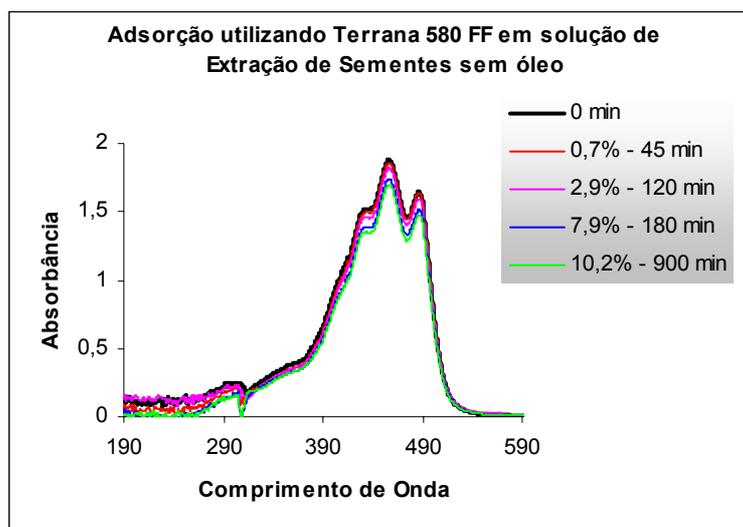


Figura 28 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Terrana 580 FF

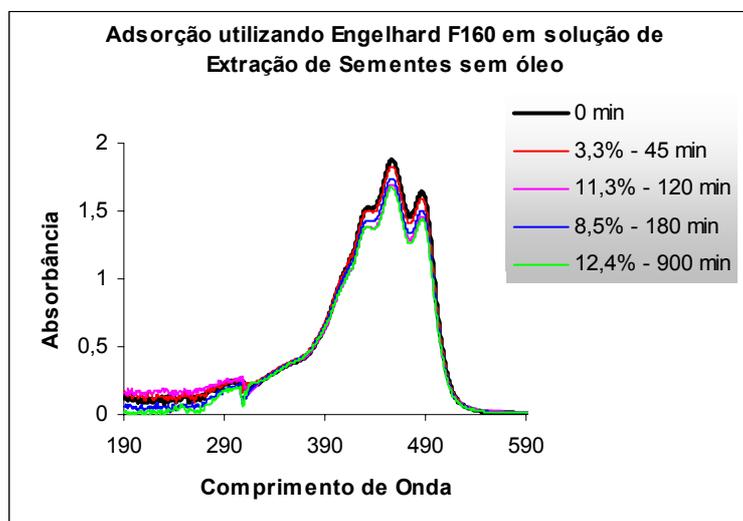


Figura 29 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Engelhard F160

A Tabela 9 mostra os percentuais de adsorção dos corantes de urucum em função do tempo, dos adsorventes estudados.

Tabela 9 – Adsorção dos Corantes de Urucum Extraídos de Sementes sem Óleo

| Tempo (min) | Optimum 380 FF (%) | Supreme 180 FF (%) | Actisil 280 FF (%) | Terrana 580 FF (%) | Engelhard F160 (%) |
|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 2,0 | 1,5 | 1,9 | 0,7 | 3,3 |
| 120 | 7,7 | 2,4 | 5,2 | 2,9 | 11,3 |
| 180 | 9,2 | 4,3 | 7,9 | 7,9 | 8,5 |
| 900 | 12,7 | 10,6 | 11,4 | 10,2 | 12,4 |

Comparando-se as Figuras 24 e 29 pode-se verificar que a presença do óleo influencia no processo de adsorção da bixina, sendo que a remoção deste das sementes torna a adsorção da bixina menos eficiente.

Para verificar o efeito da polaridade da solução na adsorção, a polaridade da solução inicial foi reduzida em 50 % com hexano e utilizado o adsorvente Engelhard F160 para fins comparativos conforme Figura 30.

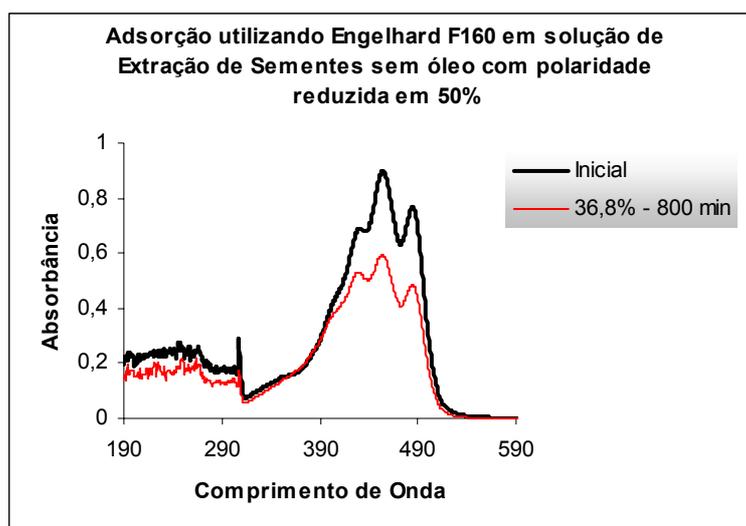


Figura 30 – Adsorção dos Corantes Extraídos de Sementes sem Óleo em Solução com Polaridade Reduzida em 50 % e Adsorvente Engelhard F160

Pela Figura 30 nota-se o aumento na capacidade adsorptiva com a redução da polaridade da solução. Devido a esta observação, experimentos de adsorção foram realizados, mudando-se a polaridade da solução com hexano, partindo de uma solução de extração das sementes sem óleo. O adsorvente escolhido foi Engelhard F160 e o percentual em massa utilizado do mesmo foi de 5 % em cada experimento. Os resultados são apresentados nas Figuras 31 a 35.

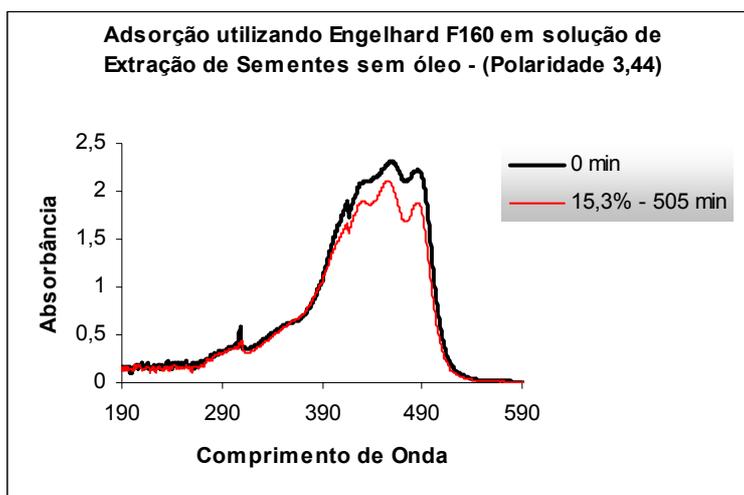


Figura 31 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 3,44

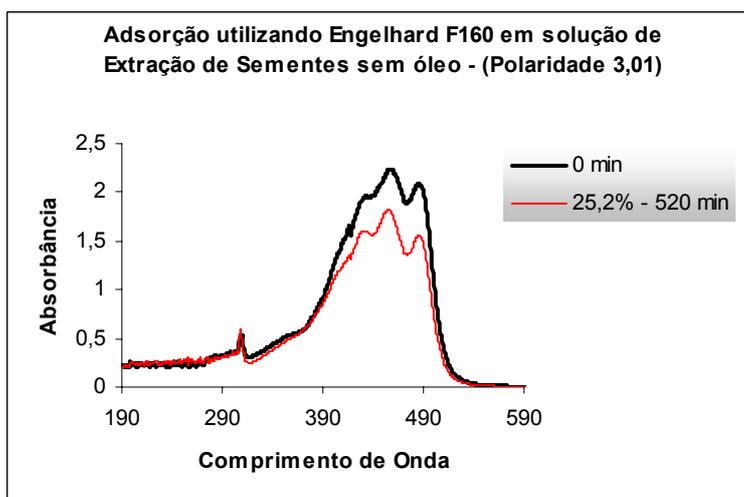


Figura 32 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 3,01

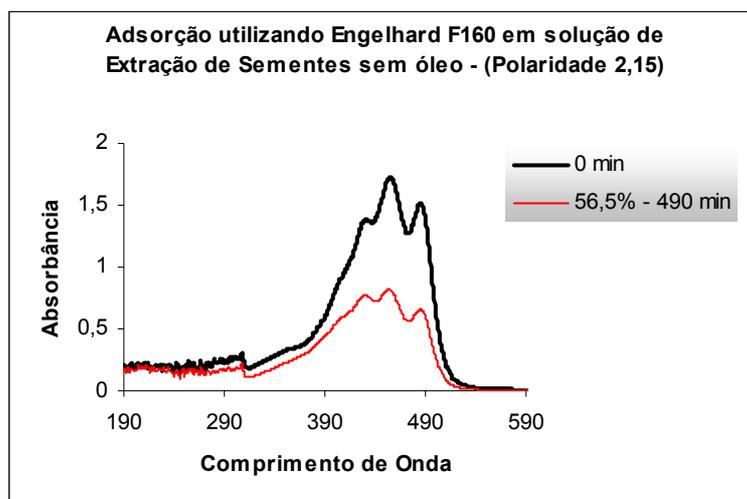


Figura 33 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 2,15

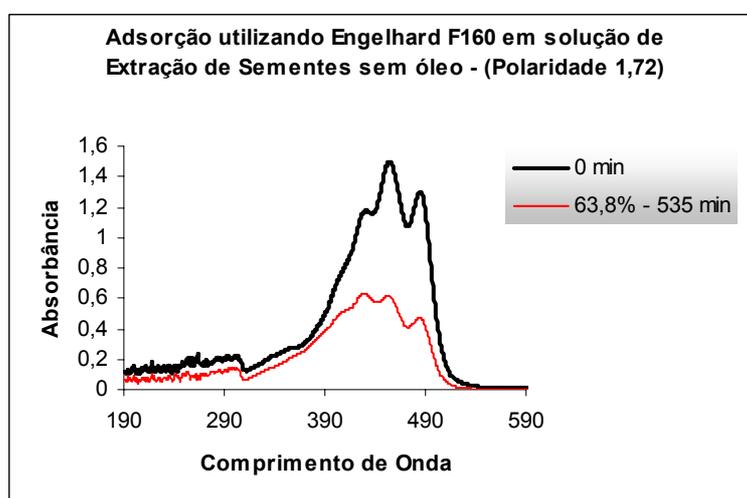


Figura 34 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 1,72

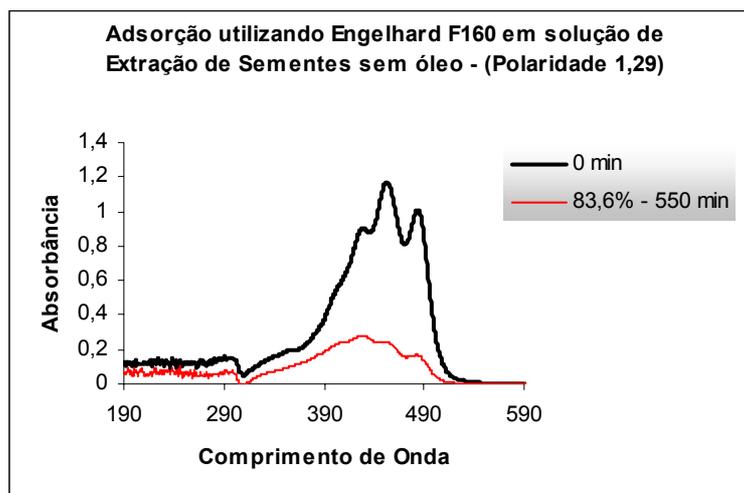


Figura 35 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução de Acetato de Etila com Polaridade de 1,29

Pelas Figuras 31 a 35 verifica-se que quanto menor for a polaridade da solução, maior é o percentual adsorvido. Na figura 35 a solução com polaridade de 1,29 foi obtida adicionando 7 mL de hexano em 3 mL de solução de corante original. Para confirmar que a redução da polaridade exerce influência na adsorção, foi feita uma solução diluída dos pigmentos, tomando 3 mL de solução de pigmentos inicial e adicionado 7 mL de acetato de etila, mantendo a polaridade em 4,30. O resultado é mostrado na Figura 36, que comparado a Figura 35, verifica-se que a diluição da solução teve pouca influência na adsorção. A partir de uma solução com polaridade reduzida a 1,29, a adsorção do corante foi de 83,6 % após 550 minutos e, com uma solução diluída, a adsorção foi de 39,6 %, confirmando que em solução de polaridade baixa a adsorção se torna mais eficiente.

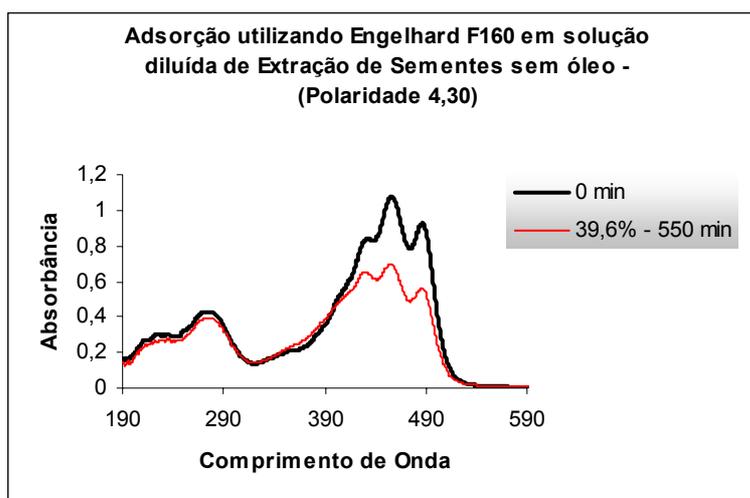


Figura 36 – Adsorção em Engelhard F160 com Solução Diluída de Acetato de Etila com Polaridade de 4,30

4.1.1 – Outros Adsorventes

Outros adsorventes foram utilizados (Zeólita L, Zeólita Y, Zeólita ZSM5, Sílica Gel) em testes de adsorção da bixina, utilizando uma solução de pigmentos de urucum em acetato de etila, porém os resultados preliminares não se mostraram satisfatórios, como mostram as Figuras 37 a 40 e o resumo do percentual adsorvido com relação ao tempo mostrado na Tabela 10. O maior percentual adsorvido foi de 35,6 % para Zeólita L, seguido por 12,8 % para Zeólita ZSM5, 10,5 % para sílica gel e 8,9 % para Zeólita Y.

A solução de pigmentos inicial foi feita com uma massa de 0,2078 g de um extrato de urucum com teor de bixina de 14,3 % em 250 mL de Acetato de Etila. Os testes foram realizados com 50 mL da solução de pigmentos inicial e 1,5 g \pm 0,001 de adsorvente. Os adsorventes foram secos a 130 °C por 1 hora em estufa com circulação de ar. O tempo total de adsorção foi de 6 horas.

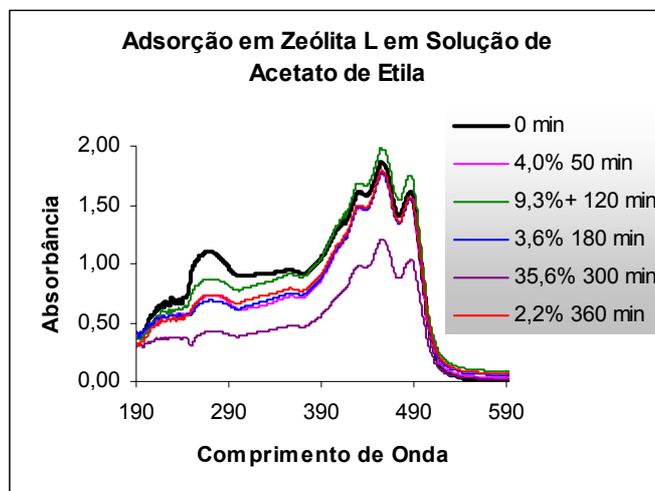


Figura 37 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita L como Adsorvente

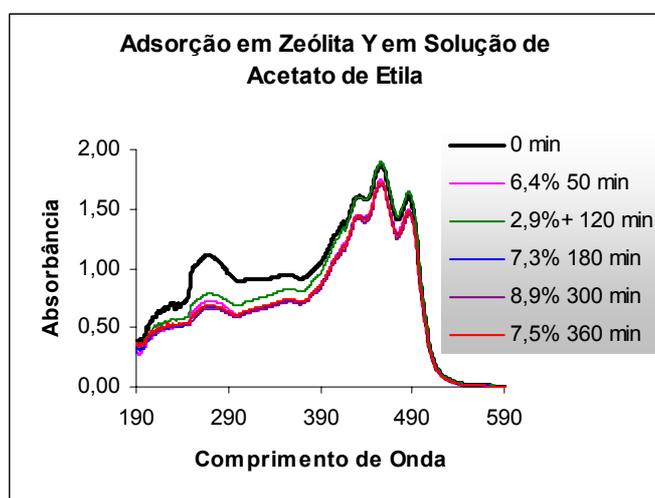


Figura 38 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita Y como Adsorvente

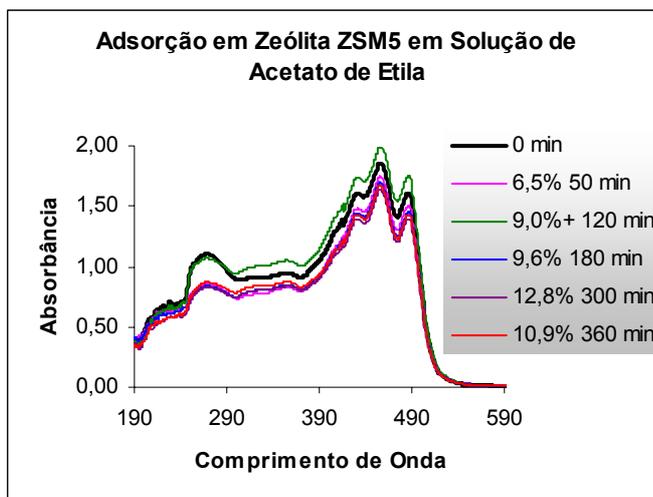


Figura 39 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Zeólita ZSM5 como Adsorvente

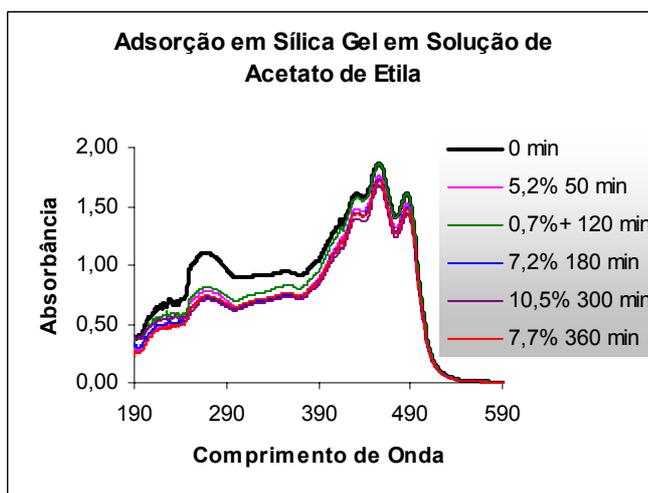


Figura 40 – Adsorção dos Corantes em Acetato de Etila utilizando Sílica Gel como Adsorvente

Tabela 10 – Adsorção dos Corantes de Urucum para Outros Adsorventes Utilizados em relação ao Tempo

| Tempo (min) | Zeólita L (%) | Zeólita Y (%) | Zeólita ZSM5 (%) | Sílica Gel (%) |
|-------------|---------------|---------------|------------------|----------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 50 | 4,0 | 6,4 | 6,5 | 5,2 |
| 180 | 3,6 | 7,3 | 9,6 | 7,2 |
| 300 | - | 8,9 | 12,8 | 10,5 |
| 360 | 2,2 | 7,5 | 10,9 | 7,7 |

Os resultados da adsorção da bixina a partir de uma solução de pigmentos de urucum em acetato de etila mostraram uma maior eficiência quando se utilizou soluções de pigmentos com polaridade reduzida e o adsorvente Engelhard F160, chegando a 83,6 % de adsorção.

4.2 – Testes de Adsorção com Clorofórmio

Testes de adsorção da bixina de uma solução de pigmentos de urucum em clorofórmio foram realizados, a partir de uma amostra de sementes de 10,003 g. Os pigmentos foram extraídos das sementes com 150 mL de clorofórmio, com auxílio de agitação magnética por 1,5 hora e após, a solução foi filtrada na célula de filtração com nitrogênio.

Os adsorventes utilizados foram secos a 150° C por 12 horas. A massa de adsorvente utilizada foi de 0,5 g ($\pm 0,002$) e o volume da solução filtrada para cada experimento foi de 10 mL, com agitação eventual. Os resultados são apresentados nas Figuras 41 a 44.

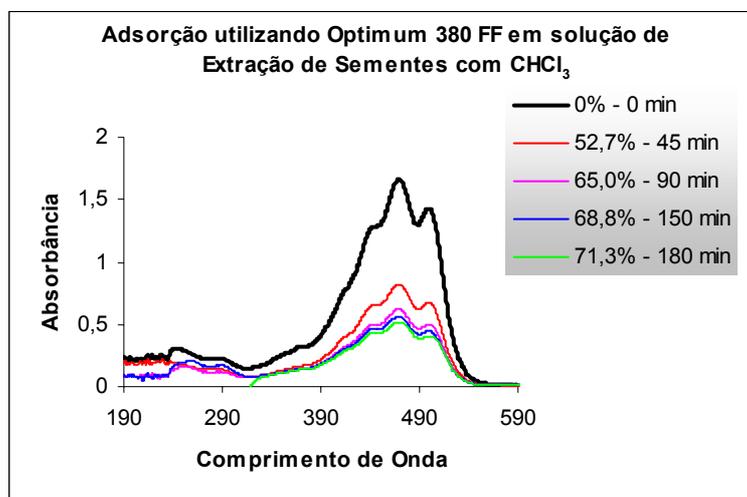


Figura 41 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Optimum 380 FF como adsorvente

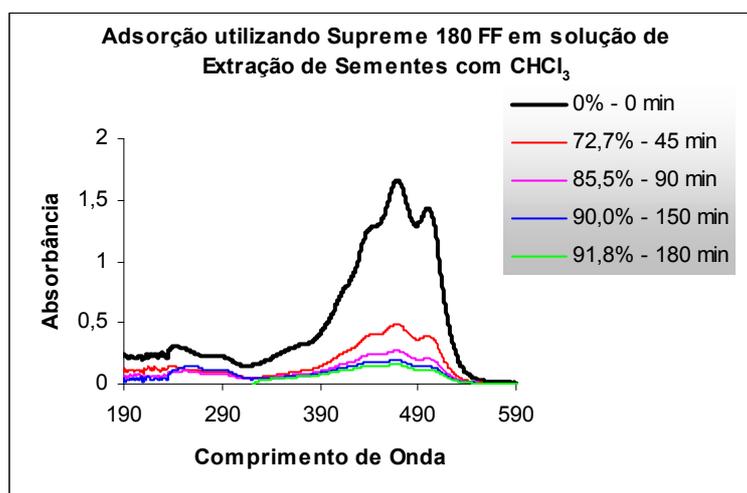


Figura 42 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Supreme 180 FF como adsorvente

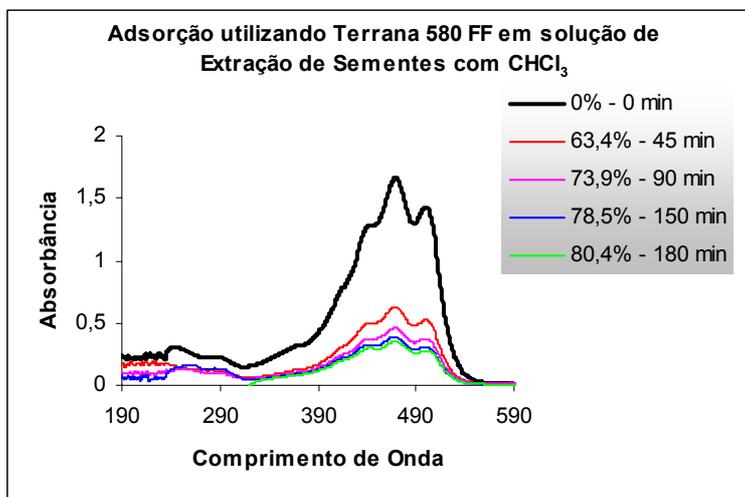


Figura 43 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Terrana 580 FF como adsorvente

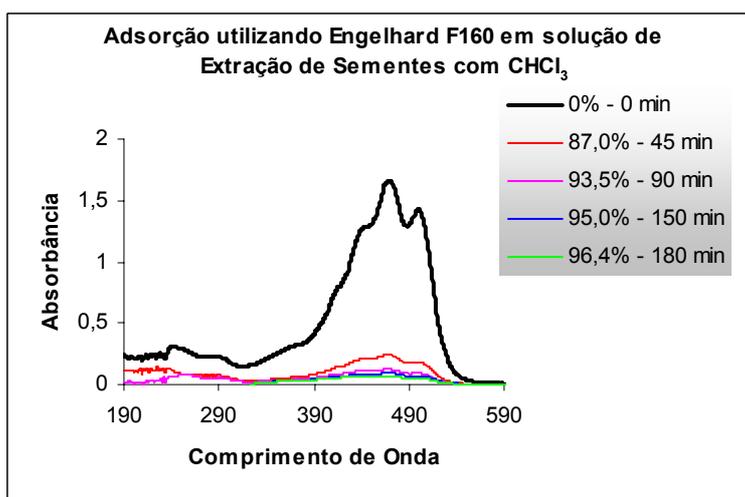


Figura 44 – Adsorção dos Corantes em Clorofórmio utilizando Engelhard F160 como adsorvente

A Tabela 11 mostra os percentuais de adsorção dos corantes de urucum em função do tempo, dos adsorventes estudados.

Tabela 11 – Adsorção dos Corantes de Urucum em Clorofórmio

| Tempo (min) | Optimum 380 FF (%) | Supreme 180 FF (%) | Terrana 580 FF (%) | Engelhard F160 (%) |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 52,7 | 72,7 | 63,4 | 87,0 |
| 90 | 65,0 | 85,5 | 73,9 | 93,5 |
| 150 | 68,8 | 90,0 | 78,5 | 95,0 |
| 180 | 71,3 | 91,8 | 80,4 | 96,4 |

Pelas Figuras e Tabela apresentadas, verifica-se que não houve aumento significativo no percentual adsorvido após 150 minutos, para todos os adsorventes. Os adsorventes com melhor desempenho foram Engelhard F160 e Supreme 180 FF, com 95 e 90 % de adsorção, respectivamente.

Pelos ensaios de adsorção da bixina a partir de uma solução de pigmentos em clorofórmio, verifica-se um alto percentual de adsorção. Em comparação com a bixina em solução de acetato de etila, esta mostrou-se menos eficiente, mesmo quando foram utilizadas concentrações maiores dos adsorventes.

A Figura 45 mostra as isotermas de adsorção da bixina em clorofórmio, utilizando os adsorventes Engelhard F160 e Supreme 180 FF. Verifica-se um comportamento de isoterma do Tipo I, de acordo com a classificação de Brunauer, indicando uma adsorção monocamada.

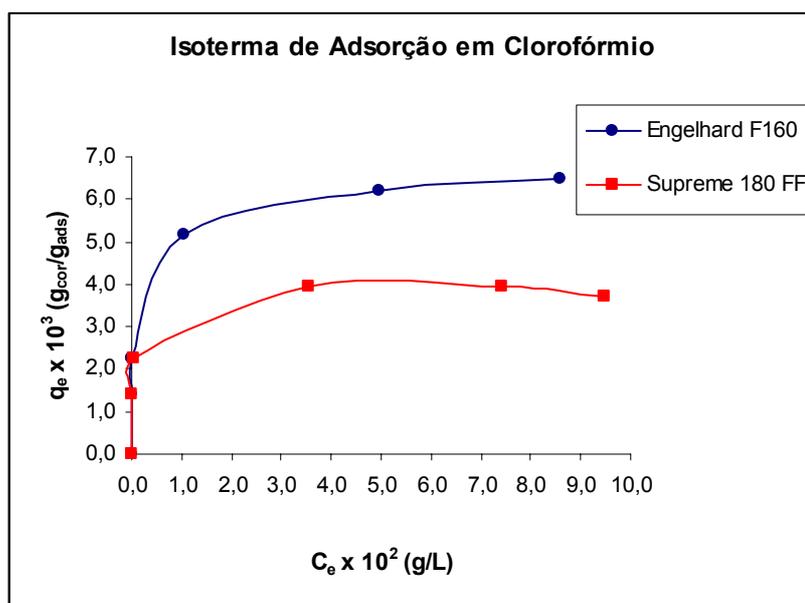


Figura 45 – Isotermas de Adsorção da Bixina em Clorofórmio

4.3 – Testes de Dessorção

Os testes de dessorção da bixina foram realizados utilizando acetona e os adsorventes saturados nos testes de adsorção com solução de pigmentos em clorofórmio. Os adsorventes foram filtrados e secos em estufa com circulação de ar por 30 minutos a 50° C, pois a temperatura mais altas a bixina sofreria degradação. O volume de acetona utilizado foi de 10 mL e o acompanhamento da dessorção foi feito em 30, 90, 150 e 1025 minutos. Os resultados são apresentados nas Figuras 46 a 49.

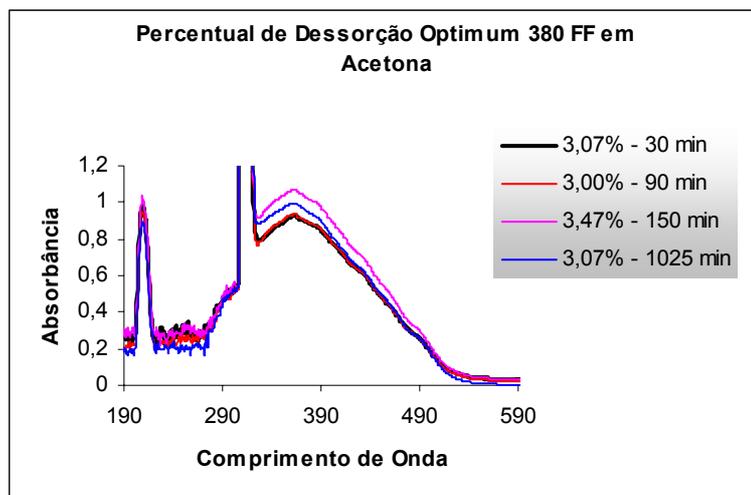


Figura 46 – Dessorção Optimum 380 FF em Acetona

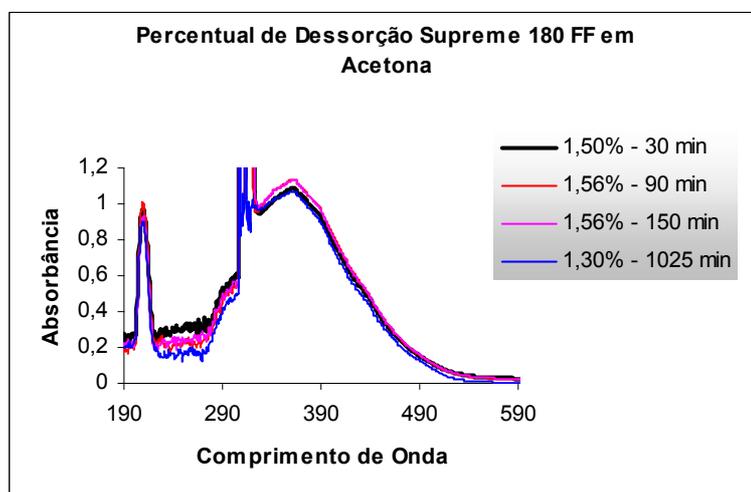


Figura 47 – Dessorção Supreme 180 FF em Acetona

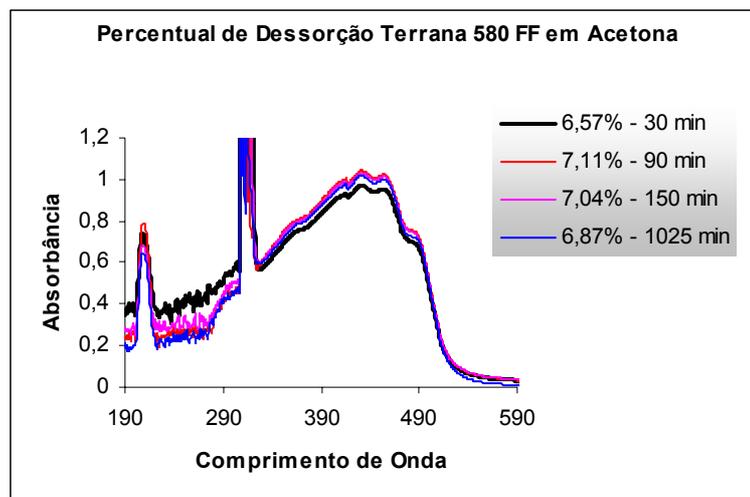


Figura 48 – Dessorção Terrana 580 FF em Acetona

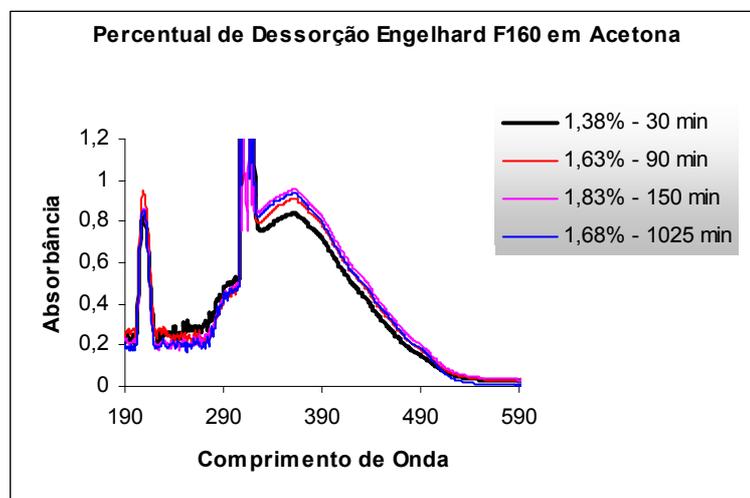


Figura 49 – Dessorção Engelhard F160 em Acetona

Pelas figuras pode-se verificar que houve uma baixa dessorção da bixina. Após 30 minutos, o percentual dessorvido se manteve praticamente constante, não tendo variação significativa em todos os adsorventes testados. Os maiores

percentuais de dessorção encontrados após 150 minutos foram nos adsorventes Terrana 580 FF (7,04 %) e Optimum 380 FF (3,47 %), que nos testes de adsorção mostraram um percentual de adsorção de 78,5 % e 68,8 %, respectivamente.

Os adsorventes que mostraram maior poder adsorativo após 150 minutos, Engelhard F160 (95 %) e Supreme 180 FF (90 %), por outro lado mostraram percentuais de dessorção mais baixos após 150 minutos, sendo de 1,83 % para Engelhard F160 e 1,56 % para Supreme 180 FF.

Observa-se também um aumento de picos na região do UV, que são conhecidos como picos *cis* ou bandas *cis*, que aparecem quando uma dupla ligação se torna *cis* e conseqüentemente a simetria de um carotenóide é perdida e a transição para um maior estado eletrônico excitado acontece. Para todos os compostos *trans* esta transição de estado não acontece e a estrutura eletrônica tem um centro de simetria (BRITTON *et al.*, Vol.1B, 1995).

Através dos ensaios experimentais realizados, foi verificada a grande influência da polaridade dos solventes no processo de adsorção. Foram determinados os adsorventes que apresentaram o melhor desempenho no processo de adsorção e dessorção, e realizado o estudo cinético para os melhores adsorventes estudados. Outros ensaios de dessorção também foram realizados, utilizando acetonitrila por esta possuir uma polaridade mais alta, porém, os percentuais de dessorção continuaram muito baixos.

Foram realizadas análises de infravermelho comparativas dos adsorventes puros e dos adsorventes com a bixina adsorvida para se tentar identificar o tipo de ligação entre a bixina e o adsorvente, já que a dessorção da bixina foi muito baixa, porém não foi possível de se identificar devido a sobreposição de bandas.

4.5 – Colloidal Gas apheresis

Um novo processo de separação foi investigado tendo vários estudos da sua aplicação na recuperação de proteínas, remoção de resíduos tóxicos de óleos e solos, separação de corantes orgânicos de águas residuárias e remoção de metais pesados entre outros já citados na seção 2.10.4. Um dos aspectos inovadores deste novo processo para a recuperação de norbixina a partir de uma solução de pigmentos de urucum é a inexistência de tal processo para a recuperação de corantes naturais e que entre outras vantagens, CGAs apresentam um custo mais baixo quando comparadas a métodos cromatográficos ou separação com membranas.

Um aspecto de grande importância das CGAs é a sua caracterização quanto a estabilidade, gás *hold-up* e concentração micelar crítica (CMC), que a partir destes dados pode-se delinear o processo desejado. Os resultados são apresentados na seção 4.5.1.

4.5.1 – Estabilidade, Gás *hold-up* e CMC

As Figuras 50 e 51 mostram respectivamente, a caracterização das CGAs geradas pelas soluções 1 e 4 mmol/L de CTAB em pH 8 e as Figuras 52 e 53, a caracterização das CGAs geradas pelas soluções 2 mmol/L de CTAB em pH 6 e 8, com relação ao volume da fase *aphron* e fase líquida em função do tempo.

A Figura 54 mostra o gás *hold-up* das CGAs geradas pelas soluções 1, 2 e 4 mmol/L de CTAB nos pH 6 e 8 e a Figura 55 mostra o tempo de meia-vida das CGAs nos pH 6 e 8.

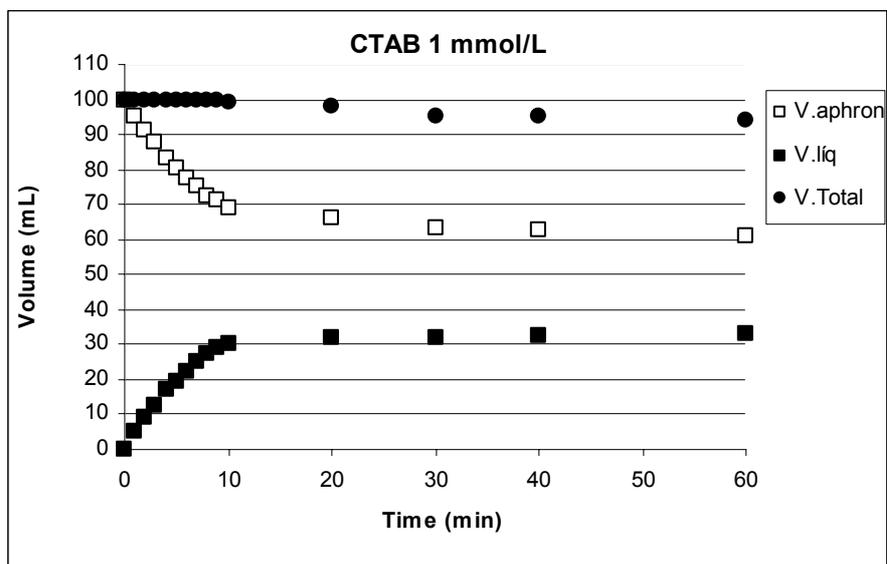


Figura 50 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 1 mmol/L de CTAB pH 8

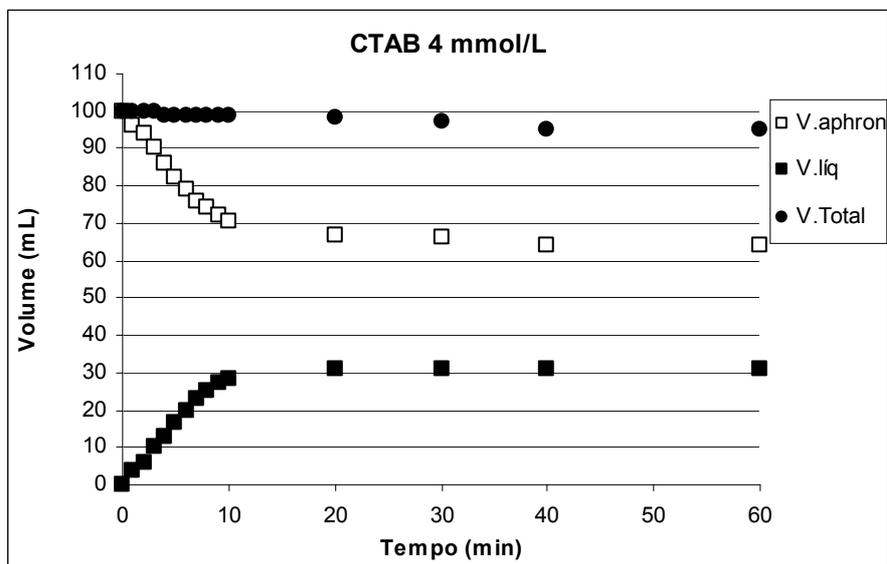


Figura 51 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 4 mmol/L de CTAB pH 8

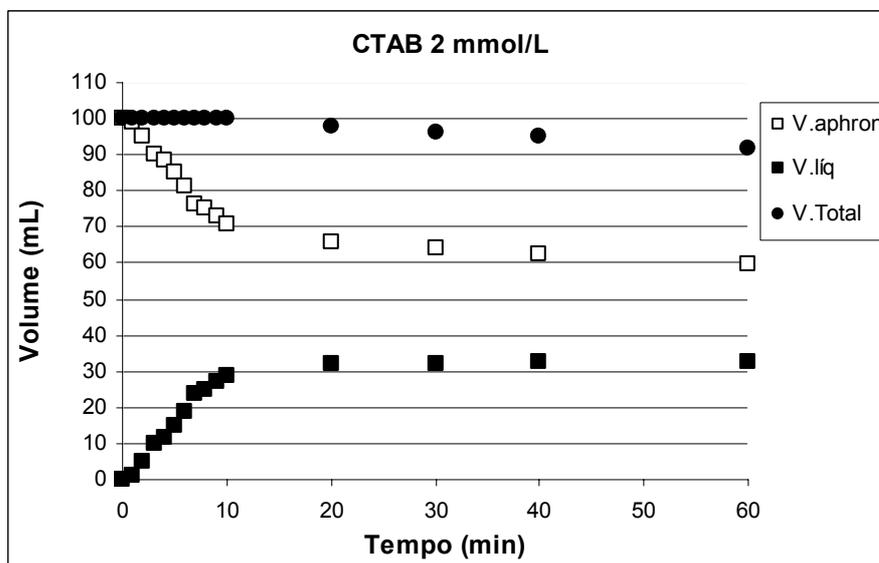


Figura 52 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 2 mmol/L de CTAB pH 6

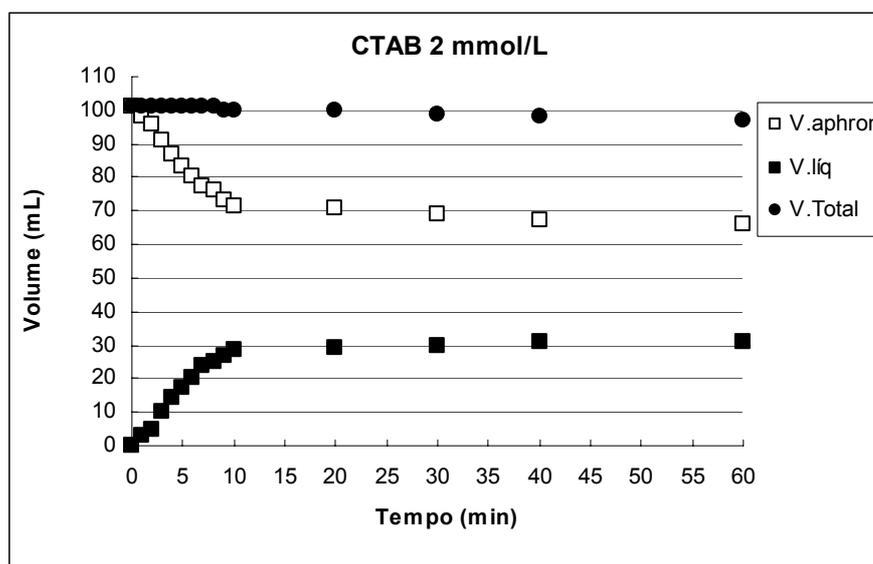


Figura 53 – Caracterização das CGAs geradas a partir de uma Solução 2 mmol/L de CTAB pH 8

Verifica-se pela análise dos resultados apresentados nas Figuras 50 a 53 que a concentração de CTAB no intervalo de 1 a 4 mmol/L não apresentou variação significativa quanto a caracterização das CGAs.

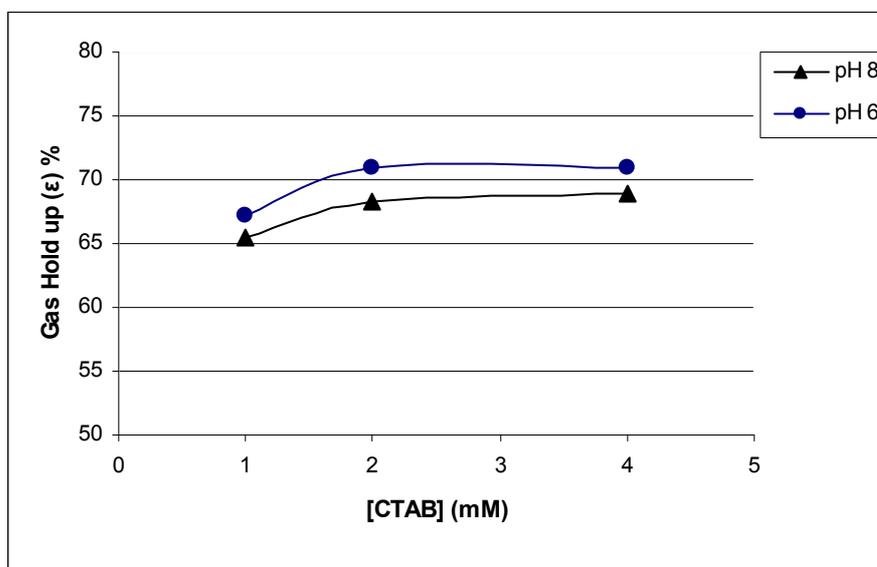


Figura 54 – Gás *hold-up* das CGAs geradas a partir de Soluções 1, 2 e 4 mmol/L de CTAB

Na Figura 54 pode-se verificar os percentuais de gás *hold-up* para as concentrações de CTAB estudadas, onde ocorreu um pequeno aumento em função da concentração do surfactante e decréscimo em função do aumento do pH.

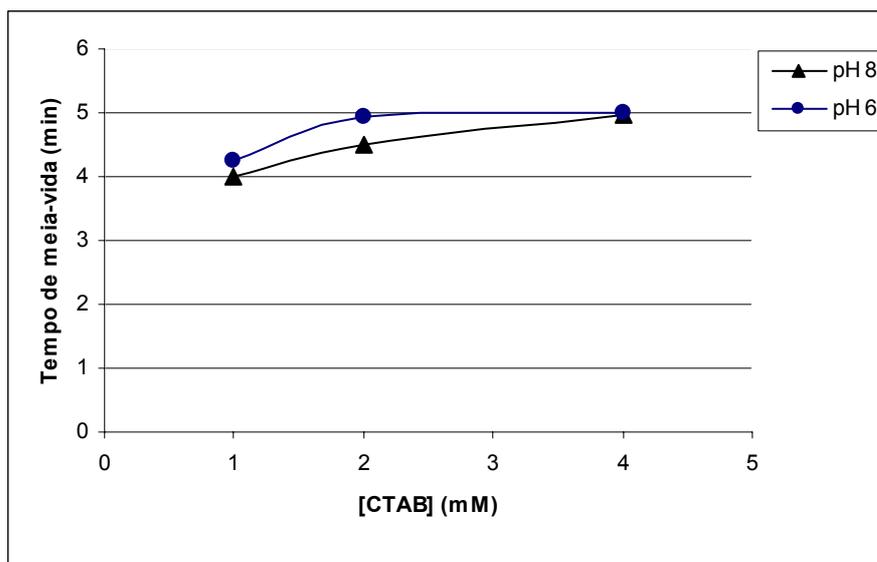


Figura 55 – Tempo de Meia-vida das CGAs geradas a partir de Soluções 1, 2 e 4 mmol/L de CTAB

Pela Figura 55, o tempo de meia-vida das CGAs aumentou com o aumento da concentração da solução de surfactante e para as soluções de concentração 1 e 2 mmol/L em pH 6 observa-se um pequeno aumento no tempo de meia-vida quando comparado com as mesmas soluções em pH 8. Já as CGAs geradas a partir de uma solução 4 mmol/L de surfactante mostraram um tempo de meia-vida similar independente do pH.

A Figura 56 mostra a tensão superficial em função do log da concentração de CTAB em solução tampão de 0,0625 mol/L de Tris/HCl pH 8. A CMC foi estimada em 0,15 mmol/L.

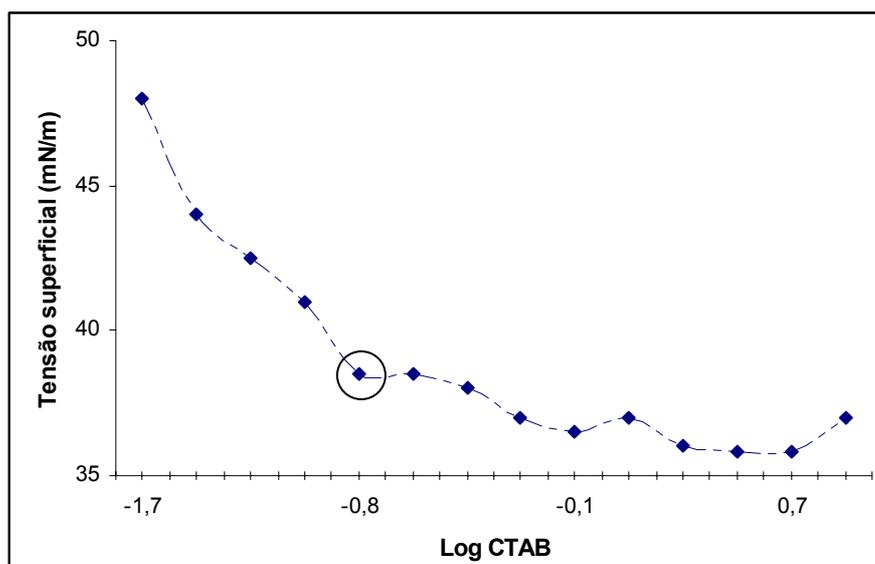


Figura 56 – Tensão Superficial em função do Log da Concentração de CTAB

4.5.2 – Recuperação de Norbixina

O conteúdo de norbixina nas sementes foi de 3,26 % e o rendimento da extração foi de 81 %. Os ensaios foram realizados conforme o procedimento definido na seção 3.8 do capítulo de Material e Métodos.

Com o objetivo de avaliar a recuperação da norbixina a partir de uma solução bruta de pigmentos de urucum, foram testadas as CGAs obtidas e caracterizadas na seção 4.5.1, onde se investigou a influência da concentração da solução de surfactante, volume das CGAs e pH.

A Figura 57 mostra a recuperação de norbixina versus o volume de CGAs para a concentração de surfactante estudada e a Figura 58 mostra a razão molar CTAB/Norbixina.

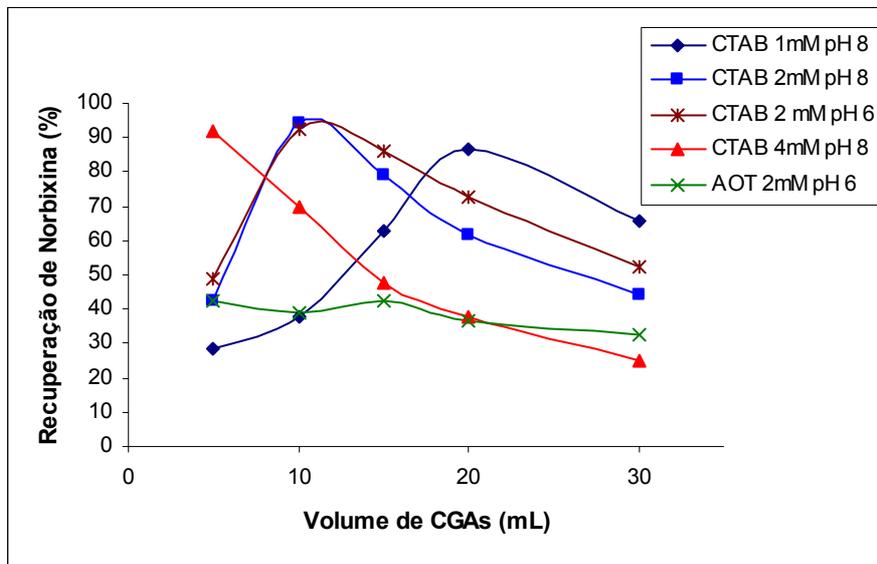


Figura 57 – Recuperação de Norbixina na Fase CGA para quatro Soluções Diferentes de CTAB e uma Solução de AOT

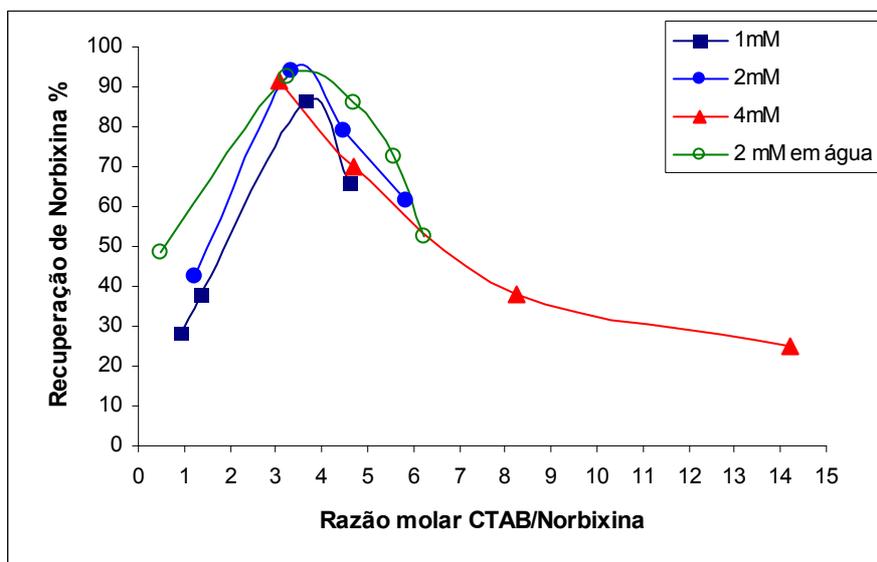


Figura 58 – Razão Molar Surfactante/Norbixina

Os resultados apresentados na Figura 57 mostram uma recuperação máxima de norbixina de 94 % quando se utilizou 10 mL de CGAs gerados a partir de uma solução de CTAB de 2 mmol/L. Uma baixa recuperação de norbixina, de aproximadamente 40 %, foi obtida utilizando CGAs gerados a partir de uma solução de AOT de 2 mmol/L.

De acordo com a Figura 58, uma recuperação similar foi obtida com os experimentos realizados com diferentes concentrações de surfactante e volume de *aphrons*, mas equivalente razão molar de surfactante-norbixina. A recuperação máxima de norbixina (94 %) foi alcançada numa razão de 3,3.

É observado que a recuperação de norbixina diminuiu quando a razão molar de surfactante-norbixina foi aumentada. Isto pode ser devido ao fato da dificuldade de se obter uma boa mistura entre a solução do corante com as CGAs, portanto reduzindo a superfície disponível para a adsorção ou, devido a forte interação entre as moléculas de surfactante, tornado difícil a adsorção da norbixina pelas *aphrons*.

Para todos os volumes de CGA utilizados (5, 10, 15, 20 e 30 mL), o pH da mistura norbixina-CGAs foi de 9,3, 8,3, 8,0, 8,0 e 8,0, respectivamente, quando se utilizou soluções tamponadas de CTAB. Quando se utilizou uma solução 2 mmol/L de CTAB preparada com água destilada, o pH da mistura foi 11,6, 11,4, 11,2, 11,1 e 11,0 para os volumes de CGAs 5, 10, 15, 20 e 30 mL, respectivamente. Embora o pH da mistura tenha aumentado, uma recuperação similar de norbixina foi obtida quando comparada a solução tamponada 2 mmol/L de CTAB. Isto mostra que o pH não afetou a recuperação da norbixina na faixa estudada. O pH inicial da solução de CTAB em água destilada foi de 6,0.

A Figura 59 mostra a solução inicial de pigmentos de urucum e uma análise visual da fase líquida resultante após a recuperação da bixina pode ser vista nas Figuras 60 a 62.



Figura 59 – Solução Inicial de Pigmentos de Urucum



Figura 60 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 1 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL

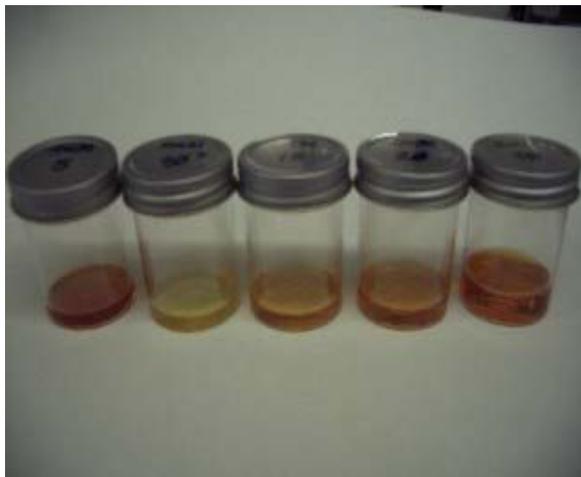


Figura 61 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 2 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL



Figura 62 – Fase Líquida após Recuperação de Norbixina com CGAs geradas por uma Solução 4 mmol/L de CTAB. Da esquerda para a direita cada frasco representa o volume de CGAs utilizado: 5, 10, 15, 20 e 30 mL

4.5.3 – Mecanismo de Separação

É postulado aqui que a norbixina adsorve às CGAs principalmente por interações eletrostáticas. Na separação de proteínas com CGAs, moléculas interagem primeiramente com CGAs carregadas com cargas opostas através de interações eletrostáticas (FUDA et al., 2004).

A interação entre a molécula de norbixato de potássio e os íons de CTAB, carregados com cargas opostas, é uma reação que leva à formação de um complexo norbixina-CTAB e é estabilizado por ligações de sal dos grupos iônicos da norbixina e CTAB.

A fase do topo, após secagem, foi lavada com água destilada para remover possíveis quantidades de surfactante livre e então foi seca novamente por 24 horas em uma estufa a 30 °C.

Um mecanismo é proposto para a formação do complexo norbixina-CTAB (Figura 63), baseada na evidência dos resultados obtidos através das análises de surfactante na fase líquida e nos resultados de recuperação da norbixina utilizando CGAs gerados a partir de uma solução de um surfactante aniônico.

Os resultados da razão molar de CTAB-norbixina suportam a formação do complexo, como a melhor razão foi de 3,3, um excesso de surfactante é observado, o qual pode ser devido ao surfactante livre que não foi completamente removido após o material seco ter sido lavado. Este mecanismo também é suportado por KHANDURINA *et al.* (1995), os quais estudaram a estrutura do complexo formado por poliacrilato de sódio e CTAB.

Experimentos complementares foram realizados objetivando a remoção do surfactante do complexo formado (norbixina-surfactante), onde as seguintes soluções foram adicionadas separadamente à fase do topo: KOH 0,5 %, KOH 5 %, HCl 0,2 M, CHCl_3 e água destilada. Nos experimentos usando as soluções de KOH e água, o mesmo comportamento para cada solução foi observado: a formação de uma solução fracamente amarela e uma solubilização parcial. Com a adição de CHCl_3 a fase do topo, foi observada a formação de uma solução vermelha com algumas partículas em suspensão. Usando uma solução 0,2 M de HCl, foi observado a formação de uma solução vermelha sem partículas em suspensão e com a formação de espuma após a solução ser agitada, mostrando a separação do surfactante. Esta solução foi então centrifugada a 4000 rpm por 30 minutos e um precipitado vermelho foi obtido, o qual não foi observado após a centrifugação dos experimentos que utilizaram soluções de KOH e água destilada.

Através destes ensaios pode-se concluir que a abertura da amostra com HCl 0,2 M pode ser uma rota para a regeneração da norbixina através do processo de separação utilizando CGAs. Este processo mostrou-se de grande potencial para a concentração de extratos de pigmentos de urucum.

A construção de uma unidade piloto para a determinação dos parâmetros de processo e de viabilidade econômica são etapas que seguirão como próximos trabalhos nesta linha de pesquisa, para a disponibilização para a indústria desse novo processo de separação.

5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Nos experimentos de adsorção da bixina em solução de pigmentos de urucum em acetato de etila, utilizando argilas comerciais, observou-se um aumento na capacidade adsortiva com a redução da polaridade da solução, onde quanto menor a polaridade, maior o percentual adsorvido.

Os resultados de adsorção da bixina em solução de clorofórmio, utilizando argilas comerciais, mostrou um percentual de adsorção maior do que a solução em acetato de etila.

Tanto para a adsorção da bixina em acetato de etila quanto em clorofórmio, os adsorventes com melhor desempenho foram Engelhard F160, com percentual de adsorção de 96 % após 180 minutos (em clorofórmio) e 84 % após 15 horas (em acetato de etila) e Supreme 180 FF, com percentual de adsorção de 92 % após 180 minutos (em clorofórmio) e 77 % após 15 horas (em acetato de etila).

Os resultados de dessorção utilizando acetona não foram satisfatórios, com os maiores percentuais para os adsorventes Terrana 580 FF (7,04 %) e Optimum 380 FF (3,47 %), que nos testes de adsorção mostraram um percentual de 78,5 % e 68,8 % respectivamente. Os adsorventes com maior poder adsortivo, Engelhard F160 e Supreme 180 FF, mostraram percentuais de dessorção mais baixos, 1,83 %

e 1,56 %, respectivamente. Outro solvente com maior polaridade, a acetonitrila, foi testado para a dessorção da bixina, porém os percentuais de dessorção continuaram muito baixos.

Os resultados obtidos utilizando *colloidal gas apheresis* geradas por um surfactante catiônico (CTAB) mostraram um processo viável para a recuperação da norbixina a partir de uma solução de extração das sementes em KOH, com boa recuperação do pigmento, sendo a máxima de 94 %.

A melhor recuperação de norbixina foi alcançada com uma razão molar de surfactante/norbixina de 3,3 dando uma recuperação de 94 % utilizando CTAB como surfactante.

Um mecanismo de formação do complexo surfactante – norbixina foi proposto, baseado na análise dos dados obtidos utilizando surfactantes catiônico e aniônico e nas análises da concentração do surfactante na fase líquida. As evidências que este mecanismo é devido a interações eletrostáticas são:

- A recuperação da norbixina utilizando CGAs geradas a partir de uma solução de AOT (surfactante aniônico) foi baixa. O volume de CGAs e conseqüente razão molar surfactante/norbixina não afetou a recuperação da norbixina, a qual foi praticamente constante.
- A recuperação da norbixina utilizando CGAs geradas a partir de soluções de CTAB (surfactante catiônico) mostrou que uma recuperação mais alta é obtida a diferentes razões molares de surfactante/norbixina.
- O balanço de massa do surfactante mostrou a interação da norbixina-surfactante utilizando CTAB.

O principal parâmetro para alcançar alta recuperação de norbixina é a razão CTAB-norbixina e o pH da mistura norbixina-surfactante não teve um papel importante na recuperação.

A remoção do surfactante a partir do complexo formado mostrou ser possível baixando o pH para 2 com uma solução de HCl 0,2 M, mas pesquisas posteriores são necessárias para se estabelecer os melhores parâmetros para esta remoção bem como a estabilidade que pode ser conferida a norbixina enquanto esta estiver na forma complexada com o surfactante.

Sugestão para trabalhos futuros:

- Avaliação da estabilidade da norbixina complexada com o surfactante no processo utilizando CGAs;
- Pesquisas para estabelecer os melhores parâmetros para a remoção do surfactante do complexo formado;
- Avaliação de recuperação da norbixina utilizando CGAs em fluxo contínuo;
- A utilização de outros surfactantes catiônicos de grau alimentício, como a lecitina de soja, ou saponinas naturais para a geração das CGAs e recuperação da norbixina e conseqüente não necessidade de remoção do surfactante;
- Determinação dos parâmetros de processo e viabilidade econômica;
- Testes da aplicação do complexo formado em alimentos e medicamentos.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHILLE, E., RIVIELLO, Jr., YOUNG, D. & SEBBA, F. A Novel Method for Production of Finely Divided Tin Metal Powders. **Powder Technology**, 78, 19-24, 1994.
- ALVES, R. W. Extração e Purificação de Corantes de Urucum. **Dissertação de Mestrado em Engenharia Química**, Engenharia Química/UFSC, Florianópolis, 2001.
- ALVES, R. W., SOUZA, S. M. A. G. U. & SOUZA, A. A. U. Efeito do Tempo de Armazenamento das Sementes de Urucum na extração Mecânica do Corante. **Revista Brasileira de Armazenamento**, V. 27, No. 1, 36-40, 2002.
- AMIRI, M. C. & WOODBURN, E. T. A Method for the Characterisation of Colloidal Gas Aphrons Dispersions. **Trans. Inst. Chem. Eng.**, 68, 154, 1990 **apud** JAUREGI, P., MITCHELL, G. R. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons (CGA): Dispersion and Structural Features. **AIChE Journal**, Vol. 46, No. 1, 24-36, 2000.
- ARIMA, H. K., ANGELUCCI, E. & MATTOS, S. V. M. Urucu. II - Comparação de Métodos Cromatográficos para Separação dos Carotenóides. **Col. ITAL**, 11, 97-106, 1980.
- BALIANE, A. Cultura do urucueiro. **Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro**, Niterói, 5-16, 1982.
- BARONCELLI F., OLIVEIRA L. S., FRANCA A. S. & PASSOS M. L. Evaluation of Bixin Thermal Degradation during Drying of Annatto Powder in Spouted Beds. **The Inter-American Drying Conference (IADC)**, Itu-SP, 158-164, 1997.
- BARRETO P. W., JAEGER L. M. e MASSARANI G. Produção de Concentrado de Bixina em Leito de Jorro III. **Anais do XVII ENEMP**, Vol. I, 205-208, 1989 **apud**

- SILVA G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- BHALKAR S. V. & DUBASH P. J. Methods of Extraction of Annatto from the Seeds of Bixa Orellana. **Indian J. Dairy Sci.**, 36, 2, 157-161, 1983.
- BOUVIER, F., DOGBO, O. & CAMARA, B. Biosynthesis of the Food and Cosmetic Plant Pigment Bixin (Annatto). **Science**, Vol. 300, 2089-2091, 2003.
- BREDWELL, M. D. & WORDEN, R. M. Mass-Transfer Properties of Microbubbles: 1. Experimental Studies. **Biotechnol. Progr.**, 14, 31, 1998 **apud** JAUREGI, P., MITCHELL, G. R. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons (CGA): Dispersion and Structural Features. **AIChE Journal**, Vol. 46, No. 1, 24-36, 2000.
- BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S. & PFANDER, H. Carotenoids Volume 1B: Spectroscopy. **Birkhäuser Verlag**, Germany, 1995.
- CARVALHO, P. R. N. Extração e Utilização do Corante de Urucum. **UESBA**, Vitória da Conquista, 69-76, 1990.
- CARVALHO, P. R. N. & HEIN M. Urucum - Uma Fonte de Corante Natural. **Coletânea ITAL**, Campinas, 19(1), 25-33, 1989.
- CARVALHO, P. R. N., SARANTÓPOULOS, C. I. G. L., SHIROSE, I. & SILVA, M. G. Estudo de Vida-de-prateleira do Corante (Bixina) Extraído das Sementes de Urucum (Bixa Orellana, L.). **Coletânea ITAL**, Campinas, 23(1), 98-104, 1993.
- CARVALHO, P. R. N., SILVA, M. G. & MOREIRA, C. G. C. Avaliação dos Métodos Espectrofotométricos de Análise de Sementes de Urucum (Bixa Orellana L.). **Colet. ITAL**, 23(2), 181-188, 1993.
- CASTRO, M. S. Influência das Variáveis Operacionais no Processo de Secagem de Urucum. **Monografia DEQ/UFPA**, Belém, p.90, 1992 **apud** SILVA G. F. Extração

- de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- CILLIERS, J. J. & BRADSHAW, D. J. The Flotation of Fine Pyrite Using Colloidal Gas Aphrons. **Minerals Engineering**, Vol. 9, No. 2, 235-241, 1996.
- COLLINS, P. The Role of Annatto in Food Colouring. **Food Ingredients & Processing International**, 23-27, 1992.
- DECHOW, F. J. Separation and Purification Techniques in Biotechnology. **Noyes Publications**, Cap. 2, 65-162, 1989.
- DAI, Y. & DENG, T. Stabilization and Characterization of Colloidal Gas Aphron Dispersions. **Journal of Colloid and Interface Science**, 261, 360-365, 2003.
- DEGNAN, A. J., VON ELBE, J. H. & HARTEL, R. W. Extraction of Annatto Seed Pigment by Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Food Science**, Volume 56, No. 6, 1655-1659, 1991.
- DELGADO-VARGAS, F., JIMENEZ, A. R. & PAREDES-LÓPEZ, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 40(3), 173-289, 2000.
- DOWNHAM, A. & COLLINS, P. Colouring our Foods in the Last and Next Millennium. **Journal of Food Science and Technology**, 35, 5-22, 2000.
- ESPANTALEÓN, A. G., NIETO, J. A., FERNÁNDEZ, M. & MARSAL, A. Use of Activated Clays in the Removal of Dyes and Surfactants from Tannery Waste Waters. **Applied Clay Science**, em fase de impressão, 2003.
- FALESI, I. C. Urucuzeiro: Recomendações básicas para seu cultivo. **UEPAE**, Belém, 1987.

- FARIA, L. J. G. Análise Experimental do Processo de Secagem de Urucum (Bixa Orellana L.) em Leito Fixo. **Tese de Doutorado em Engenharia Química**, FEA/UNICAMP, Campinas, 1998 **apud** SILVA, G. F. Extração de Pigmentos de Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- FARIA, L. J. G. & ROCHA, S. C. S. Optimization of Annatto (Bixa Orellana L.) Drying in Fixed Bed. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, Vol. 17, No. 04-07, 483-495, December, 2000.
- FLEISCHER, T. C., AMEADE, E. P. K., MENSAH, M. L. K. & SAWER, I. K. Antimicrobial Activity of the Leaves and Seeds of Bixa Orellana. **Fitoterapia**, 74, 136-138, 2003.
- FUDA, E, JAUREGI, P, & PYLE, D. L. Recovery of Lactoferrin and Lactoperoxidase from Sweet Whey Using Colloidal Gas Aphrons (CGAs) Generated from an Anionic Surfactant, AOT. **Biotechnology Progress**, V. 20, No. 2, 514-525, 2004.
- FUDA, E. Selective Separation of Whey Proteins Using Colloidal Gas Aphrons (CGA) Generated with Ionic. **Ph. D. Thesis**, The University of Reading, UK, 215p., 2004.
- GALINDO-CUSPINERA, V., LUBRAN, M. B. & RANKIN, S. A. Comparison of Volatile Compounds in Water- and Oil-Soluble Annatto (Bixa orellana L.) Extracts. **J. Agric. Food Chem.**, Vol. 50, No. 7, 2010-2015, 2002.
- GUIMARÃES, I. S., BARBOSA, A. L. S. & MASSARANI G. Nota sobre a Produção de Concentrado de Bixina em Leito de Jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, 12(2), 22-23, Abril, 1989.
- HAGIWARA, A., IMAI, N., DOI, Y., NABAE, K., HIROTA, T., YOSHINO, H., KAWABE, M., TSUSHIMA, Y., AOKI, H., YASUHARA, K., KODA, T.,

- NAKAMURA, M. & SHIRAI, T. Absence of Liver Tumor Promoting Effects of Annatto Extract (Norbixin), a Natural Carotenoid Food Color, in a Medium-term Liver Carcinogenesis Bioassay using Male F344 Rats. **Cancer Letters**, em fase de impressão, 2003.
- HAGIWARA, A., IMAI, N., ICHIHARA, T., SANNO, M., TAMANO, S., AOKI, H., YASUHARA, K., KODA, T., NAKAMURA, M. & SHIRAI, T. A Thirteen-week Oral Toxicity Study of Annatto Extract (Norbixin), a Natural Food Color Extracted from the Seed coat of Annatto (*Bixa orellana L.*), in Sprague-Dawley Rats. **Food and Chemical Toxicology**, 41, 1157-1164, 2003.
- HAILA, K. M., LIEVONEN, S. M. & HEINONEN, M. I. Effects of Lutein, Lycopene, Annatto, and gamma-Tocopherol on Autoxidation of Triglycerides. **J. Agric. Food Chem.**, Vol. 44, No. 8, 2096-2100, 1996.
- HASHIM, M. A. & GUPTA, B. S. The Application of Colloidal Gas Aphrons in the Recovery of Fine Cellulose Fibres from Paper Mill Wastewater. **Bioresource Technology**, 64, 199-204, 1998.
- INGRAM, J. S. & FRANCIS, B. J. The Annatto Tree (*Bixa Orellana L.*) - A Guide to its Occurrence, Cultivation, Preparation and Uses. **Tropical Science**, Volume XI, No. 2, 97-102, 1969.
- IVERSEN, S. & LAM, J. Uber den Farbstoff in Annato-butterfarben. **Z. Lebensm.-u.-Forsch.**, 97(1), 1-7, 1953 **apud** PRESTON, H. D. & RICKARD, M. D. Extraction and Chemistry of Annatto. **Food Chemistry**, Volume 5, No. 1, 47-56, 1980.
- JAUREGI, P., MITCHELL, G. R. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons (CGA): Dispersion and Structural Features. **AIChE Journal**, Vol. 46, No. 1, 24-36, 2000.
- JAUREGI, P. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons: Potential Applications in Biotechnology. **Tibtech**, Vol. 17, 389-395, 1999.

-
- JAUREGI, P. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons (CGA): A Novel Approach to Protein Recovery". **Biotechnol. Bioeng.** 59(4), 471, 1998 **apud** JAUREGI, P., MITCHELL, G. R. & VARLEY, J. Colloidal Gas Aphrons (CGA): Dispersion and Structural Features. **AIChE Journal**, Vol. 46, No. 1, 24-36, 2000.
- JAUREGI, P., GILMOUR, S. & VARLEY, J. Characterization of Colloidal Gas Aphrons for Subsequent Use for Protein Recovery. **The Chemical Engineering Journal**, 65, 1-11, 1997.
- JARUDILOKKUL, S., RUNGPHETCHARAT, K. & BOONAMNUAYVITAYA, V. Protein Separation by Colloidal Gas Aphrons using Nonionic Surfactant. **Separation and Purification Technology**, Vol.35, 23-29, 2004.
- JIANG, J-Q. & ZENG, Z. Comparison of Modified Montmorillonite Adsorbents Part II: The Effects of the Type of Raw Clays and Modification Conditions on the Adsorption Performance. **Chemosphere**, 53, 53-62, 2003.
- JONDIKO, I. J. O. & PATTENDEN, G. Terpenoids and an Apocarotenoid from Seeds of *Bixa Orellana*. **Phytochemistry**, Vol. 28, No. 11, 3159-3162, 1989.
- KARRER, P. & JUCKER, E. Carotenoids. **Elsevier Publishing Company, Inc.**, 384 p., 1950.
- KATO, O. R., FIGUEIRÊDO, F. J. C., BELFORT, A. J. L., NOGUEIRA, O. L. & BARBOSA, W. C. Época de Colheita de Sementes de Urucu: Emergência e Teor de Corantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27(9), 1291-1302, setembro, 1992.
- KHANDURINA, Y. V., ALEXEEV, V. L., EVMENENKO, G. A., DEMBO, A. T., ROGACHEVA, V. B. & ZEZIN, A. B. On the Structure of Polyacrylate-Surfactant Complexes. **Journal de Physique II**, 5, 337-342, 1995.

-
- KIOKIAS, S. & GORDON, M. Antioxidant Properties of Annatto Carotenoids. **Food Chemistry**, 83, 523-529, 2003.
- LANCASTER, F. E. & LAWRENCE, J. F. High-performance Liquid Chromatographic Separation of Carminic Acid, α - and β -bixin, and α - and β -norbixin, and the Determination of Carminic Acid in Foods. **Journal of Chromatography A**, Volume 732, 394-398, 1996.
- LIMA, R. O. A. de, AZEVEDO, L., RIBEIRO, L. R. & SALVADORI, D. M. F. Study on the Mutagenicity and Antimutagenicity of a Natural Food Colour (Annatto) in Mouse bone Marrow Cells. **Food and Chemical Toxicology**, 41, 189-192, 2003.
- MANIASSO, N. Ambientes Micelares em Química Analítica. **Química Nova**, Volume 24, No. 1, 87-93, 2001.
- MARMION, D. M. Handbook of U. S. Colorants: Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. Third Edition, **USA**, 120-122, 1991.
- MASSARANI, G., PASSOS, M. L. & BARRETO, D. W. Production of Annatto Concentrates in Spouted Beds. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Volume 70, 954-959, 1992.
- MATSUSHITA, K., MOLLAH, A. H., STUCKEY, D. C., del CERRO, C. & BAILEY, A. I. Predispersed Solvent Extraction of Dilute Products Using Colloidal Gas Aphrons and Colloidal Liquid Aphrons: Aphron Preparation, Stability and Size. **Colloids and Surfaces**, 69, 65-72, 1992.
- McKEOWN, G. G. Paper Chromatography of Bixin and Related Compounds. **Journal of the A. O. A. C.**, Vol. 44, No. 2, 347-351, 1961.
- McKEOWN, G. G. & MARK, E. The Composition of Oil-soluble Annatto Food Colours. **Journal of the A. O. A. C.**, Vol. 45, 761, 1962.

- MONTENEGRO, M. A., NAZARENO, M. A., DURANTINI, E. N. & BORSARELLI, C. D. Singlet Molecular Oxygen Quenching Ability of Carotenoids in a Reverse-Micelle Membrane Mimetic System. **Photochemistry and Photobiology**, 75(4), 353-361, 2002.
- NAJAR, S. V., BOBBIO, F. O. & BOBBIO, P. A. Effects of light, Air, Anti-oxidants and Pro-oxidants on Annatto Extracts (*Bixa orellana*). **Food Chemistry**, Vol. 29, No. 4, 283-289, 1988.
- NOBLE, M., BROWN, A., JAUREGI, P., KAUL, A. & VARLEY, J. Protein-Recovery Using Gas-Liquid Dispersions. **Journal of Chromatography B**, 711, 31-43, 1998.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Químicos e Físicos. **O instituto**, 3a Edição, 1985.
- PASSOS, M. L., OLIVEIRA, L. S. FRANCA, A. S., FREITAS, M. E. A., MASSARANI, G. & BARROZO, M. A. S. Spouted Bed Units for Annatto Powder Production. **The Inter-American Drying Conference (IADC)**, Itu-SP, 181-188, 1997.
- PAUMGARTEN, F. J. R., DE-CARVALHO, R. R., ARAUJO, I. B., PINTO, F. M., BORGES, O. O., SOUZA, C. A. M. & KURIYAMA, S. N. Evaluation of the Developmental Toxicity of Annatto in the Rat. **Food and Chemical Toxicology**, 40, 1595-1601, 2002.
- PERUZZO, L. C. Influência de Agentes Auxiliares na Adsorção de Corantes de Efluentes da Indústria Têxtil em Colunas de Leito Fixo. **Dissertação de Mestrado em Engenharia Química**, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos/UFSC, Florianópolis, 2003.
- PIMENTEL, F. A. Avaliação de Métodos de Obtenção e da Estabilidade de Pigmentos de Sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.) **Tese de Mestrado** em

-
- Engenharia de Alimentos, DTS/UFV, Viçosa, 1995 **apud** SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**. Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- PINHEIRO, N. F. L. L., SILVA, G. F. & ALSINA, O. L. S. Secagem de Urucum em Leito de Jorro. **Anais do XVIII Encontro sobre Escoamento em Meios Porosos**, Nova Friburgo, 389-399, 1990 **apud** SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**. Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- PRENTICE-HERNANDEZ, C. & RUSIG, O. Extrato de Urucum (*Bixa orellana* L.) obtido Utilizando Álcool Etilico como Solvente. **Arq. Biol. Tecnol.**, Campinas, 63-74, março, 1992.
- PRESTON, H. D. & RICKARD, M. D. Extraction and Chemistry of Annatto. **Food Chemistry**, Volume 5, No. 1, 47-56, 1980.
- REITH, J. F. & GIELEN, J. W. Properties of Bixin and Norbixin and the Composition of Annatto Extracts. **Journal of Food Science**, Volume 36, 1971.
- RIVIELLO JR, A. E., YOUNG, D. & SEBBA, F. A Novel Method for Production of Finely Divided Tin Metal Powders. **Powder Technology**, 78, 19-24, 1994.
- ROUSEFF, R. L. High Performance Liquid Chromatographic Separation and Spectral Characterization of the Pigments in Turmeric and Annatto. **Journal of Food Science**, Volume 53, No. 6, 1823-1826, 1988.
- ROY, D., KONGARA, S. & VALSARAJ, K. T. Application of Surfactant Solutions and Colloidal Gas Aphron Suspensions in Flushing Naphthalene from a Contaminated Soil Matrix. **Journal of Hazardous Materials**, 42, 247-263, 1995.

-
- ROY, D., KOMMALAPATI, R. R., VALSARAJ, K. T. & CONSTANI, W. D. (a) Soil Flushing of Residual Transmission Fluid: Application of Colloidal Gas Aphron Suspensions and Conventional Surfactant Solutions. **Wat. Res.**, Vol. 29, No. 2, 589-595, 1994.
- ROY, D., VALSARAJ, K. T., CONSTANT, W. D. & DARJI, M. (b) Removal of Hazardous Oily Waste From a Soil Matrix Using Surfactants and Colloidal Gas Aphron Suspensions Under Different Flow Conditions. **Journal of Hazardous Materials**, 38, 127-144, 1994.
- RUTHVEN, D. M. Principles of Adsorption and Adsorption Processes, **John Wiley & Sons**, 1984, 432p.
- SANTOS, P. S. Ciência e Tecnologia de Argilas, **Ed. Edgar Blüchner Ltda**, 2a. Ed., Vol. 1, 1989.
- SANTOS, P. S. Ciência e Tecnologia de Argilas, **Ed. Edgar Blüchner Ltda**, 2a. Ed., Vol. 2, 1992.
- SANTOS, P. S. Ciência e Tecnologia de Argilas, **Ed. Edgar Blüchner Ltda**, 2a. Ed., Vol. 3, 1992
- SAVE, S. V. & PANGARKAR, V. G. Liquid-Liquid Extraction Using Aphrons. **Separation Technology**, Vol. 4, April, 104-111, 1994.
- SCOTTER, M. J., CASTLE, L. & APPLETON, G. P. Kinetics and Yields for the Formation of Coloured and Aromatic Thermal Degradation Products of Annatto in Foods. **Food Chemistry**, 74, 365-375, 2001.
- SCOTTER, M. J., WILSON, L. A., APPLETON, G. P. & CASTLE, L. Analysis of Annatto (*Bixa orellana*) Food Colouring Formulations. 2. Determination of Aromatic Hydrocarbon Thermal Degradation Products by Gas Chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, Vol. 48, No. 2, 484-488, 2000.

-
- SCOTTER, M. J., WILSON, L. A., APPLETON, G. P. & CASTLE, L. Analysis of Annatto (*Bixa orellana*) Food Colouring Formulations. 1. Determination of Coloring Components and Colored Thermal Degradation Products by High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection. **J. Agric. Food Chem.**, Vol. 46, No. 3, 1031-1038, 1998.
- SCOTTER, M. J. Characterisation of the Coloured Thermal Degradation Products of Bixin from Annatto and a Revised Mechanism for their Formation. **Food Chemistry**, Vol. 53, No. 2, 177-185, 1995.
- SCOTTER, M. J., THORPE, S. A., REYNOLDS, S. L., WILSON, L. A. & STRUTT, P. R. Characterization of the Principal Colouring Components of Annatto Using High Performance Liquid Chromatography with Photodiode-Array Detection. **Food Additives and Contaminants**, Vol. 11, No. 3, 301-315, 1994.
- SEBBA, F. Foams and Biliquid Foams – Aprons. **John Wiley & Sons**, Chicester, England, 236 p., 1987.
- SHAWABKEH, R. A. & TUTUNJI, M. F. Experimental Study and Modelling of Basic Dye Sorption by Diatomaceous Clay. **Applied Clay Science**, em fase de impressão, 2003.
- SHAW, D. J. Introduction to Colloid and Surface Chemistry, 4th ed. **ed. Oxford: Butterworth-Heinemann**. 306 p., 1992.
- SHREVE, R. N. & BRINK Jr., J. A. Indústrias de Processos Químicos. **Ed. Guanabara Dois**, 4a. Ed., 1980, 717p.
- SHUHAMA, I. K., AGUIAR, M. L., OLIVEIRA, W. P. & FREITAS, L. A. P. Experimental Production of Annatto Powders in Spouted Bed Dryer. **Journal of Food Engineering**, 59, 93-97, 2003.

- SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- SILVA, G. F., CAVALCANTI, S. A. & SOBRAL, M. C. Extração de Corantes do Urucum II. **Anais da Associação Brasileira de Química**, 43(1-2), 58-64, 1994
apud SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- SILVA, G. F. Processamento de Urucum em Leito de Jorro. **Tese de Mestrado em Engenharia Química**, CCET/UFPb, Campus II, Campina Grande, 138p., 1991
apud SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**. Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- SIMPSON K. I., GUIMARÃES I. S., e WILBERG V. C. Isolation and Purification of Bixin on a C-18 Reverse Phase Column. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Vol. 13, No. 2, 164-167, 1993.
- SONG, M. e LIANG, S. Q. Spectrophotometric determination of cationic surfactants by formation of ternary complexes with Fe(III) and chrome azurol S. **Chinese Journal of Chemistry**, Vol. 14, No. 3, 228-234, 1996.
- SUZUKI, M. Adsorption Engineering. **Kodansha Ltd.**, 1990, 295p.
- TAYLOR, A. & HOBBS, M. 2001 Assessment of Nutritional Influences on Risk for Cataract. **Nutrition**, 17, No. 10, 845-857, 2001.
- WHO/FAO. Specifications for the Identity and Purity of some Food Colours, Flavour Enhancers, Thickening Agents, and Certain Food Additives. **WHO Food Additives Series**, No. 7, 3-10, 1976.

-
- WILBERG, V. C. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantificação dos Carotenóides de Sementes do Urucum (*Bixa orellana* L.) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, 1(1), 145-152, 1992 **apud** SILVA, G. F. Extração de Pigmentos do Urucum com CO₂ Supercrítico. **Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos**, Engenharia de Alimentos/FEA/UNICAMP, Campinas, 1999.
- YABIKU, H. Y. & TAKAHASHI, M. Y. Determinação de Bixina em Sementes de Urucum: Estudo Colaborativo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 52 (1/2), 31-36, 1992.
- ZANGWILL, A. *Physics at Surfaces*. **Cambridge University Press**, 1988, 454p.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)