

UNIVERSIDADE TIRADENTES – UNIT
Pós-graduação em Engenharia de Processos

**RECUPERAÇÃO DE β -CAROTENO A PARTIR DE MATRIZ
ETANÓLICA UTILIZANDO PROCESSOS DE ADSORÇÃO**

Autor: Amélia Cristina Conceição Alves Melo

Orientadores: César Costapinto Santana
Elton Franceschi

ARACAJU, SE - BRASIL

FEVEREIRO DE 2016

Amélia Cristina Conceição Alves Melo

**Recuperação de β -caroteno a partir de matriz etanólica
utilizando processos de adsorção**

Dissertação submetida ao programa de pós-graduação em Engenharia de Processos da Universidade Tiradentes como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Processos.

Autor: Amélia Cristina Conceição Alves Melo

Orientadores: César Costapinto Santana
Elton Franceschi

Aracaju, SE

2016

M52r

Amélia Cristina Conceição Alves Melo

Recuperação de β -caroteno a partir de matriz etanólica utilizando processos de adsorção/ Amélia Cristina Conceição Alves Melo. – Aracaju, SE, 2016-79 p. : il. (algumas color.).

Orientador: César Costapinto Santana

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, 2016.

1. β -caroteno. 2. adsorção. 2. carotenoides. I. César Costapinto Santana(Orien.). II. Elton Franceschi(Orien.). III. Universidade Tiradentes. IV. Título

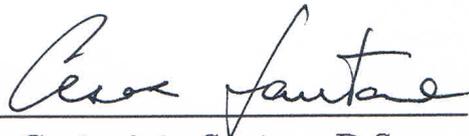
CDU: 543.062.66.081.2

RECUPERAÇÃO DE β -CAROTENO A PARTIR DE MATRIZ ETANÓLICA
UTILIZANDO PROCESSOS DE ADSORÇÃO

Amélia Cristina Conceição Alves Melo

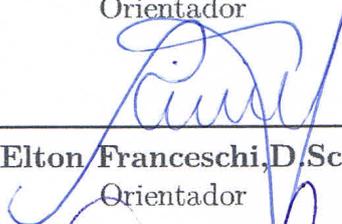
DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DA UNIVERSIDADE TIRADENTES COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA DE PROCESSOS.

Trabalho aprovado. Aracaju, SE, 29 de fevereiro de 2016:



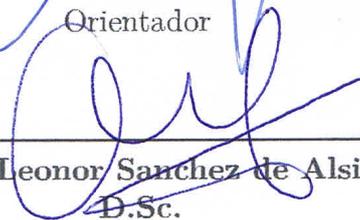
César Costapinto Santana, D.Sc.

Orientador



Elton Franceschi, D.Sc.

Orientador



Odélsia Leonor Sanchez de Alsina,
D.Sc.



Luciana Cristina Lins de Aquino
Santana, D.Sc.

ARACAJU, SE - BRASIL

FEVEREIRO DE 2016

Dedico: A minha família, sempre tão próxima e tão essencial na busca dos meus objetivos.

Agradecimentos

A Deus, pelas por todas realizações em minha vida.

Aos meus pais, pelo incentivo.

Ao meu esposo, Fabrício Melo, pela compreensão, incentivo e partilha de conhecimentos comigo.

Às minhas filhas, Marília Mikaele e Fabíola Rafaele, que eu tanto amo.

Aos meus professores orientadores, César Costapinto e Elton Franceschi, pela presteza com que se empenharam dentro de suas possibilidades para realização desse trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Odélsia e Luciana.

A minha parceira de laboratório, Kátilla.

Aos professores e amigos do PEP.

A todos, enfim, que participaram direta e indiretamente na elaboração deste trabalho, a minha mais profunda gratidão.

*“Não vos amoldeis às estruturas deste mundo,
mas transformai-vos pela renovação da mente,
a fim de distinguir qual é a vontade de Deus:
o que é bom, o que Lhe é agradável, o que é perfeito.
(Bíblia Sagrada, Romanos 12, 2)*

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos da Universidade Tiradentes como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Processos.

RECUPERAÇÃO DE β -CAROTENO A PARTIR DE MATRIZ ETANÓLICA UTILIZANDO PROCESSOS DE ADSORÇÃO

Amélia Cristina Conceição Alves Melo

Este trabalho teve por objetivo principal estudar a recuperação de β -caroteno a partir de solução etanólica utilizando processos de adsorção em regime de batelada. A cinética e o equilíbrio de adsorção do β -caroteno em etanol com resina polimérica Diaíon HP-20 foram avaliados. O efeito da agitação em shaker e da agitação magnética foi investigado à 30°C e 150 RPM em cinco diferentes concentrações iniciais de β -caroteno. Curvas cinéticas foram obtidas em diferentes concentrações iniciais de corante em 30, 40 e 50°C. Os modelos Hill 5, Hill 4, Pseudoprimeira ordem e Pseudo-segunda ordem foram ajustados aos dados experimentais. Ajustes das isotermas de Temkin, de Redilich-Peterson, de Langmuir e de Freundlich aos dados experimentais foram avaliadas através do critério de informação de Akaike e do critério de informação Bayesiana. A adsorção foi favorecida pelo aumento da temperatura e da concentração inicial de β -caroteno. O modelo Hill 5 e o modelo de Freundlich ajustaram melhor os dados experimentais em todo intervalo estudado. A máxima capacidade de adsorção estimada pelo modelo de Hill 5 foi de 3,170 mg g⁻¹ em agitação magnética com concentração inicial de 30 mg L⁻¹ a 50°C. Neste trabalho foi investigado o uso da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) com calibração multivariada (método dos mínimos quadrados parciais – PLS) no monitoramento da concentração de β -caroteno em um processo de adsorção com resina polimérica. O modelo desenvolvido por regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) a partir dos espectros NIR foi validado utilizando um conjunto de amostras externas. Além da comprovação do excelente grau de proximidade entre as medições de referência e aquelas observadas pelo NIR, a não destruição da amostra, a rápida leitura de concentração, e o baixo consumo de químicos nas análises são de fato grandes vantagens de seu uso, sendo, portanto uma medida do sucesso do uso dessa técnica no monitoramento da adsorção de β -caroteno.

Palavras-chaves: β -caroteno. adsorção. carotenoides. cinética. equilíbrio

Abstract of Dissertation presented to the Process Engineering Graduate Program of Universidade Tiradentes as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

RECOVERY OF β -CAROTENE FROM ETHANOL MATRIX USING ADSORPTION PROCESSES

Amélia Cristina Conceição Alves Melo

The purpose of this study was to evaluate the recovery of β -carotene from ethanol solution using adsorption processes in batch regime. Kinetics and adsorption equilibrium of β -carotene in ethanol with polymeric resin were evaluated. Effect of agitation on orbital shaker and magnetic stirring was investigated at 30 °C and 150 RPM in five different initial concentrations of β -carotene. Kinetic curves were obtained at different initial concentrations of dye in 30, 40 and 50 °C. Models Hill 5, Hill 4, pseudo first order and pseudo-second order were fitted to the experimental data. Adjustments of Temkin, Redilich-Peterson, Langmuir, and Freundlich isotherms to the experimental data were evaluated using Akaike information and Bayesian information criterion. Adsorption was favored by increasing the temperature and initial concentration β -carotene. Hill 5 kinetic model and Freundlich isotherm model gave the best fit the experimental data across the range studied. The maximum adsorption capacity estimated by the Hill 5 model was 3.170 mg g⁻¹ in magnetic stirring with initial concentration of 30 mg L⁻¹ 50 °C. In this study examined the use of near infrared spectroscopy (NIR) with multivariate calibration (using Partial Least Square - PLS) monitoring the concentration of β -carotene in an adsorption process using polymeric resin. The regression model developed by PLS from the NIR spectra was validated using a set of external samples. Besides the proof of the excellent degree of closeness between the reference measurements and those observed by NIR, not destruction of the sample, quick reading of concentration, and low chemical consumption in the analyzes are indeed great advantages of its use, and, therefore a measure of the successful use of this technique for monitoring the adsorption of β -carotene.

Keywords: β -carotene. adsorption. carotenoids. kinetics. equilibrium.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Estruturas dos carotenoides mais importantes.	21
Figura 2 – Produção de retinol (vitamina A) por clivagem simétrica de β -caroteno.	22
Figura 3 – Esquema de montagem para adsorção em batelada com agitação em shaker orbital.	38
Figura 4 – Esquema de montagem para adsorção em batelada com agitação magnética.	39
Figura 5 – Efeito do tipo de agitação e C_0 sobre Q_e a 30°C . Sob agitação por 300 min. à 150 RPM.	43
Figura 6 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 30°C em agitação magnética.	45
Figura 7 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 40°C em agitação magnética.	45
Figura 8 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 50°C em agitação magnética.	46
Figura 9 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C	49
Figura 10 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C	49
Figura 11 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C	50
Figura 12 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C	50
Figura 13 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C	51
Figura 14 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C	51
Figura 15 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C	52
Figura 16 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C	52
Figura 17 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C	53
Figura 18 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C	53
Figura 19 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C	54

Figura 20 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C.	54
Figura 21 – Isoterma de Langmuir para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.	57
Figura 22 – Isoterma de Freundlich para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.	58
Figura 23 – Isoterma de Redlich-Peterson para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.	58
Figura 24 – Isoterma de Temkin para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min. . .	59
Figura 25 – Variação de energia livre de Gibbs, ΔG_{Ads}^o , versus temperatura, T, na adsorção de β -caroteno em resina HP-20 com agitação magnética. . . .	60
Figura 26 – Sítio ativo da resina polimérica HP-20.	60
Figura 27 – Efeito da temperatura sobre a capacidade de adsorção na monocamada teórica para adsorção de β -caroteno em resina HP-20 com agitação magnética.	61
Figura 28 – Validação pelo método <i>leverage correction</i>	62
Figura 29 – Espectros NIR das amostras de calibração.	63
Figura 30 – Espectros NIR das amostras de validação.	64
Figura 31 – Predição NIR com PLS calibrado por validação cruzada.	65
Figura 32 – Validação cruzada dos modelos PLS	66
Figura 33 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 40°C. . .	67
Figura 34 – Predição da concentração média de β -caroteno na adsorção à 40°C. . .	67
Figura 35 – Validação cruzada do modelo 4.	68
Figura 36 – Validação cruzada do modelo 5.	68
Figura 37 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos na adsorção de β -caroteno com resina HP-20 em agitação magnética a 150 RPM. . . .	72

Lista de tabelas

Tabela 1 – Trabalhos recentes sobre adsorção de carotenoides em diferentes condições.	29
Tabela 2 – Comparação do percentual de β -caroteno adsorvido em dois métodos de adsorção à 30°C. Sob agitação por 300 min. à 150 RPM.	44
Tabela 3 – Análise de variância para concentração inicial e tipos de agitação para adsorção à 30°C	44
Tabela 4 – Análise de variância para o efeito da temperatura e concentração inicial sobre Q_e para adsorção em agitação magnética por 300 min. à 150 RPM.	46
Tabela 5 – Valores dos parâmetros ajustados para os modelos cinéticos na adsorção de β -caroteno por resina polimérica em diferentes concentrações iniciais e avaliação de ajustes.	47
Tabela 6 – Avaliação dos modelos cinéticos de adsorção* à 50°C em agitação magnética.	48
Tabela 7 – Parâmetros das isotermas de adsorção de β -caroteno em HP-20 obtidos usando ajuste não linear.	55
Tabela 8 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 30°C por 300 min. em agitação magnética.	56
Tabela 9 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 40°C por 300 min. em agitação magnética.	56
Tabela 10 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 50°C por 300 min. em agitação magnética.	57
Tabela 11 – Parâmetros termodinâmicos para adsorção de β -caroteno em adsorvente HP-20.	61
Tabela 12 – Resultados de precisão para os modelos de predição validados pelo método <i>leverage corrected</i>	62
Tabela 13 – Precisão dos modelos de predição do NIR com PLS	63
Tabela 14 – Análise de Modelos de predição do NIR aplicado ao monitoramento da cinética de adsorção	68

Lista de abreviaturas e siglas

AIC	Akaike Information Criterion
a_R	constante da isoterma de Redlich-Peterson (1/mg)
BIC	Bayesian Information Criterion
b	constante da isoterma de Temkin relacionada ao calor de adsorção
C_e	concentração do adsorbato no equilíbrio (mg/L)
C_0	concentração inicial do adsorbato (mg / L)
ΔG	energia livre de Gibbs(kJ / mol)
ΔH	entalpia (kJ / mol)
ΔS	entropia (kJ / mol)
g	expoente da isoterma de Redlich-Peterson
HPLC	High performance liquid chromatography
K_D	constante de dissociação
K_F	Freundlich constante da isoterma de (mg/g) (L/g) ⁿ relacionada com a capacidade de adsorção
K_L	constante da isoterma de Langmuir ligada à energia de adsorção (L/mg)
K_R	Redlich-Peterson constante da isoterma de (L/g)
K_T	constante de ligação no equilíbrio da isoterma de Temkin (mg / g)
n	intensidade de adsorção
NIPALS	nonlinear iterative partial least square
NIR	near-infrared
p	número do parâmetro
PLS	partial least squares
PPO	Pseudoprimeira ordem
PSO	Pseudo-segunda ordem

Q_e	quantidade adsorvida pelo adsorvente no equilíbrio (mg/g)
Q_m	constante de Langmuir da capacidade máxima de adsorção teórica na monocamada (mg/g)
Q_t	Quantidade adsorvida em dado tempo (mg/g)
R	constante universal dos gases (8.314 J/mol K)
R^2	coeficiente de correlação
RMSEC	root mean standard error of calibration
RMSECV	root mean standard error of cross-validation
RMSEP	root mean standard error of prediction
RPM	Rotações por minuto
SEC	standard error of calibration
SEP	standard error of prediction
T	temperatura absoluta (K)
UV-VIS	ultraviolet-visible spectroscopy

Lista de símbolos

\forall	Símbolo matemático "para todo"
λ	Comprimento de onda (nm)
\in	Pertence
$\hat{\sigma}^2$	Variância residual

Sumário

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivo Geral	19
2.2	Objetivos Específicos	19
3	REVISÃO LITERÁRIA	20
3.1	Carotenoides	20
3.2	Métodos de análise de carotenoides	23
3.3	Aplicação de análise multivariada na interpretação de espectros NIR	25
3.4	Validação de modelos de predição	26
3.5	Métodos de adsorção de carotenoides	28
3.5.1	Cinética de adsorção	29
3.5.2	Equilíbrio de adsorção e isothermas	31
3.5.3	Termodinâmica de adsorção	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	Materiais	37
4.2	Métodos	37
4.2.1	Análise de β -caroteno por UV-VIS	37
4.2.2	Análise de β -caroteno por HPLC	37
4.2.3	Análise de β -caroteno por espectroscopia NIR	37
4.2.4	Adsorção em batelada	38
4.2.5	Validação da espectroscopia NIR no monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno em etanol	40
4.2.6	Análise estatística	41
5	RESULTADOS	43
5.1	Efeito do tipo de agitação sobre a adsorção	43
5.2	Cinética de adsorção	44
5.3	Equilíbrio de adsorção	54
5.4	Avaliação termodinâmica	59
5.5	Espectroscopia NIR – Validação do modelo	61
5.5.1	Calibração multivariada com PLS	61
5.5.2	Validação cruzada com amostras de concentrações conhecidas	62
5.5.3	Monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno com espectroscopia NIR	67

6	CONCLUSÕES	69
7	TRABALHOS FUTUROS	70
	ANEXO A – BALANÇO DE MASSA INCREMENTAL COM MÚL- TIPLAS REMOÇÕES	71
	ANEXO B – DADOS DE CINÉTICA DE ADSORÇÃO	72
	REFERÊNCIAS	73

1 Introdução

Nos últimos anos o mundo compreendeu que alimentos não servem apenas para nutrir, mas oferecem também elementos biologicamente ativos, que proporcionam benefícios adicionais à saúde. A esses se deu o nome de alimentos funcionais.

Entre os compostos bioativos atualmente conhecidos presentes em alimentos, aqueles que oferecem atividade antioxidante estão entre os mais cobiçados, devido sua capacidade de reagir com radicais livres. Dentre esses merecem destaque os carotenoides, que são pigmentos sintetizados por plantas superiores, micro-organismos e animais, com cores que vão do amarelo ao vermelho (SENTANIN; RODRIGUEZ-AMAYA, 2007).

O consumo desses compostos tem sido associado a sua grande capacidade antioxidante e aos inúmeros benefícios para a saúde que isso pode trazer, como a prevenção de câncer, de doenças vasculares, oculares e degenerativas. Garantir uma boa defesa antioxidante é essencial, afinal, o estresse oxidativo é uma forma pela qual o sistema imune combate infecções e outras situações (ABRAHAMSSON; RODRIGUEZ-MEIZOSO; TURNER, 2012; AMORIM-CARRILHO et al., 2014).

Todavia, o β -caroteno é um dos mais importantes e valiosos carotenoides. É largamente utilizado na indústria como suplemento alimentar, aditivo de fármacos, em produtos para alimentação animal, como corantes alimentícios e até em fragrâncias. Recentemente o comércio global dessa classe de composto totalizou receitas de mais de 1 bilhão de dólares e estima-se que nos próximos três anos esse mercado deverá render quase 1,5 bilhões de dólares (COMPANIES AND MARKETS, 2015). Para atender tamanha demanda várias matrizes naturais vêm sendo utilizadas para extração de carotenoides. Dentre elas obtém destaque as frutas e hortaliças frescas e as oleaginosas (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014).

Processos de adsorção têm sido amplamente utilizados para recuperação e purificação de carotenoides a partir de fontes naturais. Adsorventes poliméricos e adsorventes baseados em sílicas modificadas vêm sendo usados em conjunto com solventes orgânicos, tais como acetona, diclorometano, clorofórmio e acetato de etila (AHMAD et al., 2008; AHMAD et al., 2009a; AHMAD et al., 2009b; AHMAD et al., 2009c; CHAN et al., 2000; DAMAYANTI et al., 2014; LATIP et al., 2000). Esses solventes podem, em parte, contaminar o extrato e prejudicar a saúde humana, o que inviabiliza seu uso para consumo humano (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2001).

Para contornar os riscos com uso de solventes orgânicos tóxicos, o etanol tem sido usado na extração por solvente de óleos vegetais e até de carotenoides oriundos de fontes naturais, como frutas, oleaginosas ou mesmo óleos vegetais (CARDENAS-TORO et al.,

2015; OTHMAN et al., 2010; SINGH; AHMAD; AHMAD, 2015). O isopropanol também tem sido um solvente alternativo para recuperação de carotenoides por adsorção (CHAN et al., 2000; LATIP et al., 2000; MUHAMMAD et al., 2010; OTHMAN et al., 2010).

De fato o etanol é amplamente utilizado na indústria alimentar, cosmética e na extração de produtos naturais (FOX, 2009; KERTON; MARRIOTT, 2013). Também é considerado como um solvente verde, atóxico e renovável, além de está em grande disponibilidade no Brasil, pois o país é um dos maiores produtores de etanol de cana do mundo há mais de 30 anos (DIAS et al., 2009; SOLOMON, 2010). O que torna sua aplicação em adsorção de carotenoides bastante atrativa.

Os álcoois de cadeia curta também são comumente utilizados para produção de biodiesel através de reações de transesterificação de óleos vegetais, principalmente metanol ou etanol (ACEVEDO et al., 2015; MEHER; SAGAR; NAIK, 2006; NARWAL; GUPTA, 2013). Tanto o óleo vegetal quanto o biodiesel produzido por essas fontes contém uma alta concentração de carotenoides (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; ZEB; MEHMOOD, 2004). Mas esses são sensíveis à luz e ao calor intenso (DIAS, 2012) e acabam por serem destruídos durante o processo de produção e refino de óleo clarificado (SILVA et al., 2014). Logo recuperar essas frações em solução etanólica antes de sua destruição seria interessante. No entanto, apesar do crescente uso deste solvente em extrações, estudos mais profundos a cerca da adsorção de carotenoides, em especial o β -caroteno, em meio a etanol ainda não foram relatados.

Assim, dada tamanha importância desse biocomposto e tão grande vantagem com o uso do etanol, desenvolver estudos para recuperar carotenoides em meio etanólico é de fundamental importância.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve por objetivo estudar a recuperação de β -caroteno a partir de solução etanólica utilizando processos de adsorção em regime de batelada.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar diferentes métodos de agitação para adsorção de β -caroteno em etanol em regime de batelada;
- Avaliar a cinética de adsorção para o processo e sua modelagem matemática adequada;
- Avaliar as condições de equilíbrio de adsorção e a modelagem de isothermas de equilíbrio;
- Avaliar os efeitos da temperatura e a termodinâmica no processo de adsorção do β -caroteno em solução etanólica.
- Validar uma metodologia não destrutiva para quantificação *on-line* de β -caroteno em etanol por espectroscopia no infravermelho próximo.

3 Revisão literária

3.1 Carotenoides

Os carotenoides são, sem dúvida, entre os pigmentos mais comuns e importantes em organismos vivos encontrados em alimentos e vegetais comuns. Seu nome é derivado do fato de que eles constituem o principal pigmento da raiz de cenouras (*Daucus carota*). Os carotenoides são os pigmentos responsáveis pelas cores de muitas plantas, frutas e flores. São nutrientes solúveis em gordura e categorizado como xantofilas ou carotenos de acordo com a sua composição química (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; ZEB; MEHMOOD, 2004).

A estrutura de um carotenoide é o que determina sua potencial função biológica. O padrão característico de ligações alternadas simples e duplas no esqueleto de polieno dos carotenoides lhes permite absorver o excesso de energia a partir de outras moléculas, enquanto que a natureza dos grupos terminais específicos em carotenoides podem influenciar a sua polaridade. O primeiro pode explicar as propriedades antioxidantes dos carotenoides biológicos, enquanto que o último pode explicar as diferenças nos meios que os carotenoides individuais interagem com as membranas biológicas (ZEB; MEHMOOD, 2004).

Os carotenoides são tetraterpenos de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula. Ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigênio ou a combinação destes processos resultam na diversidade de estruturas dos carotenoides. A cadeia poliênica pode ter de 3 a 15 duplas ligações conjugadas (UENOJO; MAROSTICA; PASTORE, 2007).

Carotenoides compostos somente de carbono e hidrogênio são chamados de carotenos e os carotenoides oxidados, as xantofilas, apresentam grupos substituintes com oxigênio, como hidroxilas, grupos ceto e epóxi (ARVAYO-ENRÍQUEZ et al., 2013; PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; UENOJO; MAROSTICA; PASTORE, 2007). A maioria das xantofilas são encontrados em vegetais de folhas verdes e quase todos os carotenos são encontrados em vegetais que vão do amarelo ao avermelhado (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; ZEB; MEHMOOD, 2004).

Os carotenoides mais importantes são α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina, luteína, violaxantina, neoxantina, e licopeno; suas estruturas são apresentadas na Figura 1 (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; ZEB; MEHMOOD, 2004).

Estudos mostram que importância dos carotenoides vai muito além de propriedades nutricionais. Dentre as funções dos carotenoides estão a função provitaminas, propriedades

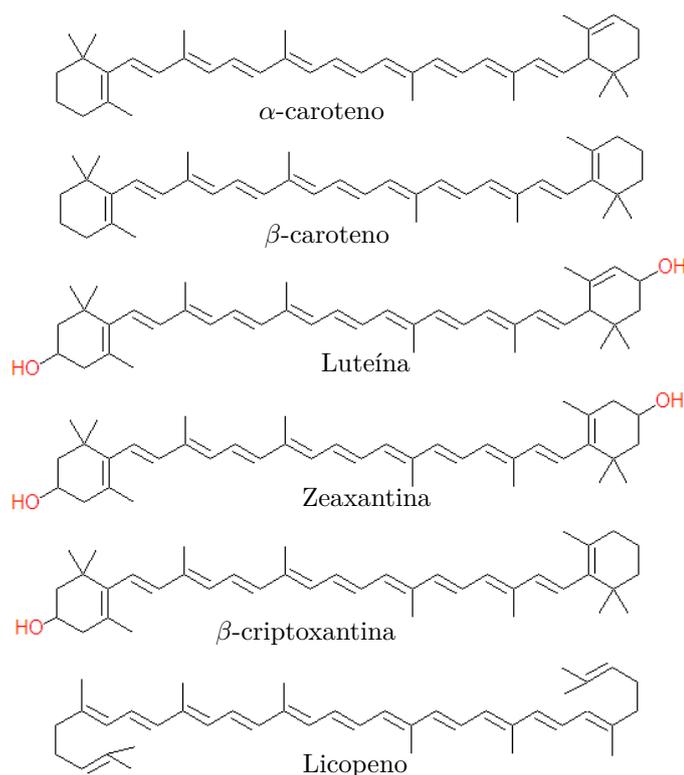


Figura 1 – Estruturas dos carotenoides mais importantes.

Fonte: Adaptado de Zeb e Mehmood (2004).

anticâncer para certos tipos de tumores, ajuda a prevenir a cegueira noturna, problemas oculares e doenças de pele, também aumenta a imunidade e protege contra toxinas, resfriados, gripes e infecções. Além da utilização de medicamentos, a importância dos carotenoides também aumentou devido ao uso mais extensivo de compostos naturais para as indústrias alimentares, cosméticos, devido a função do pigmento (corante natural) e suas propriedades antioxidantes (RAVANELLO et al., 2003).

O α -caroteno, o β -caroteno e a β -criptoxantina são carotenos que são convertidos em vitamina A ou retinol no corpo humano. Eles são encontrados em muitas frutas e vegetais amarelos. O β -caroteno é o carotenoide mais amplamente estudados (GRUNE et al., 2010; PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014; ZEB; MEHMOOD, 2004).

A luteína e a zeaxantina são armazenados na retina do olho; não são convertidos a vitamina A. Ambos são poderosos antioxidantes e pode ser muito importante para saúde ocular e são encontrados em muitas frutas e vegetais amarelos. A luteína também está presente em vegetais verdes, como brócolis, repolho e couve (ZEB; MEHMOOD, 2004).

O licopeno é responsável pela cor vermelha em frutas e legumes, incluindo tomates, uvas vermelhas, melancia e toranja rosa e também encontrada em mamão e damascos. O licopeno é convertido em vitamina A e tem importantes propriedades anticancerígenas

e outros benefícios para a saúde. Atualmente, o interesse está focando nos aspectos nutricionais e medicinais de diferentes carotenoides individuais. Uma vez que eles tendem a crescer em importância e valor, suas fontes são muito importantes (ZEB; MEHMOOD, 2004).

O β -caroteno (β - β -caroteno) é o membro mais importante do grupo de carotenoides. Devido à sua cadeia de 9 ligações duplas conjugadas, o β -caroteno apresenta um pico principal de absorção no espectro visível, com um máximo a 450 nm, responsável pelas cores laranja a vermelha do composto. Em sistemas biológicos, o isômero predominante é o *todo-trans*- β -caroteno (*E*-isômero). No entanto, *cis*-isômeros foram encontradas em organismos e amostras de alimentos vivos. Entre eles são *9-cis*, *13-cis* e *15-cis*- β -caroteno (*Z*-isômeros), além de alguns outros *di*- e *poli-cis* (GRUNE et al., 2010).

O β -caroteno é o precursor mais adequado e importante para a vitamina A. Isto é devido principalmente à sua estrutura simétrica, pois ele é o único carotenoide capaz de ceder duas moléculas de *todo-trans*-retinal após clivagem oxidativa da ligação carbono-carbono central (Figura 2) (GRUNE et al., 2010).

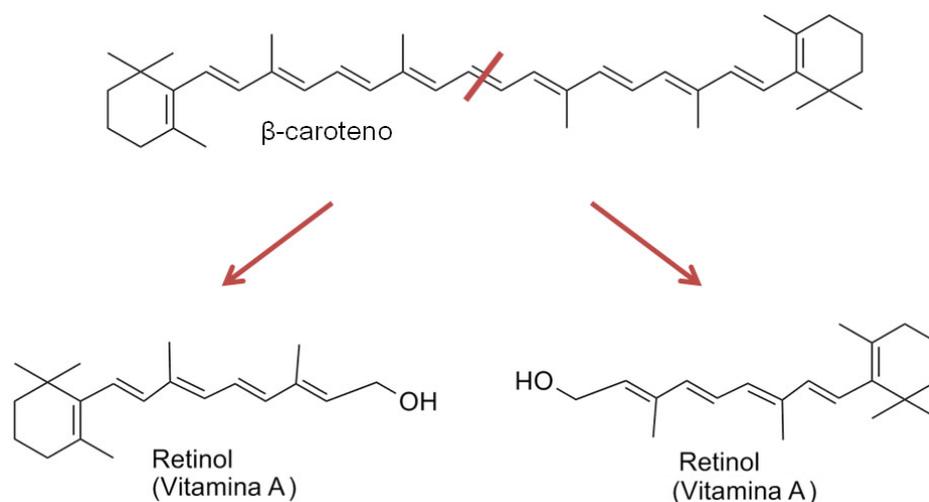


Figura 2 – Produção de retinol (vitamina A) por clivagem simétrica de β -caroteno.

Os carotenoides com suas propriedades antioxidantes protegem as células de danos oxidativos provocados por radicais livres (átomos ou moléculas altamente reativos, contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, que formam um campo magnético e atraem qualquer composto situado próximo à sua órbita externa) e por espécies reativas de oxigênio (EROs) estes constituem moléculas não radicalares derivadas do oxigênio, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (SHAMI; MOREIRA, 2004).

A proteção antioxidante é fornecida pelos carotenoides acíclicos que possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas; por exemplo, o licopeno é mais eficaz que o β -caroteno, pois

o licopeno possui onze duplas ligações conjugadas e cadeia acíclica, enquanto o β -caroteno possui nove duplas ligações conjugadas e cadeia cíclica nas extremidades (MASCIO; KAISER; SIES, 1989). Porém, o β -caroteno é o mais abundante nos alimentos e o mais interessante economicamente, pois apresenta maior atividade vitamínica (AMBRÓSIO; CAMPOS; FARO, 2006). É o único carotenoide que apresenta dois radicais β -ionona, que ao romper-se forma duas moléculas de provitamina A que por sua vez se liga a radicais livres, defendendo os lipídeos (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014).

No entanto, o β -caroteno é o principal carotenoide presente na pele e é enriquecida neste tecido após sua suplementação. Estudos em seres humanos demonstram os efeitos protetores de UV moderadas de β -caroteno na pele. Na maior parte destes estudos, um consumo elevado de β -caroteno melhora parcialmente queimaduras solares ou eritema induzido por UV (eritema solar), a reação primária da pele após exposição aos raios UV. Isso foi atribuído à proteção primária contra a oxidação fotoquímica (GRUNE et al., 2010).

Além disso, propriedades pro-oxidantes do β -caroteno tem sido investigadas no contexto de peroxidação de lipídeos. Muitos estudos *in vitro* apresentarem que, sob condições de alta tensão de oxigênio, atividades pro-oxidantes podem ser medidas (GRUNE et al., 2010).

3.2 Métodos de análise de carotenoides

Espectroscopia é amplamente reconhecida como uma tecnologia poderosa para análise de produtos e controle de qualidade em diferentes áreas químicas. No entanto, a estimativa da concentração do componentes químicos de interesse em um determinado produto é um desafio por conta da colinearidade entre as variáveis espectrais e o grande número de variáveis para lidar com eles. Na literatura de quimiometria, vários métodos de estimativa têm sido propostos para resolver este problema (ALHICHRI et al., 2013).

Segundo Arvayo-Enríquez et al. (2013), duas classes de técnicas têm sido usadas para análise de carotenoides em alimentos. Técnicas destrutivas, que incluem a espectrofotometria e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *High-performance liquid chromatography*), e técnicas não destrutivas, diretas, que incluem espectroscopia de ressonância Raman, espectroscopia fotoacústica e colorimetria. No entanto os resultados obtidos por métodos diretos na avaliação de conteúdo de carotenoides são bem correlacionados àqueles obtidos por espectroscopia e HPLC.

A análise quantitativa de carotenoides pelo método clássico pode ser executada por espectrofotometria na região do ultra violeta visível (UV-vis) em várias matrizes com mistura de carotenoides. No entanto o comprimento de onda observado será correspondente ao máximo de absorção do composto em maior quantidade. Esse método é muito adequado para a análise de compostos em elevadas concentrações e demanda pouco tempo para sua

execução (BIEHLER et al., 2010; XAVIER et al., 2012).

A determinação de carotenoides por HPLC também vem sendo aplicada em vários trabalhos utilizando colunas C18 ou C30 em fase reversa com eluição isocrática, com um único solvente ou com uma mistura de solventes de composição constante, ou por gradiente, realizada utilizando uma quantidade de solvente q2 a uma quantidade de solvente q1 para aumentar a força eluente através da variação da concentração dos solventes durante a análise. Ambas as formas utilizando solventes orgânicos ou suas misturas como fase móvel e detector UV-VIS (AMORIM-CARRILHO et al., 2014; KARNJANAWIPAGUL et al., 2010; BIEHLER et al., 2010; XAVIER et al., 2012). Esse método oferece alta eficiência, permite a detecção e quantificação de cada composto separadamente, mas com as desvantagens do elevado custo do equipamento e a necessidade de alta habilidade do analista e de extrato isento de impurezas, além de demandar muito tempo de análise, em média 20 a 40 minutos por amostra (SENTANIN; RODRIGUEZ-AMAYA, 2007).

Tanto na clássica espectrofotometria no UV-visível quanto na HPLC (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) a amostra é mensurada normalmente através de radiação ultravioleta visível (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2001) ou outros tipos de detectores, como espectroscopia de massa e DAD (do inglês *photodiode array detection*) (AMORIM-CARRILHO et al., 2014; ARVAYO-ENRÍQUEZ et al., 2013). No entanto, pesquisas demonstram que a radiação UV-VIS degrada carotenoides e transforma-os em diferentes compostos (KOUTCHMA; FORNEY; MORARU, 2009), além do fato de ter que remover alíquotas do analito. O que inviabiliza a aplicação dessas técnicas para monitoramento de processos de forma não invasiva e não destrutiva.

Em virtude disso, tanto em escala analítica quanto em escala produtiva, métodos rápidos, diretos e não destrutivos para quantificação de carotenoides vêm sendo intensivamente estudados. Nesse contexto a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR - do inglês *Near Infrared*) tem sido reconhecida como uma das técnicas mais promissoras para a previsão de propriedades físicas e químicas de biocompostos, devido à sua preparação poderosa, rápida, não destrutiva e boa reprodutibilidade (LI et al., 2015). Ela é tão rápida quanto a clássica espectrofotometria UV-vis e tão eficiente quanto a HPLC. Essa técnica tem crescido rapidamente e é o método analítico mais versátil não só nas ciências farmacêuticas, mas também na indústria (JAMRÓGIEWICZ, 2012). É capaz, inclusive, de analisar amostras sem nenhuma preparação prévia. No entanto, sobre quantificação de espécies de carotenoides a literatura ainda contém pouca informação em relação às outras duas técnicas discutidas. NIR tem sido usada na análise de carotenoides em diferentes fontes naturais, como em genótipos de milho (BERARDO et al., 2004; BRENNAN; BERARDO, 2004), em mangas em diversos estados de maturação (RUNGPICHAYAPICHET et al., 2015), em produtos de tomate (PEDRO; FERREIRA, 2005), e em couve chinesa (CHEN et al., 2009).

3.3 Aplicação de análise multivariada na interpretação de espectros NIR

Com o uso dos métodos de análise de dados multivariados a espectroscopia NIR permite analisar várias espécies químicas presentes na amostra ao mesmo tempo, não importando a existência ou ausência de diferenças espectrais marcantes entre elas nem a existência de alta correlação nos dados. É possível, também, a identificação de problemas eventuais com interferentes nas amostras usadas na calibração e nas novas amostras de previsão (FERREIRA et al., 1999). Isso é possível através de técnicas matemáticas e estatísticas implementadas em soluções computacionais para extrair a informação relevante a partir dos dados espectrais de NIR.

Em geral, os estudos relatados sobre aplicação de NIR em análise de carotenoides foram baseados no modelo de calibração linear de um modelo de regressão multivariada por mínimos quadrados parciais (do inglês *partial least squares* - PLS) dado por:

$$\hat{y} = \sum_{i=1}^n \alpha_i x_i + \beta_0 \quad (3.1)$$

onde \hat{y} representa a concentração predita (mg/L) do soluto, x_i é a absorvância no i -ésimo número de onda do espectro e β_0 é a interceptação (bias) do modelo e α_i é o i -ésimo peso da variável x_i determinado pela calibração PLS.

De acordo com Abdi e Williams (2013), a regressão dos mínimos quadrados parciais é usada quando o objetivo da análise é prever um conjunto de variáveis (\mathbf{Y}) a partir de um conjunto de preditores (\mathbf{X}). Como uma técnica de regressão, a PLS é usada para prever uma tabela inteira de dados (em contraste com a regressão padrão no qual se prevê uma única variável), e que também pode tratar o caso de preditores multicolineares (isto é, quando os preditores não são linearmente independente). Estas características tornam PLS uma ferramenta muito versátil porque pode ser utilizada com conjuntos de dados muito grandes (como é o caso dos espectros NIR) para os qual tradicionais métodos de regressão falham.

Esse método é baseado na decomposição de uma matriz de dados espectrais \mathbf{X} , em termos da soma de várias matrizes de uma dimensão \mathbf{M}_i , mais uma matriz de erros de \mathbf{X} , \mathbf{E} . As matrizes \mathbf{M}_i constituem os chamados componentes principais (ou variáveis latentes), e são formadas pelo produto dos vetores de escores \mathbf{t} e de pesos \mathbf{p} dadas por:

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \dots + \mathbf{M}_n + \mathbf{E} \quad (3.2)$$

ou,

$$\mathbf{X} = \mathbf{t}_1\mathbf{p}_1 + \mathbf{t}_2\mathbf{p}_2 + \dots + \mathbf{t}_n\mathbf{p}_n + \mathbf{E} \quad (3.3)$$

ou,

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad (3.4)$$

A dimensionalidade do espaço original é igual ao número de colunas em \mathbf{X} , ou seja, o número de comprimentos de ondas originais nos quais foram medidas as absorbâncias \mathbf{X} . No novo modelo, a dimensionalidade é descrita pelo número de matrizes \mathbf{M}_i necessárias para descrever \mathbf{X} . Assim, se for possível descrever uma matriz \mathbf{X} que tenha muitas variáveis, por um número pequeno dessas matrizes \mathbf{M}_i , haverá uma redução na dimensionalidade, sem perda de informação (GELADI; KOWALSKI, 1986; MARTENS; NAES, 1992; PERALTA-ZAMORA et al., 1997; SZUVANDZSIEV et al., 2014).

Nesse modelo, tanto a matriz das variáveis independentes \mathbf{X} , como a das variáveis dependentes \mathbf{Y} são representadas pelos escores e pesos:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad (3.5)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} \quad (3.6)$$

Uma relação linear entre as duas matrizes de dados \mathbf{X} e \mathbf{Y} pode ser construída, correlacionando os escores de cada bloco:

$$\mathbf{u}_n = \mathbf{b}_n \mathbf{t}_n \quad (3.7)$$

ou,

$$\mathbf{U} = \mathbf{bT} \quad (3.8)$$

O algoritmo NIPALS (nonlinear iterative partial least square), também conhecido como PLS1, é usado para efetuar a calibração multivariada calculando os parâmetros do modelo PLS (MARTENS; NAES, 1992; GELADI; KOWALSKI, 1986). Esse algoritmo é implementado em diversas ferramentas computacionais, como o Statistica, o Minitab, o R, o Matlab, o Scilab e o Unscrambler.

3.4 Validação de modelos de predição

Quando fazemos uma análise de regressão, uma equação correta para a amostra observada é produzida. Entretanto, normalmente uma pesquisa científica busca generalizar suas descobertas para além da amostra observada.

Segundo Field (2013):

Mesmo se não pudermos ter certeza de que o modelo derivado da nossa amostra representa de forma precisa toda a população, existem maneiras de determinar quão bem nosso modelo pode prever a saída em uma amostra diferente.

...

Se um modelo pode ser generalizado, ele deve ser capaz de prever de modo preciso a mesma variável de saída a partir do mesmo conjunto de previsores em um grupo de amostras diferentes. Se o modelo é aplicado a uma amostra distinta e existe uma grande diferença na sua capacidade de previsão, então o modelo claramente não é generalizável.

Como uma primeira regra prática, nós devemos coletar dados suficientes para obter um modelo de regressão confiável. Determinar a precisão de um modelo entre diferentes amostras é conhecido como validação cruzada. Uma vez determinado o modelo de regressão, existem dois métodos principais de validação cruzada, holdout e *K-fold*.

Método *Holdout*

Esse método de validação particiona os dados em dois subconjuntos mutuamente exclusivos, um conjunto de treinamento (ou calibração) e um conjunto de teste, ou conjunto de validação. É comum designar 2/3 dos dados para calibração e 1/3 restante como conjunto de teste. O conjunto de calibração é dado para treinar o modelo que será validado no conjunto de teste (ARLOT; CELISSE et al., 2010; FIELD, 2013; KOHAVI, 1995).

Método *K-fold*

O conjunto de dados é dividido em subconjuntos de K elementos, e o método de validação é repetido K vezes. De cada vez, um dos subconjuntos de K é usado como o conjunto de teste e os outros $K-1$ subconjuntos são agrupados para formar um conjunto de calibração. Em seguida, o erro médio em todos os ensaios K é calculado. Cada ponto de dados chega a ser em um teste de definir exatamente uma vez, e chega a ser em um conjunto de treinamento $K-1$ vezes. A variância da estimativa resultante é reduzida quando K é aumentado. (ARLOT; CELISSE et al., 2010; FIELD, 2013; KOHAVI, 1995)

Validação *Leverage Corrected*

Um outro método bastante comum, mas que não usa validação cruzada, é validação *Leverage Corrected*. Esse método só exige que façamos um modelo, calibrado e validado com o mesmo conjunto de teste. Esse método traz sempre uma estimativa demasiadamente otimista (ESBENSEN et al., 2002).

Segundo Esbensen et al. (2002), o *Leverage Corrected* pode ser usado como uma alternativa para as fases iniciais de modelagem do problema, para poupar tempo, mas deve ser sempre substituído por um método mais robusto para a validação do modelo

final. No entanto Martens e Naes (1992) recomenda seu uso preliminar para avaliação de resíduos e remoção de outilier.

3.5 Métodos de adsorção de carotenoides

A adsorção é uma operação em que os componentes de uma fase fluida (solutos) são seletivamente transferidos para partículas insolúveis, rígidas em suspensão num vaso ou empacotados em uma coluna. Em um processo de adsorção, o soluto adsorvido é chamado adsorbato, enquanto o material sólido é o adsorvente (HENLEY; SEADER; ROPER, 2011).

Durante a adsorção há uma transferência de massa, onde um sólido é capaz de concentrar em sua superfície determinadas substâncias presentes em fluidos líquidos ou gasosos, possibilitando a separação dos componentes desses fluidos. Uma vez que os componentes adsorvidos concentram-se sobre a superfície externa, quanto maior for esta superfície externa logo a adsorção será mais favorável. Por isso, geralmente os adsorventes são sólidos com partículas porosas (RUTHVEN, 1984).

Separação por adsorção é muito importante na indústria. Geralmente, o processo utiliza materiais sólidos porosos, tais como zeólita, carvão ativado, sílica gel, ou resinas poliméricas como adsorventes. Sua importância no que se refere a um processo de separação e purificação, tem sido objeto de interesse dos cientistas, e apresenta importância tecnológica, biológica, além de aplicações práticas na indústria e na proteção ambiental, tornando-se uma ferramenta útil em vários setores (COONEY, 1998; CRINI, 2005; DABROWSKI, 2001; MCKAY, 1995; QIU et al., 2009)

Existem dois tipos de adsorção, adsorção física e adsorção química (quimiossorção). Adsorção física ocorre rapidamente, e pode ser de uma camada molecular (monocamada), ou de duas ou mais camadas de espessura (multicamada). A adsorção na monocamada geralmente é reversível, pois prevalecem forças atrativas ou interação relativamente fracas que podem ser atribuídas às forças de Van der Waals, onde as moléculas se fixam na superfície do adsorvente. A quimiossorção envolve a formação de ligações químicas entre adsorvente e adsorbato numa monocamada, muitas vezes com uma liberação de calor maior do que o calor de vaporização. Geralmente são lentas e irreversíveis, pois ocorrem interações químicas, a qual envolve a troca ou partilha de elétrons entre as moléculas do adsorbato e a superfície do adsorvente, resultando em uma reação química (HENLEY; SEADER; ROPER, 2011; NASCIMENTO et al., 2014).

Modelos de equilíbrio e de cinética de adsorção são os requisitos básicos para a análise e projeto no desenvolvimento de processos de adsorção. Nas últimas décadas, vários modelos matemáticos têm sido propostos para descrever os dados de adsorção (ARMAGAN; TOPRAK, 2013; AHMAD et al., 2008; AHMAD et al., 2009a; AHMAD et

al., 2009b; AHMAD et al., 2009c; MUHAMMAD et al., 2010; DAMAYANTI et al., 2014; CHAN et al., 2000; LATIP et al., 2000; DABROWSKI, 2001).

A modelagem de equilíbrio é usada para descrever como moléculas do adsorbato interagem com sítios ativos do adsorvente e é representada por isothermas de adsorção. As equações de Langmuir e Freundlich são os modelos usados com mais frequência na modelagem dos dados experimentais com isothermas de adsorção por causa de sua simplicidade e razoável precisão (LIU et al., 2014).

Para a recuperação e purificação de carotenoides, têm sido propostos processos que envolvem a adsorção em fases estacionárias baseadas em sílica gel, em sílica modificada por superfícies hidrofóbicas e adsorventes sintéticos poliméricos, além de derivados de carbono. Na Tabela 1 estão apresentados alguns trabalhos recentes sobre adsorção de carotenoides em diferentes condições.

Tabela 1 – Trabalhos recentes sobre adsorção de carotenoides em diferentes condições.

Referência	Fonte	Solventes	Adsorvente
(AHMAD et al., 2008)	efluente de dendê	n-hexano	sílica gel
(AHMAD et al., 2009a)	solução de β -caroteno	n-hexano	sílica gel, Florisil
(AHMAD et al., 2009b)	efluente de dendê	n-hexano	sílica gel
(AHMAD et al., 2009c)	efluente de dendê	n-hexano	sílica gel
(CHAN et al., 2000)	óleo de dendê	isopropanol	polímeros sintéticos
(DAMAYANTI et al., 2014)	óleo de dendê	graxos/metanol	kaolin
(MUHAMMAD et al., 2010)	solução de β -caroteno	isopropanol	monólito de carbono
(KARO et al., 2014)	óleo de dendê	etanol	Poliestireno Sulfonato
(LATIP et al., 2000)	óleo de dendê	isopropanol	polímeros sintéticos

Aniza (1995) (*apud* (CHAN et al., 2000)) realizou estudos sobre a adsorção de carotenos utilizando como adsorvente alumina ativada, sílica, ciclodextrina e resina polimérica HP-20 chegando a conclusão que a HP-20 adsorve melhor carotenos comparada com os outros adsorventes. O efeito de diferentes adsorventes em recuperação de carotenos também foi estudado por Chan et al. (2000) usando HP-20, Exa 31, Exa 32 e Exa 50 em n-hexano e em isopropanol à 50°C. Seus resultados mostraram que a quantidade de carotenos adsorvidos pela HP-20 em isopropanol foram as mais altas entre os quatro tipos de resina estudados, chegando à cerca de 4,5 vezes mais que a adsorção em n-hexano. Segundo o autor, resultados semelhantes foram encontrados para os outros três adsorventes, sugerindo que a adsorção ocorreu em isopropanol e a eluição ocorreu em n-hexano.

3.5.1 Cinética de adsorção

Quando tratamos de problemas de adsorção, aspectos termodinâmicos e cinéticos devem ser envolvidos para saber mais detalhes sobre o seu desempenho e mecanismos. A modelagem cinética representa a dinâmica de adsorção. Lida com a evolução no tempo dos processos de adsorção em adsorventes. Exceto para a capacidade de adsorção, o desempenho

de uma dada cinética adsorvente também é de grande importância para a aplicação piloto. A partir da análise cinética, a velocidade de adsorção de soluto, que determina o tempo de residência necessário para a conclusão da adsorção, pode ser estabelecida. Além disso, pode-se conhecer a escala de um aparelho de adsorção com base na informação cinética. De um modo geral, a cinética de adsorção é a base para determinar o desempenho de leito fixo ou de quaisquer outros sistemas de escoamento (QIU et al., 2009).

Por outro lado, a cinética química ou cinética de reação está relacionada com o estudo das velocidades das reações químicas até atingir o equilíbrio. Este estudo inclui investigações de como diferentes condições experimentais podem influenciar na velocidade de uma reação química e também informações de rendimento sobre o mecanismo de reação e estados de transição, assim como a construção de modelos matemáticos que possam descrever as características de uma reação química (ATKINS, 1999).

A cinética da adsorção para um sistema líquido-sólido é de extrema importância em processos de adsorção, pois determina a viabilidade da utilização do material como adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014). Os dois modelos mais utilizados são os modelos cinéticos de Pseudoprimeira ordem (PPO) (LAGERGREN, 1898) e de Pseudo-segunda ordem (PSO) (HO; MCKAY, 1999). Além desses, Turner et al. (2014) sugeriu o uso de modelos cinéticos de quatro e cinco parâmetros, Hill 4 e Hill 5, para modelar esses dados experimentais como maior qualidade de ajuste e comprovou sua eficácia através de técnicas formais de seleção de modelos. No entanto, esses modelos nunca antes foram usados na modelagem de cinética de adsorção de carotenoides.

Podem ser utilizados vários modelos para expressar o mecanismo de adsorção em um adsorvente. Estudos sobre a taxa de adsorção e os mecanismos de controle do processo (como reação química, transferência de controle e massa de difusão) criou-se fórmulas matemáticas que permitem representar este fenômeno (LAGERGREN, 1898). Assim, a equação de primeira ordem é geralmente representada por:

$$\frac{dQ_t}{dt} = K_1(Q_e - Q_t) \quad (3.9)$$

A forma linear do modelo cinético de primeira ordem é apresentado por:

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - K_1 t \quad (3.10)$$

Já a equação de segunda ordem (HO; MCKAY, 1999; HO, 2004) é expressa por:

$$\frac{dQ_t}{dt} = K_2(Q_e - Q_t)^2 \quad (3.11)$$

A forma linearizada da equação de segunda ordem é apresentada dada por:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (3.12)$$

Os valores de Q_e e K_2 podem ser obtidos através da interceptação e da inclinação da curva plotando (t / Q_t) versus t . Se o modelo cinético de pseudo-segunda ordem for aplicável, a plotagem deve apresentar uma relação linear próxima a 1 (NASCIMENTO et al., 2014).

Os modelos Hill4 e Hill5 são dados respectivamente pelas equações:

$$Q_t = \frac{D + (Q_e - D)}{1 + (t/K_{H4})^{-n_H}} \quad (3.13)$$

$$Q_t = \frac{D + (Q_e - D)}{(1 + (t/K_{H5})^{-n_H})^E} \quad (3.14)$$

onde Q_e e Q_t são a quantidade do adsorbato adsorvida no estado de equilíbrio (mg/g) e a quantidade de adsorbato adsorvida no tempo t (mg/g), respectivamente. K_1 (min^{-1}) é a constante cinética de pseudoprimeira ordem, K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) é a constante cinética de pseudo-segunda ordem, t (min) é o tempo de adsorção decorrido.

D é a quantidade adsorvida (mg g^{-1}) em $t = 0$, K_{H4} e K_{H5} (min) é o tempo decorrido para atingir 50% da adsorção ($(Q_e - D) / 2$) (meia-vida) e o parâmetro n_H (adimensional) representa a inclinação (sigmoide) da curva.

Usualmente o parâmetro D é igualado a zero. Logo o modelo de Hill 4 é reduzido a 3 parâmetros, e o modelo de Hill 5 a 4 parâmetros (TURNER et al., 2014).

3.5.2 Equilíbrio de adsorção e isothermas

O estudo de equilíbrio na adsorção fornece informações sobre a capacidade do adsorvente. Segundo Nascimento et al. (2014), Sohn e Kim (2005), um sistema de adsorção atinge o equilíbrio no momento que há a igualdade da velocidade em que as moléculas ou íons são adsorvidos/dessorvidos na superfície do adsorvente. Isto é, no equilíbrio, a adsorção e dessorção não deixam de ocorrer, mas sim que ocorrem simultaneamente com velocidades (taxas) iguais.

O fenômeno de adsorção pode ser quantitativamente expresso por diagramas que identificam o limite de saturação do adsorvente para cada substância a ser removida do sistema aquoso ou gasoso, normalmente designados isothermas de adsorção. As isothermas são importantes na avaliação da ocorrência ou não de afinidade entre o material adsorvente e o adsorbato, bem como na avaliação da capacidade de compostos porosos em adsorver determinada molécula (NASCIMENTO et al., 2014).

A construção de isotermas de adsorção consiste em colocar a solução contendo o componente a ser adsorvido em contato com o material poroso até que o meio atinja o equilíbrio, ou seja, até que ocorra a saturação do composto adsorvente. Segundo Nascimento et al. (2014) as isotermas de adsorção são equações matemáticas que descrevem a relação entre a quantidade de um determinado soluto adsorvido pela interface e a sua quantidade remanescente na solução de equilíbrio, sendo as equações de Langmuir (LANGMUIR, 1918) e de Freundlich (FREUNDLICH, 1906) as mais utilizadas para modelagem do equilíbrio de adsorção de carotenoides.

Geralmente, um procedimento de minimização é adotado para ajustar as equações, maximizando o coeficiente de correlação entre os pontos de dados experimentais e as previsões do modelo teórico (FOO; HAMEED, 2010) com mínimos quadrados ou algoritmos não lineares, como o algoritmo de Levenberg-Marquardt (ARMAGAN; TOPRAK, 2013; LEVENBERG, 1944; MARQUARDT, 1963; POSPĚCHOVÁ et al., 2015).

Dessa forma, sendo a adsorção um fenômeno essencialmente de superfície, para que o material adsorvente tenha capacidade adsorptiva significativa, este deve ter grande área superficial específica, ou seja, o material deve ser altamente poroso, e por afinidade química ou por forças de atrações intermoleculares serem capazes de atrair e manter presas a si moléculas presentes em um fluido líquido ou gasosos (VALENCIA, 2007).

Isotermas de Langmuir

O modelo de Langmuir supõe que a superfície do sólido é composta por um grande número de sítios, e que cada sítio pode ser ocupado por uma molécula adsorvida. Quando todos os sítios forem ocupados, o processo de adsorção atinge a saturação, ocorrendo à formação de uma monocamada de adsorbato (FOO; HAMEED, 2010; NASCIMENTO et al., 2014).

A isoterma de Langmuir assume camada monomolecular (monocamada) de adsorção com uma distribuição homogênea de energia de adsorção e sem interação mútua entre as moléculas de soluto adsorvidas (LIU et al., 2014; FOO; HAMEED, 2010).

A equação modelo de Langmuir é uma das equações mais utilizadas para representação de processos de adsorção. Essa, por sua vez, apresenta os seguintes pressupostos:

- Existe um número definido de sítios.
- Os sítios têm energia equivalente e as moléculas adsorvidas não interagem umas com as outras.
- A adsorção ocorre em uma monocamada e a superfície de adsorção é homogênea.
- Cada sítio pode comportar apenas uma molécula adsorvida.

A Equação 3.15 representa a isoterma de Langmuir (LANGMUIR, 1918):

$$Q_e = \frac{Q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (3.15)$$

onde K_L é uma constante relacionada com a energia de adsorção ($L g^{-1}$), Q_m é a constante de Langmuir que dá a capacidade máxima de adsorção teórica na monocamada ($mg g^{-1}$), C_e é a concentração do adsorbato no equilíbrio ($mg L^{-1}$) e Q_e é a quantidade adsorvida por grama do adsorvente ($mg g^{-1}$) no equilíbrio.

Segundo Alleoni, Camargo e Casagrande (1998) a adsorção se torna máxima quando uma camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente. Assim, as moléculas do adsorbato na fase fluída estão continuamente chocando-se contra a superfície do adsorvente. Se o choque ocorrer em um sítio de adsorção livre então haverá formação de uma ligação, ou interação. Se o impacto for com um sítio ocupado, então as moléculas retornarão à fase fluída.

Vários autores obtém os parâmetros de adsorção, Q_m e K_L , por linearização da equação de Langmuir. A equação linearizada de Langmuir pode expressa em uma das seguintes formas:

$$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_m} + \frac{1}{K_L Q_m C_e} \quad (3.16)$$

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_m} C_e + \frac{1}{K_L Q_m} \quad (3.17)$$

$$\frac{Q_e}{C_e} = K_L Q_m - K_L Q_e \quad (3.18)$$

Isoterma de Freundlich

A equação de Freundlich, um modelo empírico, tem sido amplamente utilizado na adsorção física ou química, para sistemas de adsorção não ideais e seu modelo assume uma distribuição heterogênea entre os sítios de adsorção em diferentes energias. Esse modelo pode ser usado para descrever o comportamento de adsorção de uma camada monomolecular, bem como a da camada multimolecular (multicamada) (LIU et al., 2014; FOO; HAMEED, 2010).

O modelo de Freundlich é muito utilizado para a descrição da capacidade de acumulação de fluidos numa superfície sólida e descreve melhor o fenômeno de adsorção em superfícies heterogêneas. Essa isoterma supõe um número quase infinito de sítios de adsorção em relação ao número de moléculas de soluto, sendo assim indica que a adsorção do soluto aumenta indefinidamente com o aumento da concentração admitindo adsorção

em multicamadas (FOO; HAMEED, 2010; NASCIMENTO et al., 2014). A capacidade de adsorção Q_e é dada pela Equação 3.19.

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3.19)$$

Onde K_F é a constante de Freundlich para um adsorvente heterogêneo (mg/g); n é um parâmetro empírico; C_e é a concentração de equilíbrio (mg/L); Q_e é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio (mg/g).

A constante de Freundlich (K_F) relaciona-se com a capacidade de adsorção, e a constante n relaciona-se com a intensidade de adsorção e heterogeneidade da superfície do adsorvente.

O valor de $1/n$ indica a intensidade de adsorção de adsorbato para o adsorvente ou heterogeneidade da superfície. $1/n$ entre 0 e 1 indica que a adsorção é favorável. Quando esse valor se aproxima de zero, a superfície do adsorvente torna-se mais heterogênea e a isoterma de adsorção torna-se mais não-linear, enquanto, $1/n$ acima de 1 é indicativo de adsorção desfavorável (SAADI et al., 2015).

Em sua representação linear a Equação de Freundlich assume a forma da Equação 3.20.

$$\log Q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (3.20)$$

A equação de Freundlich sugere que a energia de adsorção decresce logaritmicamente à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo adsorbato. Os valores de K_F e n podem ser obtidos pela intersecção e inclinação do gráfico linear de $\log(Q_e)$ versus $\log(C_e)$. O parâmetro $1/n$ corresponde à inclinação e informa o grau de linearidade da isoterma, e o valor correspondente a $\log(K_F)$ representa a intersecção da reta (NASCIMENTO et al., 2014).

Isoterma de Temkin

Esta isoterma contém um fator que explicitamente leva em consideração interações do tipo adsorbato-adsorbato. Ao ignorar valores extremamente baixos e grandes das concentrações, a Equação 3.21 assume que o calor de adsorção (função da temperatura) de todas as moléculas na camada iria diminuir linearmente em vez de logaritmicamente com uma cobertura (DADA et al., 2012). Sua forma linearizada (Equação 3.22) é dada através da quantidade adsorvida Q_e versus $\ln C_e$ e as constantes podem ser determinadas a partir da inclinação e da interceptação da reta.

$$Q_e = \frac{R T}{b} \ln(K_T C_e) \quad (3.21)$$

$$Q_e = \frac{R T}{b} \ln(K_T) + \frac{R T}{b} \ln(C_e) \quad (3.22)$$

onde K_T é a constante de ligação no equilíbrio (L mol^{-1}) correspondente à máxima energia de ligação, b está relacionado ao calor de adsorção, R é a constante universal dos gases ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e T é a temperatura (K).

Isoterma de Redlich-Peterson

Estudos recentes relataram que a equação Redlich-Peterson é mais precisa do que a equação de Langmuir e Freundlich para descrever sistemas de adsorção. O modelo de Redlich-Peterson incorpora três parâmetros para representar equilíbrio da adsorção sobre uma vasta gama de concentrações, que pode ser aplicado tanto em sistemas homogêneos ou heterogêneos devido à sua versatilidade. A isoterma de Redlich-Peterson é um modelo híbrido derivado das isotermas de Langmuir e Freundlich, que incorpora três parâmetros na Equação 3.23. O modelo tem uma dependência linear da concentração no numerador e uma função exponencial no denominador para representar o equilíbrio da adsorção sobre uma vasta faixa de concentrações, que podem ser aplicadas tanto em sistemas homogêneos ou heterogêneos devido à sua versatilidade (FOO; HAMEED, 2010; SAADI et al., 2015).

$$Q_e = \frac{K_R C_e}{1 + a_R C_e^g} \quad (3.23)$$

onde, K_R (L/G) é a constante e g é o expoente e a_R (1/mg) a constante da isoterma de Redlich-Peterson.

O modelo de Redlich-Peterson não assume o mecanismo de adsorção em monocamada ideal (SAADI et al., 2015).

3.5.3 Termodinâmica de adsorção

As velocidades de adsorção não são bons critérios para distinguirem os tipos de adsorção (químicas e físicas). A adsorção química pode ser rápida se a energia de ativação for nula ou pequena, e pode ser lenta se a energia de ativação for elevada. A adsorção física é, em geral, rápida, mas pode ser lenta se estiver envolvida com a ocupação de um meio poroso (NASCIMENTO et al., 2014).

Para estimar o efeito da temperatura sobre o processo de adsorção os parâmetros termodinâmicos, energia livre Gibbs ΔG_{Ads}^o , entalpia ΔH_{Ads}^o e entropia ΔS_{Ads}^o do processo de adsorção são calculados pela Equação 3.24 e pela Equação 3.25:

$$\Delta G_{Ads}^o = -R T \ln K_D \quad (3.24)$$

onde R (8.314 J/(mol K)) é a constante universal dos gases e T (K) é a temperatura absoluta da solução. O valor para a constante de equilíbrio termodinâmico K_D (L/mol) é calculado fazendo o ajuste linear de (Q_e/C_e) versus Q_e 3.18, a inclinação da reta é igual a $-K_D$, ou seja, quanto maior seu valor mais favorável será a adsorção (SHU et al., 2015).

A entalpia e entropia são calculadas pela interceptação e inclinação da equação de van't Hoff fazendo o ajuste linear de ΔG_{Ads}^o versus T :

$$\Delta G_{Ads}^o = \Delta H_{Ads}^o - T\Delta S_{Ads}^o \quad (3.25)$$

A magnitude do ΔG_{Ads}^o até 20.0 kJ/mol é compatível com interações eletrostáticas entre os sítios ativos do adsorvente e o adsorbato, o que caracteriza a adsorção física ou fisiosorção. Se essa magnitude encontra-se entre 21.0 e 40.0 kJ/mol, o processo de adsorção pode explicado por complexação por compartilhamento ou transferência de carga da superfície do adsorvente para a molécula do adsorbato (ANIRUDHAN; SUCHITHRA et al., 2010).

Embora muitos trabalhos relacionados à adsorção de carotenos não tragam muita informação a respeito da termodinâmica desse processo, a natureza espontânea e endotérmica foi observada na adsorção de β -caroteno em meio a isopropanol com adsorvente monólito de carbono revestido (MUHAMMAD et al., 2010), em n-hexano com sílica gel (AHMAD et al., 2009a) e em terra ativada sem adição de solventes (SILVA et al., 2013).

4 Materiais e Métodos

4.1 Materiais

A adsorção de β -caroteno em pó tipo I, C-9750, com 93% de pureza da Sigma-Aldrich diluído em etanol p.a. com 99% de pureza da VETEC, foi conduzida com resina polimérica Diaión HP-20 260 Å de poro e 250 μm de tamanho de partícula, da Sigma-Aldrich, como adsorvente.

Inicialmente a resina polimérica HP-20 foi lavada com etanol sob agitação ultrassônica por 20 minutos e filtrada. Esse procedimento foi repetido 3 vezes, para então secá-la em uma estufa à 30°C por 24h.

4.2 Métodos

4.2.1 Análise de β -caroteno por UV-VIS

A concentração de β -caroteno em etanol foi medida em uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho ótico usando um espectrofotômetro UV-*Visível* Shimadzu UV-2600 no comprimento de onda de 452 nm.

4.2.2 Análise de β -caroteno por HPLC

A quantificação de β -caroteno por HPLC foi executada em sistema HPLC conectado a um detector UV-VIS Shimadzu SPD-20A. As análises foram feitas com uma coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4.6 mm, I.D. 5 μm). A fase móvel foi o etanol. O analito foi pré-filtrado à 0,45 μm . A taxa de fluxo foi de 1 mL/min em todas as corridas. O volume de injeção foi 20 μL para cada corrida. O comprimento de onda usado no detector UV-VIS foi 452 nm.

4.2.3 Análise de β -caroteno por espectroscopia NIR

Amostras de β -caroteno padrão de concentrações conhecidas foram preparadas e escaneadas em um espectrofotômetro de infravermelho próximo modelo FTLA-2000.

Cinco espectros foram recolhidos de cada amostra, cada uma usando 1556 leituras na faixa de 4000 a 10000 cm^{-1} , com 4 cm^{-1} de resolução.

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi utilizada para desenvolver todo modelo de predição NIR através do algoritmo PLS1 (NIPALS), do software

Unscrambler v 9.7 (2007).

As amostras foram divididas em conjuntos de calibração e validação (teste). O conjunto de calibração composto por aproximadamente 3/4 de todos os espectros e o conjunto de validação composto pelos espectros restantes (1/4).

O desempenho do modelo foi avaliado pelo coeficiente de determinação (R^2), pelo erro padrão de previsão (SEP) e pelo erro padrão de validação cruzada (SECV). O melhor modelo de ajuste foi escolhido com base na mais elevada correlação e no menor SEP.

4.2.4 Adsorção em batelada

O efeito da agitação em Shaker orbital isotérmico relativo à agitação magnética isotérmica foi avaliado em relação à quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio (Q_e) em cinco concentrações iniciais, 5, 10, 15, 20 e 30 mg/L, a 30°C, respeitando a solubilidade máxima de 30 mg/L (CRAFT; SOARES, 1992). Os experimentos foram conduzidos por 300 minutos sob agitação de 150 RPM e a concentração na solução foi monitorada ao longo do tempo (em 0, 5, 15, 30, 60, 100, 200 e 300 minutos de adsorção) por um espectrofotômetro UV-*visível*.

Nos experimentos com shaker orbital as amostras de 25 ml de β -caroteno em etanol foram preparadas e transferidas para frascos âmbar com tampa contendo 0,5 g de resina adsorvente, conforme esquema na Figura 3. Os frascos foram removidos e submetidos a análise ao longo do tempo de adsorção. Esse procedimento foi repetido para todas as concentrações iniciais.

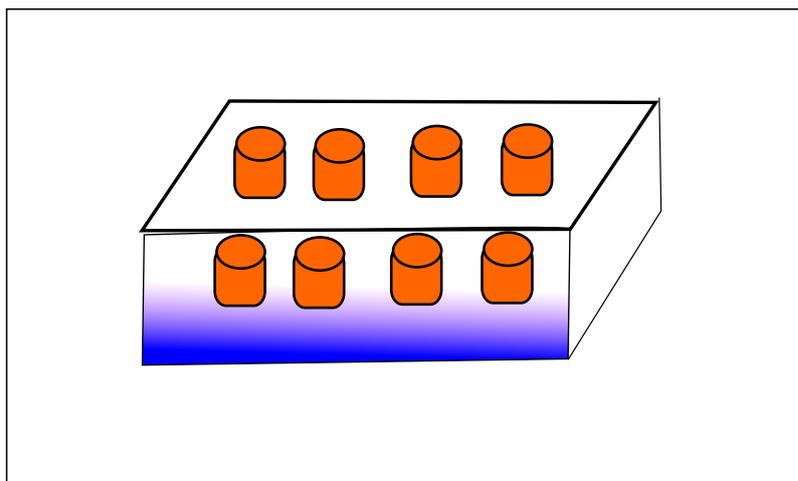


Figura 3 – Esquema de montagem para adsorção em batelada com agitação em shaker orbital.

A quantidade de β -caroteno adsorvido em HP-20 em um dado momento (Q_t), foi calculada usando a Equação 4.1 derivada de um tradicional balanço de massa através da

concentração medida na fase líquida (LI et al., 2013).

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t) \times V}{m} \quad (4.1)$$

Onde Q_t é quantidade de β -caroteno adsorvida no tempo t , C_0 é a concentração inicial do soluto na solução, C_t é a concentração do soluto na solução no tempo t , V é o volume de solução e m é a massa de adsorvente.

Os ensaios com agitador magnético foram realizados em Erlenmeyer de 250 mL contendo 0,5 g de resina adsorvente com 100 mL de β -caroteno em etanol, conforme esquema apresentado na Figura 4, em contato por 300 minutos. Diferente do primeiro caso, aqui a concentração do soluto foi monitorada através da remoção de alíquotas de volume fixo (α) ao longo do tempo de adsorção. Esses ensaios foram efetuados em condições de três diferentes temperaturas (30, 40 e 50°C) limitando à 50°C para evitar a destruição do β -caroteno (MUHAMMAD et al., 2010) e repetidos para todas as concentrações iniciais.

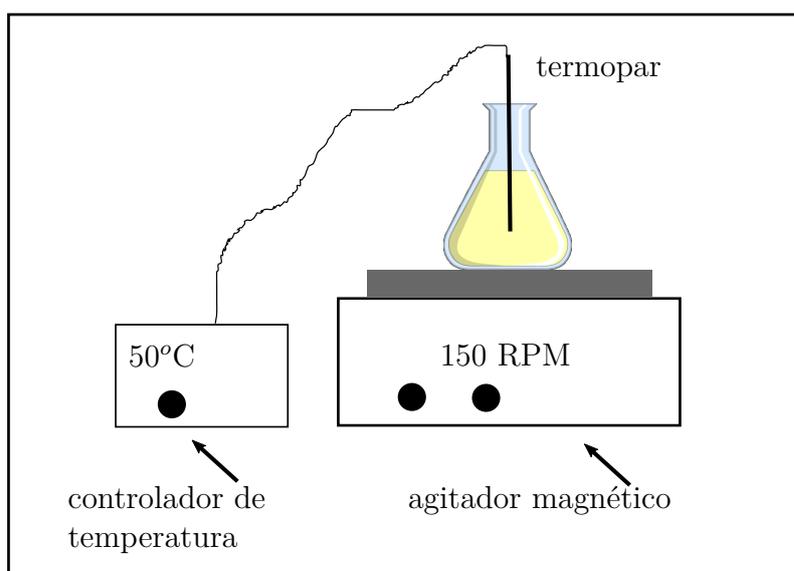


Figura 4 – Esquema de montagem para adsorção em batelada com agitação magnética.

Para determinação da cinética em processos de adsorção em batelada a tradicional equação de balanço de massa (Equação 4.1) tem sido usada. No entanto essa equação não é apropriada para modelagem de sistemas que usam amostragem com sucessivas retiradas de alíquotas, pois negligencia no cálculo do equilíbrio líquido/sólido a massa do adsorbato removida. Por isso foi usado um método de balanço de massa incremental (Equação 4.2) adequado para sistemas de adsorção com múltiplas remoções de alíquotas adaptando a equação de Li et al. (2013) (Equação 4.1) com as correções de volume a cada retirada de alíquota (conforme demonstração no Anexo A). Esse método é útil para

determinar a quantidade adsorvida ao longo do tempo (Q_t) partindo do monitoramento das concentrações durante a adsorção.

$$Q_t = \sum_{t=1}^n \frac{(C_{(t-1)} - C_t) \times [V - \alpha(t-1)]}{m} \quad (4.2)$$

A implementação computacional desse método é dada pelo Algoritmo 1. Esse algoritmo recebe como entrada os valores concentrações medidos durante a adsorção e, através do cálculo de balanço de massa incremental com o fator de correção do volume removido α , retorna a quantidade adsorvida em função do tempo (Q_t).

Algorithm 1 Balanço de massa incremental com múltiplas remoções

Require: C_t é um vetor de comprimento n , α é o volume da alíquota, m é a massa do adsorvente.

```

1: function ADSORBEDMASS( $C[t]$ ,  $V$ ,  $\alpha$ ,  $m$ )
2:    $n \leftarrow \text{length}(C[t])$ 
3:    $t \leftarrow 0$ 
4:    $\Delta Q[t] \leftarrow 0$ 
5:    $Q[t] \leftarrow 0$ 
6:   for  $t \leftarrow 1$  to  $n$  do
7:      $\Delta Q[t] \leftarrow \frac{(C[t-1] - C[t]) \times [V - \alpha(t-1)]}{m}$ 
8:      $Q[t] \leftarrow \Delta Q[t] + \Delta Q[t-1]$ 
9:   end for
10:  return  $Q[t]$ 
11: end function

```

Para o estudo de equilíbrio de adsorção foram usados os valores de Q_e estimados pelo modelo cinético de melhor ajuste, obtido com agitação magnética por 300 minutos, em função da concentração no equilíbrio (C_e), calculada pela Equação 4.3 (LIMOUSIN et al., 2007).

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{m} \quad (4.3)$$

Onde Q_e é quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio, C_0 é a concentração inicial do soluto na solução, C_e é a concentração do soluto na solução no equilíbrio, V é o volume de solução e m é a massa de adsorvente.

4.2.5 Validação da espectroscopia NIR no monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno em etanol

A validação da espectroscopia NIR no monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno em etanol foi feita em três etapas, calibração multivariada com PLS com

validação *leverage corrected* para seleção dos espectros e remoção de *outliers* (dados irregulares), validação cruzada com amostras de concentrações conhecidas para avaliação da capacidade de generalização do modelo e validação da metodologia no monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno com avaliação da capacidade de generalização e precisão do modelo.

Nas primeiras duas etapas foi comparada a capacidade de predição de três técnicas de análise (UV-VIS, HPLC e NIR) usando soluções de concentrações previamente conhecidas preparadas com β -caroteno padrão em etanol. Na última etapa foi validado o uso metodologia de espectroscopia NIR para monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno usando como UV-VIS e HPLC como referência.

4.2.6 Análise estatística

Alguns estudo que compararam metodologias de ajustes lineares e não lineares para os modelos de adsorção usando o coeficiente de determinação (R^2) demonstraram que metodologias não lineares obtém melhores resultados em relação aos métodos lineares (ARMAGAN; TOPRAK, 2013). Por esse motivo, neste estudo foi usado ajuste não-linear através do algoritmo de Levenberg-Marquardt (LEVENBERG, 1944; MARQUARDT, 1963) utilizando o software SciDavis (POSPĚCHOVÁ et al., 2015) v 1.D005 .

A abordagem de comparação da qualidade do ajuste por R^2 também tem sido usada para eleger modelos candidatos ao ajuste de dados experimentais de cinética e de equilíbrio de adsorção. No entanto, essa abordagem não considera o número de parâmetros do modelo e, portanto, sempre são selecionados modelos com maior número de parâmetros. Além disso, para comparar modelos é necessário usar uma abordagem estatística que leve em consideração o seu número de parâmetros e não apenas a soma dos mínimos quadrados (TURNER et al., 2014).

Nesse contexto, os métodos Akaike Information Criterion (AIC) e Bayesian Information Criterion (BIC) , baseados na teoria da informação, são bastante adequados e trazem as resposta de quanto e qual modelo é mais provável para explicação dos dados (BURNHAM; ANDERSON, 2004; HURVICH; TSAI, 1989; NEATH; CAVANAUGH, 2012; TURNER et al., 2014). Por isso, este trabalho usou tais critérios para comparação e seleção dos modelos de cinética e de equilíbrio de adsorção.

Em problemas de seleção de modelos, o modelo escolhido como melhor é identificado pelo valor mínimo do critério de informação (Equação 4.4 ou Equação 4.5) ou pela mínima diferença do valor de critério de informação para o modelo com relação ao valor de critério de informação do melhor modelo candidato, calculada pela Equação 4.6 e pela Equação 4.7, quando $\Delta_i IC = 0$ representa que o i -ésimo modelo é o melhor dentre o conjunto candidato. O modelo selecionado em um conjunto candidato é o modelo mais parcimonioso que

está mais próximo do verdadeiro modelo, tal como medido pelo critério de informação (BURNHAM; ANDERSON, 2004; HURVICH; TSAI, 1989; NEATH; CAVANAUGH, 2012; TURNER et al., 2014).

$$AIC = N \cdot \ln\left(\frac{RSS}{N}\right) + 2(p + 1) \quad (4.4)$$

$$BIC = N \cdot \ln\left(\frac{RSS}{N}\right) + (p + 1) \ln(N) \quad (4.5)$$

$$\Delta AIC_i = AIC_i - AIC_{min} \quad (4.6)$$

$$\Delta BIC_i = BIC_i - BIC_{min} \quad (4.7)$$

$$RSS = \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (4.8)$$

Ainda é possível escolher o melhor modelo considerando aquele de maior probabilidade (Pr_i) (BURNHAM; ANDERSON, 2004; HURVICH; TSAI, 1989; NEATH; CAVANAUGH, 2012):

$$Pr_i = \frac{e^{-0.5 \cdot \Delta_i IC}}{1 + e^{-0.5 \cdot \Delta_i IC}} \quad (4.9)$$

A força da evidência em favor de um modelo em detrimento de outro é então obtida pela taxa de evidência (E_R) (BURNHAM; ANDERSON, 2004; HURVICH; TSAI, 1989; NEATH; CAVANAUGH, 2012; TURNER et al., 2014):

$$E_R = \frac{1}{e^{-0.5 \cdot \Delta_i IC}} \quad (4.10)$$

A análise de variância (Anova) de duplo fator sem repetição foi utilizada para avaliar a significância dos efeitos de alguns fatores sobre o processo de adsorção (MILLER; MILLER, 1988).

5 Resultados

5.1 Efeito do tipo de agitação sobre a adsorção

As concentrações iniciais de adsorbato fornecem uma importante função para superar toda a resistência de transferência de massa entre as fases aquosa e sólida. A adsorção de β -caroteno a diferentes concentrações iniciais em HP-20 é mostrado na Figura 5. Observou-se que o aumento da concentração inicial de adsorbato aumentou significativamente ($p < 0,02$ e $F > F_{crítico}$) a quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores para β -caroteno em diferentes adsorventes, como isopropanol e n-hexano (AHMAD et al., 2008; AHMAD et al., 2009a; AHMAD et al., 2009b; AHMAD et al., 2009c; MUHAMMAD et al., 2010; DAMAYANTI et al., 2014; CHAN et al., 2000; LATIP et al., 2000).

A Figura 5 apresenta os efeitos da concentração inicial em solução e do tipo de agitação sobre a quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio. Foi observado que a capacidade de adsorção é fortemente favorecida pelo aumento da concentração inicial de β -caroteno e pelo processo de agitação magnética. No entanto, em termos percentuais (Tabela 2), a agitação em shaker orbital recuperou mais β -caroteno que a agitação magnética.

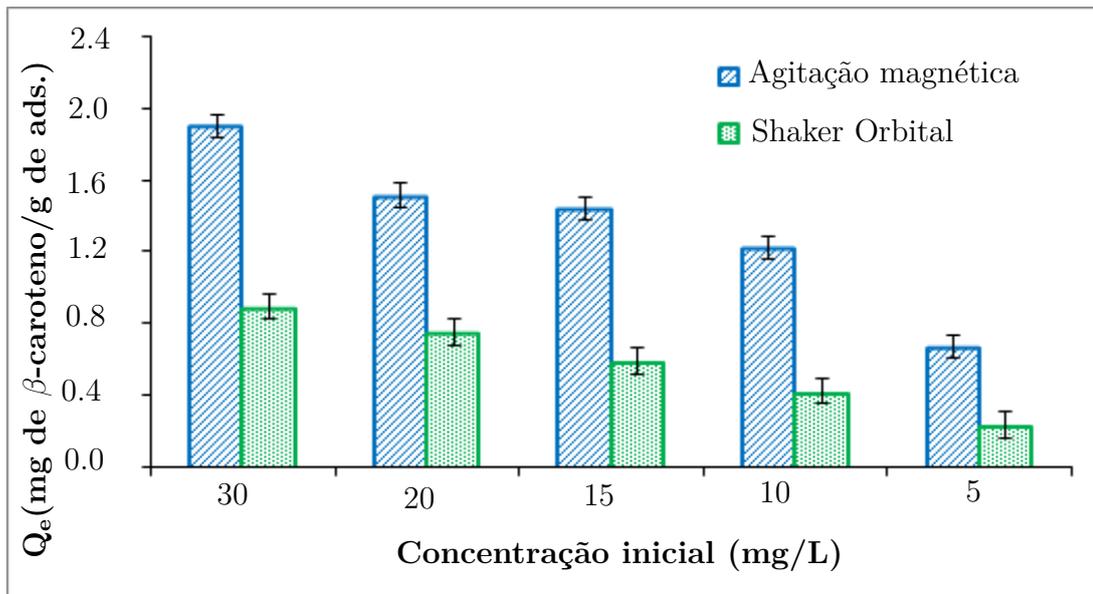


Figura 5 – Efeito do tipo de agitação e C_0 sobre Q_e a 30°C . Sob agitação por 300 min. à 150 RPM.

Os resultados experimentais demonstram que a agitação magnética favorece a cinética de adsorção significativamente ($p < 0,01$ e $F > F_{crítico}$), aumentando a quanti-

Tabela 2 – Comparação do percentual de β -caroteno adsorvido em dois métodos de adsorção à 30°C. Sob agitação por 300 min. à 150 RPM.

Conc. inicial (mg/L)	Agitação Magnética	Shaker
30	31,7%	59,7%
20	37,9%	74,7%
15	48,1%	78,7%
10	60,9%	84,2%
5	66,8%	92,0%

dade adsorvida no equilíbrio sobre o HP-20. Esse fator foi relatado também nos estudos de Kuśmierk e Świątkowski (2015), quando verificou melhores resultados da agitação magnética em relação ao shaker orbital na adsorção de 4-clorofenol em carvão ativado.

Logo, o incremento da concentração inicial e o uso da agitação magnética aumentaram significativamente a quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio (Q_e).

Além disso, é importante destacar que foi observado um desvio padrão em relação a Q_e de 0,065 para a agitação magnética e de 0,072 para agitação com shaker orbital. Sugerindo, então, que a agitação magnética é mais homogênea e origina réplicas com menores variações.

Tabela 3 – Análise de variância para concentração inicial e tipos de agitação para adsorção à 30°C

Fator	F	valor-p	$F_{crítico}$
C_0	11.5956	0.0179	6.3882
Tipos de agitação	68.3677	0.0012	7,7086

5.2 Cinética de adsorção

Estudos cinéticos de adsorção foram realizados com soluções em várias concentrações iniciais de β -caroteno nos quais a concentração de soluto (mg/L) foi monitorada em função do tempo. As Figuras 6, 7 e 8 ilustram o decaimento da concentração.

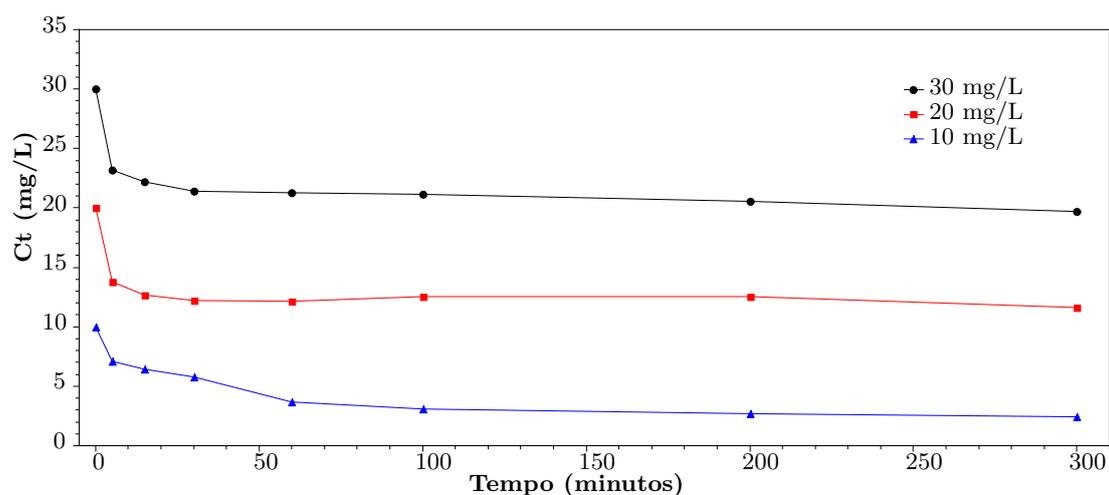


Figura 6 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 30°C em agitação magnética.

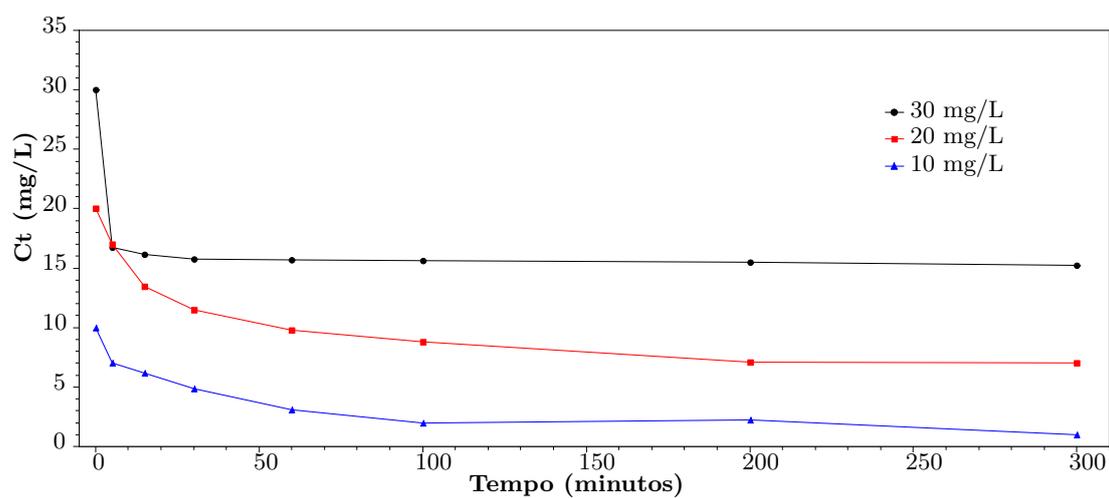


Figura 7 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 40°C em agitação magnética.

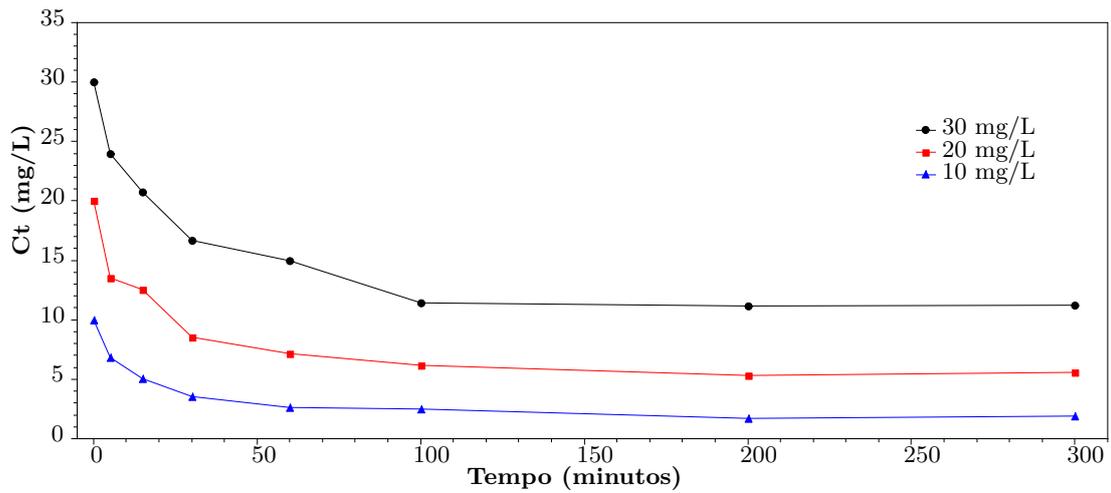


Figura 8 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 50°C em agitação magnética.

Duas equações matemáticas comumente utilizadas em modelagem cinética de adsorção de β -caroteno, pseudoprimeira ordem (Equação 3.9) e pseudo-segunda ordem (Equação 3.11), foram utilizados para ajustar os dados cinéticos. Além desses, este estudo considerou dois novos modelos nunca antes usados na modelagem de adsorção de carotenoides, Hill 4 (Equação 3.13) e Hill 5 (Equação 3.13).

Foi observado que a capacidade de adsorção é significativamente favorecida ($p < 0,02$ e $F > F_{crítico}$) (ver Tabela 4) pelo aumento da temperatura e pelo aumento da concentração inicial de β -caroteno.

Tabela 4 – Análise de variância para o efeito da temperatura e concentração inicial sobre Q_e para adsorção em agitação magnética por 300 min. à 150 RPM.

Fator	F	valor-p	$F_{crítico}$
Temperatura	7.6623	0.0139	4.4590
C_0	16.9274	0.0006	3.8379

Os dados mostrados na Tabela 5 foram utilizados para avaliar a qualidade do ajuste de cada modelo cinético e estabelecer um rank entre eles através do critério de informação AIC e BIC. Para cada caso o menor valor de ΔBIC e ΔAIC sinaliza o melhor modelo.

Em doze dos quinze experimentos, cada critério de informação classificou os modelos Hill 5, Hill 4, PSO e PPO, em ordem decrescente de qualidade de ajuste. No entanto, na concentração de 20 e 15 mg/L a 30°C o modelo de pseudosegunda ordem e 30 mg/L a 40°C o modelo Hill 4 apresentaram menores valores de ΔBIC e ΔAIC .

Conseqüentemente, o modelo de Hill 5 é o melhor modelo para ajustar os dados cinéticos da adsorção de β -caroteno em etanol com resina polimérica HP-20 nas condições apresentadas.

A maior capacidade de adsorção no equilíbrio estimada pelo modelo Hill 5 foi de 3,170 mg g⁻¹ a 50°C com concentração inicial de 30 mg L⁻¹. Nessa condição, conforme Tabela 6, o modelo Hill 5 tem maior probabilidade (50%) de estar correto que os demais, o que significa que existe cerca de 14 vezes mais chances de ser correto do que o modelo de pseudosegunda ordem (ER AIC = 13.64 e ER BIC = 14.40), tradicionalmente usado para modelagem cinética de adsorção de carotenoides.

Tabela 6 – Avaliação dos modelos cinéticos de adsorção* à 50°C em agitação magnética.

Modelo	RSS	N	Pars	AIC	ΔAIC	ER AIC	Pr AIC	BIC	ΔBIC	ER BIC	Pr BIC
PPO	1.649	7	2	-4.12	22.95	96147.47	0.00%	-4.28	23.06	101491.29	0.00%
PSO	0.131	7	2	-21.84	5.23	13.64	6.83%	-22.00	5.33	14.40	6.49%
Hill 4	0.092	7	3	-22.29	4.78	10.89	8.41%	-22.51	4.83	11.19	8.20%
Hill 5	0.035	7	4	-27.07	0	1.00	50.00%	-27.34	0.00	1.00	50.00%

* Concentração inicial de β -caroteno: 30 mg L⁻¹

As curvas cinéticas de adsorção de β -caroteno em resina polimérica HP-20 nas Figuras 9, 10 e 11 ilustraram o ajuste do modelo Hill 5. As curvas referentes a todas as concentrações iniciais pode ser vista no Anexo B. Nota-se que a capacidade de adsorção de β -caroteno aumentou com o aumento do tempo de adsorção. Moléculas de β -caroteno foram rapidamente adsorvidas nos 60 minutos iniciais, e em seguida um acréscimo lento da taxa de adsorção foi observado até os 100 minutos, quando o sistema estabiliza.

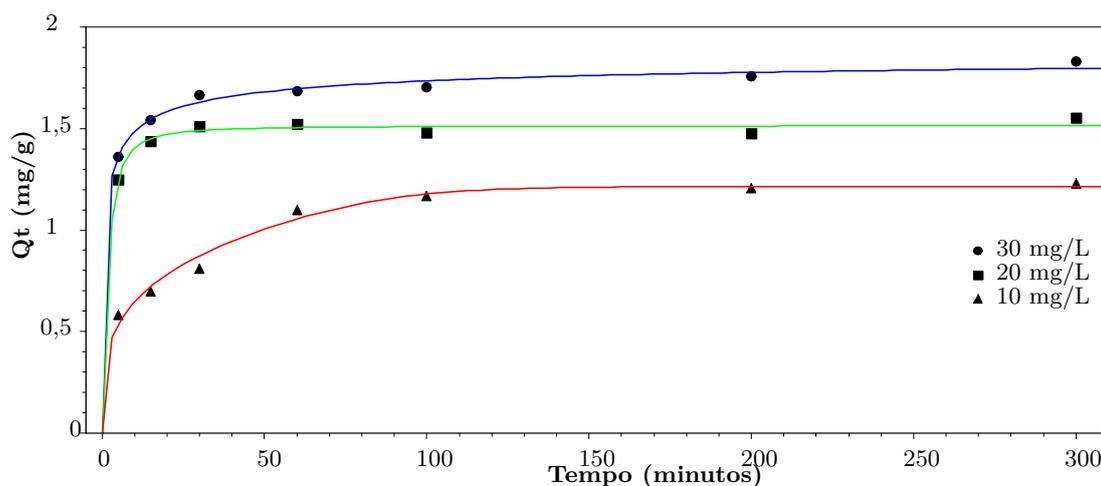


Figura 9 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C.

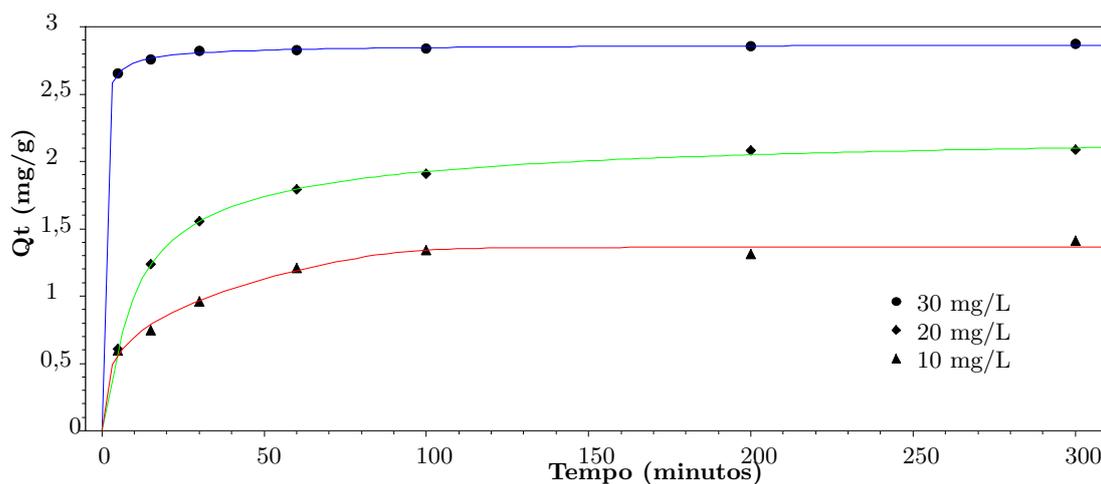


Figura 10 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C.

À 30°C (Figura 9) a adsorção com 30 mg/L e 20 mg/L de concentração inicial atingiu o equilíbrio em aproximadamente 40 minutos, enquanto à 10 mg/L de concentração inicial esse estado foi alcançado em 100 minutos.

À 40°C (Figura 10) a adsorção com 30 mg/L de concentração inicial atingiu o equilíbrio em aproximadamente 30 minutos, enquanto à 10 mg/L e 20 mg/L de concentração inicial esse estado foi alcançado em 100 minutos. Após esse tempo não houve aumento significativo na quantidade de β -caroteno adsorvida (Q_t).

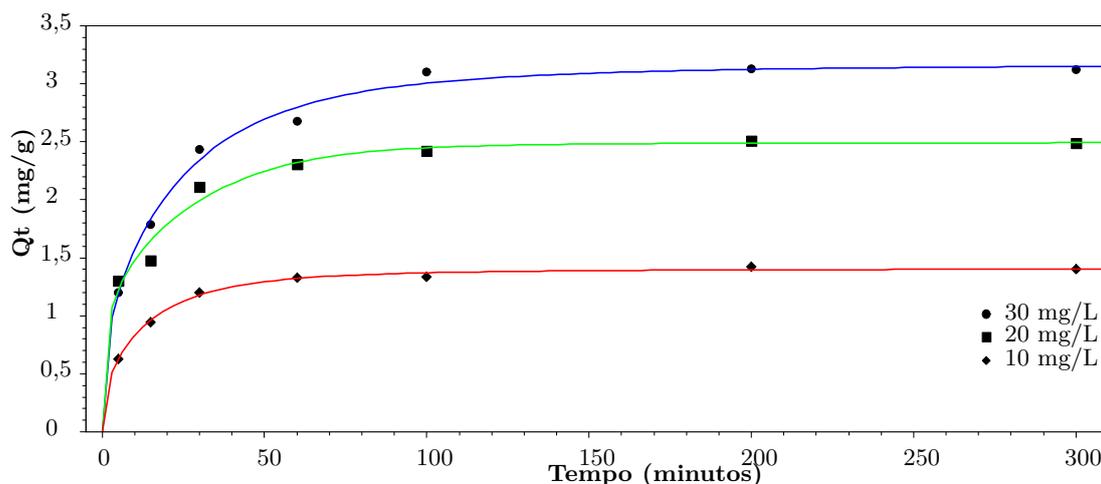


Figura 11 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C.

À 50°C (Figura 11) a adsorção com 30 mg/L, 20 mg/L e 10 mg/L de concentração inicial atingiu o equilíbrio em aproximadamente 100 minutos. No entanto apresentou a maior quantidade de β -caroteno adsorvida em relação aos experimentos à 30 e 40°C. Nas três temperaturas estudadas não houve aumento significativo na quantidade de β -caroteno adsorvida (Q_t) após esse tempo.

O ajuste entre os valores experimentais e preditos pelo modelo Hill 4 para as temperaturas de 30, 40 e 50°C estão apresentados nas Figuras 12, 13 e 14, respectivamente.

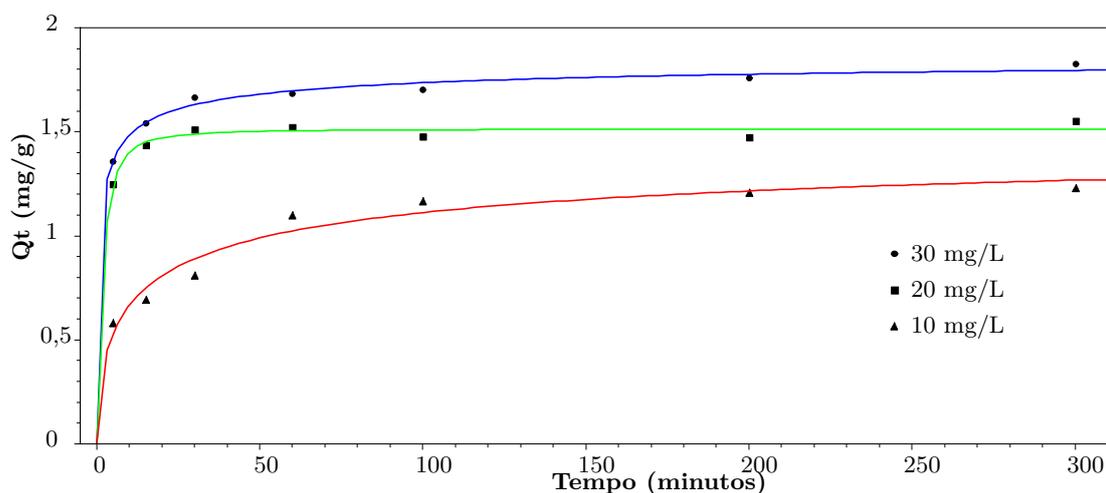


Figura 12 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C.

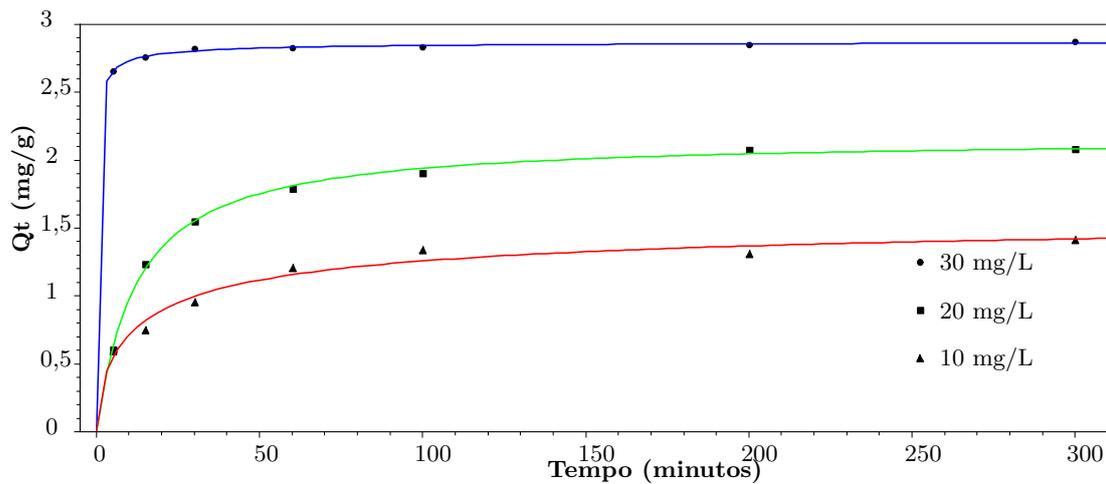


Figura 13 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C.

O modelo cinético Hill 4 apresentou melhor ajuste, segundo o critério de informação bayesiana (BIC), em apenas um experimento, a adsorção à 40°C com concentração inicial de 30 mg/L (Figura 13). No entanto ele apresentou o segundo melhor ajuste em dez experimentos (Tabela 5), seguindo o mesmo critério.

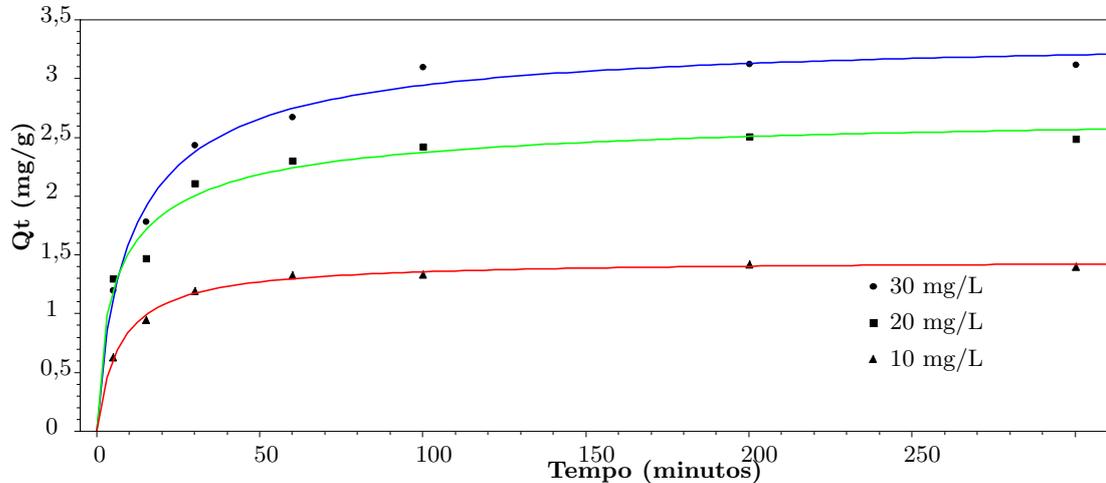


Figura 14 – Modelo cinético Hill 4 e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C.

Nas Figuras 15, 16 e 17 são apresentados o ajuste dos dados experimentais ao modelo de pseudo-segunda ordem em 30, 40 e 50°C, respectivamente.

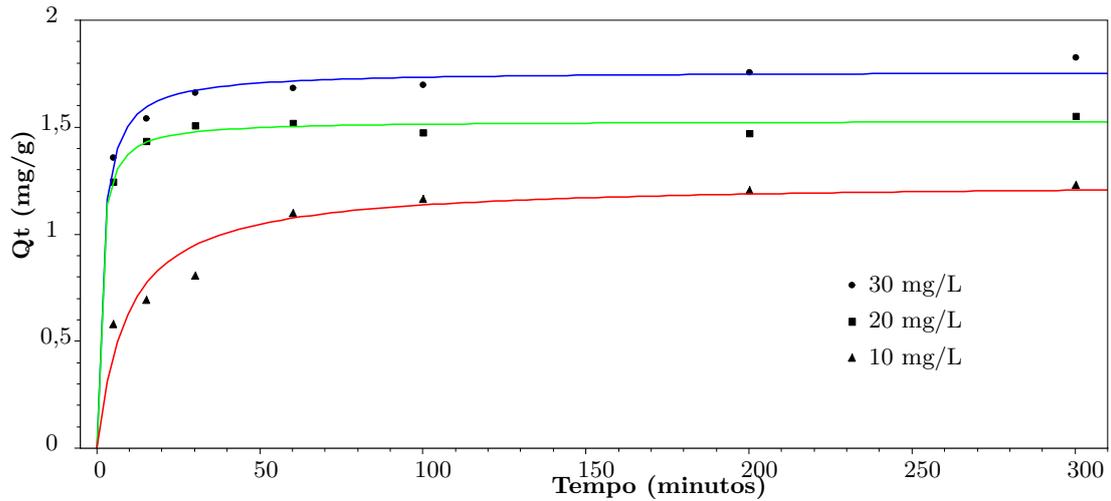


Figura 15 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C.

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem (Figura 15) apresentou melhor ajuste, segundo o critério de informação bayesiana (BIC), para adsorção à 30°C com concentração inicial de 20 e de 15 mg/L. No entanto, segundo o mesmo critério, esse modelo não ajustou os outros dados experimentais com boa propriedade.

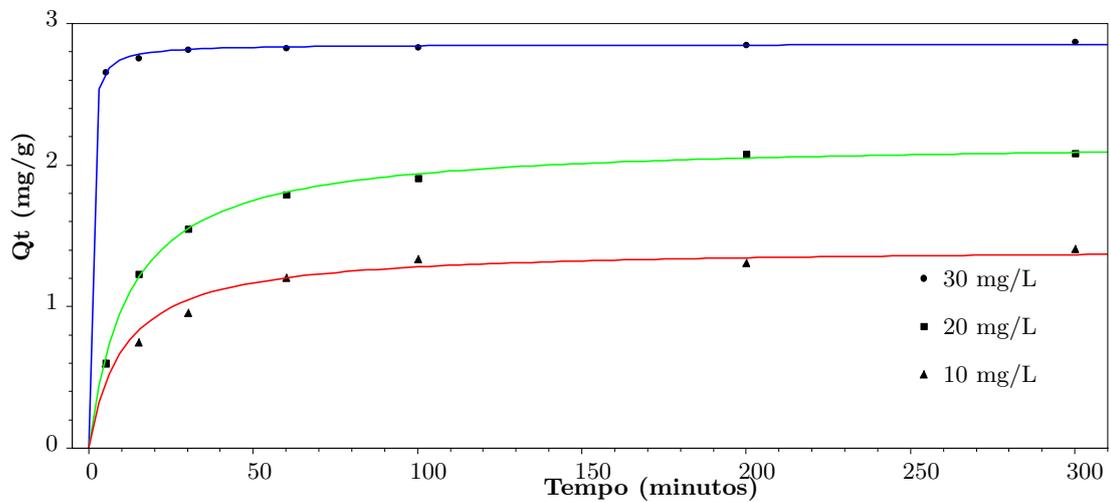


Figura 16 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C.

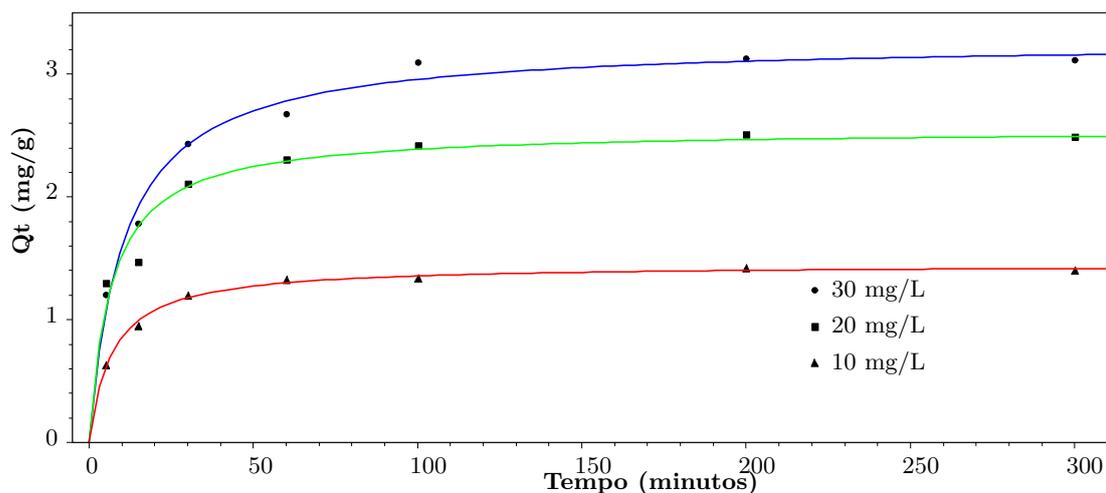


Figura 17 – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C.

Apesar de que o modelo de pseudoprimeira ordem tenha apresentado o pior ajuste (de acordo com o critério de informação bayesiana apresentado na Tabela 5), as Figuras 18, 19 e 20 foram construídas com o objetivo de ilustrar que esse modelo, comparando-o aos outros três citados, apresentou maiores desvios de predição dos dados experimentais em relação ao modelo teórico nas três temperaturas, pois inclusive graficamente é possível visualizar a maior dispersão dos pontos experimentais ao modelo ajustado.

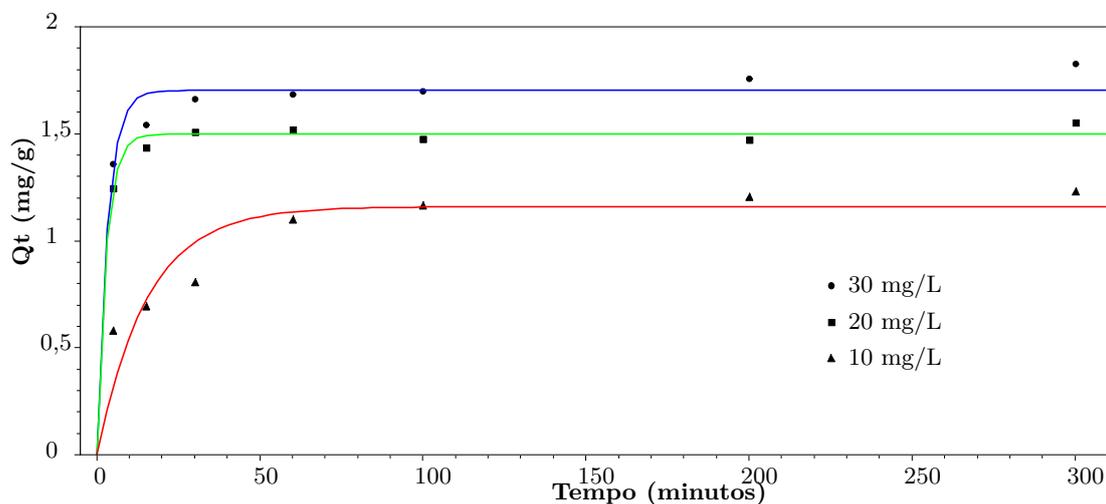


Figura 18 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 30°C.

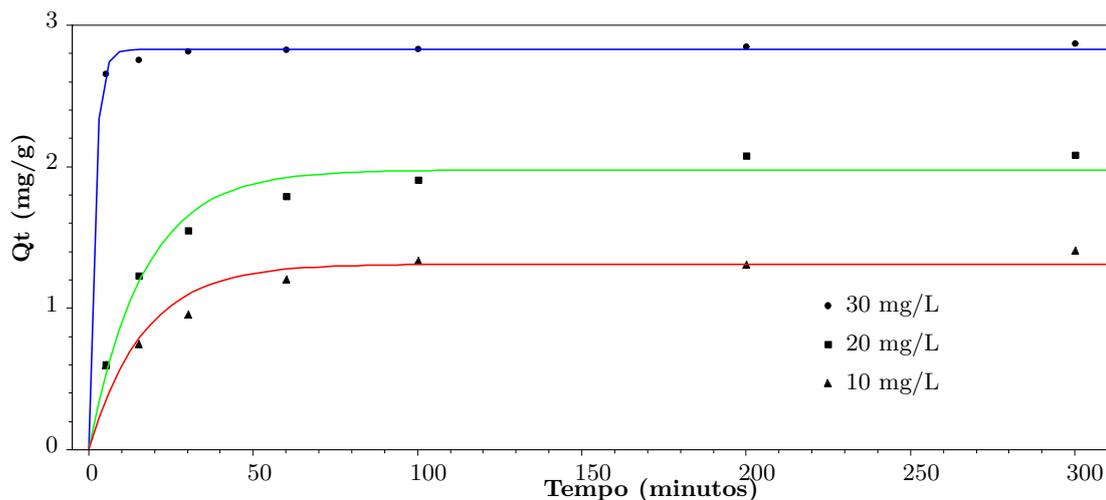


Figura 19 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 40°C.

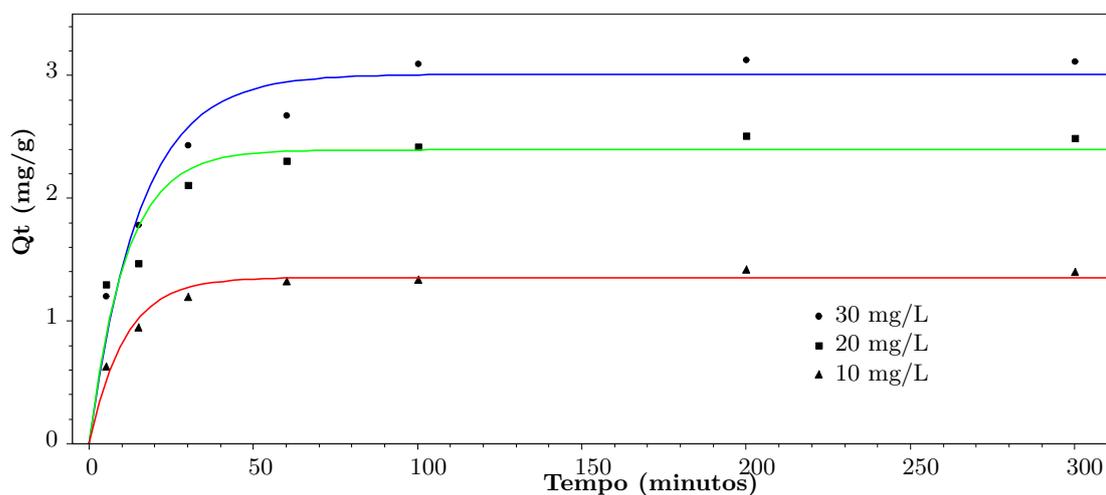


Figura 20 – Modelo cinético de pseudoprimeira ordem e dados experimentais obtidos com agitação magnética à 50°C.

5.3 Equilíbrio de adsorção

Para avaliar o comportamento de equilíbrio quatro isotermas de equilíbrio de adsorção de β -caroteno por HP-20 foram estudadas utilizando concentrações iniciais (C_0) de 5, 10, 15, 20 e 30 mg/L em 30, 40, e 50°C. Os dados de equilíbrio de adsorção em agitação magnética foram obtidos pelo modelo cinético de melhor ajuste através dos valores de Q_e apresentados na Tabela 5, em função da concentração no equilíbrio (C_e), calculada pela Equação 4.3.

Os dados experimentais foram ajustados às isotermas de Langmuir (Equação 3.15), de Freundlich (Equação 3.19), de Temkin (Equação 3.21) e de Redlich-Peterson (Equação 3.23) (FOO; HAMEED, 2010).

Uma avaliação do ajuste das quatro isotermas foi feita e apresentada na Tabela 7, juntamente com os parâmetros que ajustaram os dados experimentais aos modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin e Redlich-Peterson, seus respectivos coeficientes de correlação e critérios de informação.

Tabela 7 – Parâmetros das isotermas de adsorção de β -caroteno em HP-20 obtidos usando ajuste não linear.

	C_0	30°C	40°C	50°C
Freundlich				
K_F		0,747	0,804	0,939
n		3,466	2,188	2,086
R^2		0,928	0,993	0,990
AIC		-17,399	-22,521	-18,944
BIC		-18,571	-23,692	-20,115
ΔBIC		4,856	0,000	0,000
Temkin				
b	6624,000	3529,100	3378,000	
K_T	5,006	2,365	3,202	
R^2	0,965	0,967	0,924	
AIC	-21,018	-14,711	-8,640	
BIC	-22,190	-15,883	-9,812	
ΔBIC	1,237	7,810	10,303	
Langmuir				
$K_L(\text{L g}^{-1})$		0,412	0,203	0,179
$Q_m(\text{mg g}^{-1})$		1,900	3,550	4,494
R^2		0,973	0,966	0,967
AIC		-22,255	-13,792	-10,803
BIC		-23,426	-14,963	-11,975
ΔBIC		0,000	8,729	8,140
Redlich-Peterson				
a	0,541	7,975	2299,000	
$K_R(\text{L g}^{-1})$	0,887	7,080	2160,000	
g	0,952	0,571	0,521	
R^2	0,974	0,993	0,990	
AIC	-20,548	-20,659	-16,942	
BIC	-22,110	-22,221	-18,504	
ΔBIC	1,316	1,471	1,612	

Segundo o critério de informação Bayesiana, em duas das três temperaturas estudadas (40 e 50°C) a isoterma de Freundlich foi mais adequada para explicar os dados experimentais (BIC mais negativo), seguida de Redilch-Peterson, de Langmuir e de Temkin. Os parâmetros da isoterma de Freundlich previstos matematicamente ($1 < n < 10$) sugerem a favorabilidade da adsorção, a heterogeneidade na superfície da resina adsorvente HP-20 e distribuição exponencial dos sítios ativos e suas energias de ligação, que é geralmente uma indicação, mais não uma prova, que adsorção ocorreu em multicamadas na superfície do adsorvente (KRALCHEVSKY; DANOV; DENKOV, 2009; SAADI et al., 2015).

No entanto, à 30°C a isoterma de Langmuir apresentou BIC mais negativo e, portanto, foi mais adequada para explicar os dados experimentais nessa temperatura, seguida de Redilch-Peterson, de Freundlich e, em seguida, da isoterma de Temkin (BIC menos negativo). Sugerindo que nessa temperatura a adsorção ocorreu em monocamada

sobre a superfície homogênea da resina adsorvente HP-20 com distribuição uniforme de energia (SAADI et al., 2015).

O aumento da capacidade de adsorção foi observado com o incremento da temperatura. Tanto a constante de Freundlich K_F quanto a constante de Langmuir Q_m aumentam com o incremento de temperatura, sugerindo que a adsorção foi endotérmica.

Seguindo o critério de informação de Akaike, foi encontrado uma classificação na qualidade de ajuste igual aquela encontrada pelo critério Bayesiano. De fato o BIC tende selecionar o modelo verdadeiro no conjunto de candidatos quando o número de observações cresce, ao contrário do AIC que seleciona o modelo, dentre esse conjunto, que descreve de forma mais adequada os dados experimentais. Mas para seleção entre modelos com pequeno número de amostras ambos trazem resultados semelhantes e podem ser usados com muita propriedade (HURVICH; TSAI, 1989).

Além disso, foi avaliado o quanto o modelo selecionado é mais provável e qual a força dessa evidência em relação aos demais (BURNHAM; ANDERSON, 2004; HURVICH; TSAI, 1989; NEATH; CAVANAUGH, 2012; TURNER et al., 2014). As Tabelas 8, 9 e 10 mostram a probabilidade, o valor nominal do critério de informação (ΔAIC e ΔBIC) e a taxa de evidência para aceitação do modelo.

Tabela 8 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 30°C por 300 min. em agitação magnética.

Modelo	RSS	N	p	ΔAIC	ER AIC	Pr AIC	ΔBIC	ER BIC	Pr BIC
Freundlich	0,046	5	2	4,856	11,335	8,1%	4,856	11,335	8,1%
Redlich–Peterson	0,017	5	3	1,707	2,347	29,9%	1,316	1,931	34,1%
Langmuir	0,018	5	2	0,000	1,000	50,0%	0,000	1,000	50,0%
Temkin	0,023	5	2	1,237	1,856	35,0%	1,237	1,856	35,0%

Tabela 9 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 40°C por 300 min. em agitação magnética.

Modelo	RSS	N	p	ΔAIC	ER AIC	Pr AIC	ΔBIC	ER BIC	Pr BIC
Freundlich	0,017	5	2	0,000	1,000	50,0%	0,000	1,000	50,0%
Redlich–Peterson	0,016	5	3	1,862	2,537	28,3%	1,471	2,087	32,4%
Langmuir	0,095	5	2	8,729	78,613	1,3%	8,729	78,613	1,3%
Temkin	0,079	5	2	7,810	49,642	2,0%	7,810	49,642	2,0%

Assim, nos experimentos executados à 40 e 50°C, o modelo de Freundlich tem maior probabilidade ($P_r AIC$ e $P_r BIC = 50\%$) de está correto que os demais com muito forte evidência ($\Delta BIC > 10$), e existe 236 ou mais vezes chances de ser correto do que os modelos de Temkin e de Langmuir ($E_R AIC$ e $E_R BIC$) (NEATH; CAVANAUGH, 2012).

Porém, nos experimentos executados à 30°C, o modelo de Langmuir tem maior probabilidade ($P_r AIC$ e $P_r BIC = 50\%$) de está correto, com uma forte evidência ($2 < \Delta BIC < 6$) em relação ao modelo de Freundlich (NEATH; CAVANAUGH, 2012).

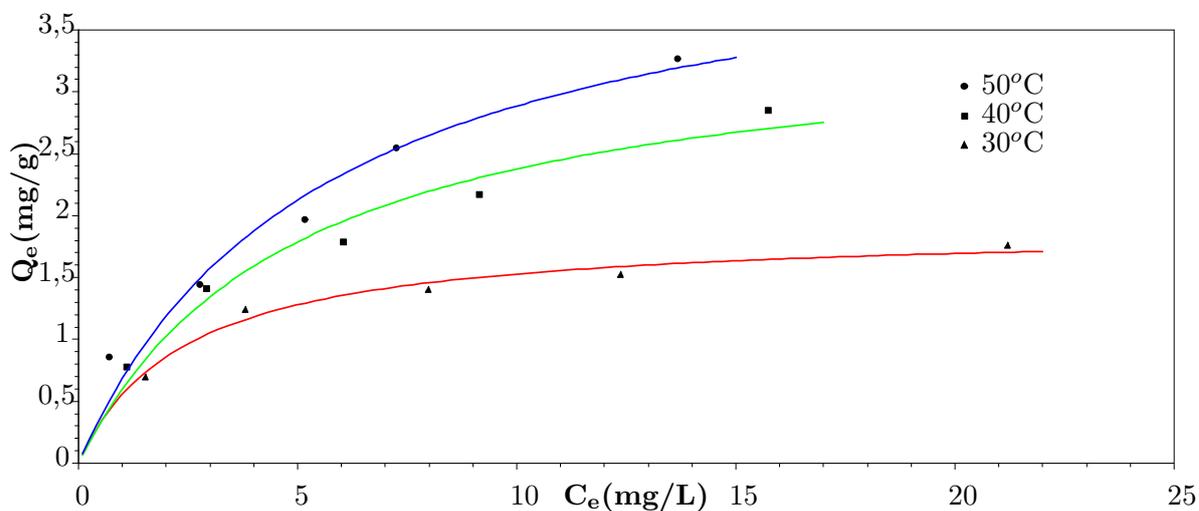
Tabela 10 – Avaliação dos modelos de equilíbrio de adsorção de β -caroteno em HP-20 à 50°C por 300 min. em agitação magnética.

Modelo	RSS	N	p	Δ AIC	ER AIC	Pr AIC	Δ BIC	ER BIC	Pr BIC
Freundlich	0,034	5	2	0,000	1,000	50,0%	0,000	1,000	50,0%
Redlich–Peterson	0,034	5	3	2,002	2,721	26,9%	1,612	2,238	30,9%
Langmuir	0,174	5	2	8,140	58,565	1,7%	8,140	58,565	1,7%
Temkin	0,268	5	2	10,303	172,720	0,6%	10,303	172,720	0,6%

Consequentemente, o modelo de Freundlich foi assumido como o melhor modelo para ajustar os dados de equilíbrio da adsorção de β -caroteno em etanol com resina polimérica HP-20 nas condições apresentadas, pois esse é mais provável que seja o correto.

Nas Figuras 22 a 23, pode ser observado que um aumento de temperatura incrementa a capacidade de adsorção. Sugerindo, portanto, que a adsorção de β -caroteno por HP-20 é um processo endotérmico e que o incremento dessa capacidade está associado ao alargamento dos poros e/ou à ativação da superfície do adsorvente.

Os coeficientes R^2 do modelo de Freundlich em 30 e 40°C apresentaram valores próximos à unidade, explicando pelo menos 99% dos dados experimentais em estudo encontram-se em torno da previsão teórica e menos de 1% destes atribui-se aos erros experimentais.

Figura 21 – Isoterma de Langmuir para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.

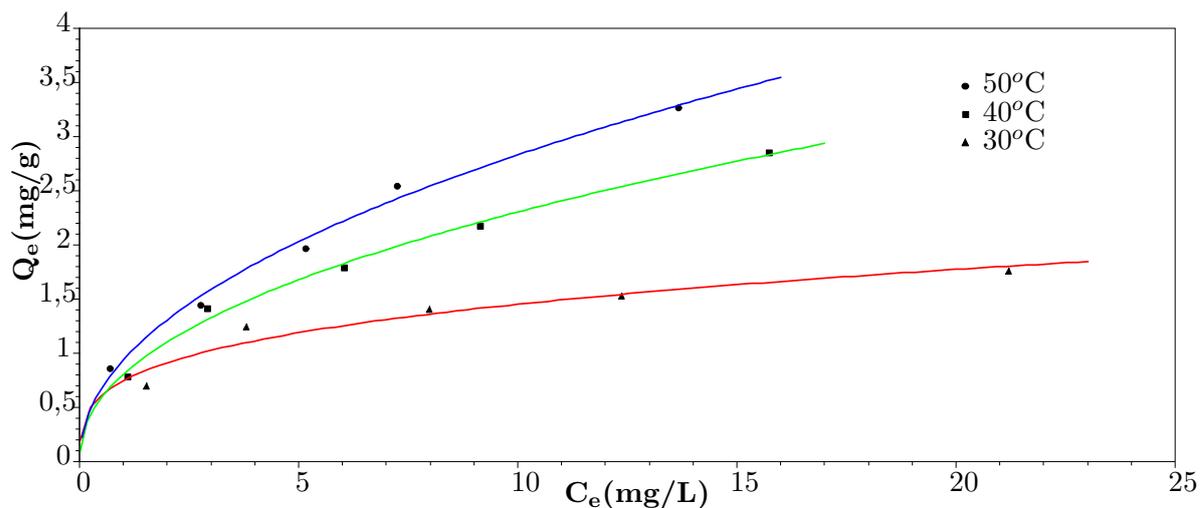


Figura 22 – Isoterma de Freundlich para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.

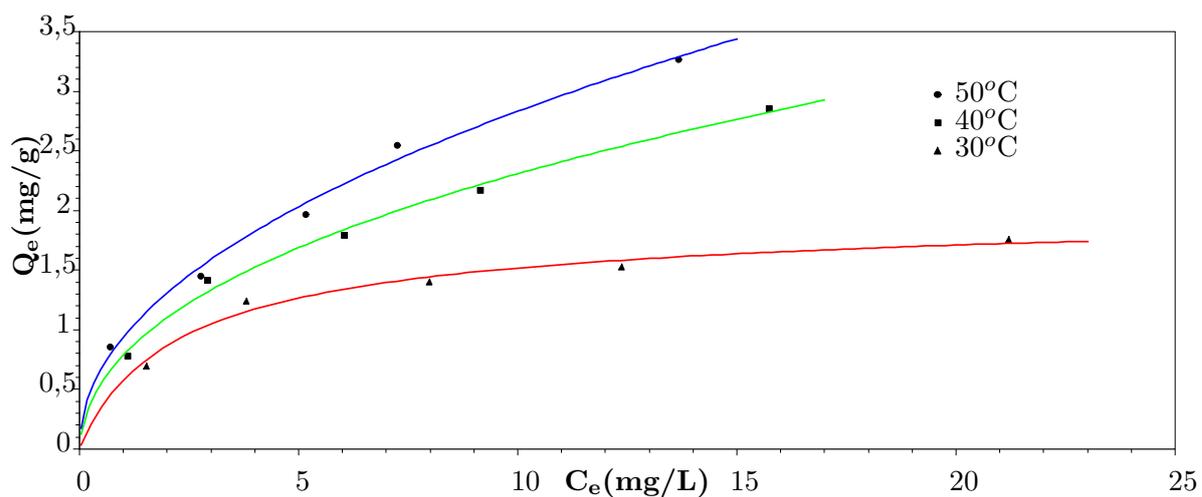


Figura 23 – Isoterma de Redlich-Peterson para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.

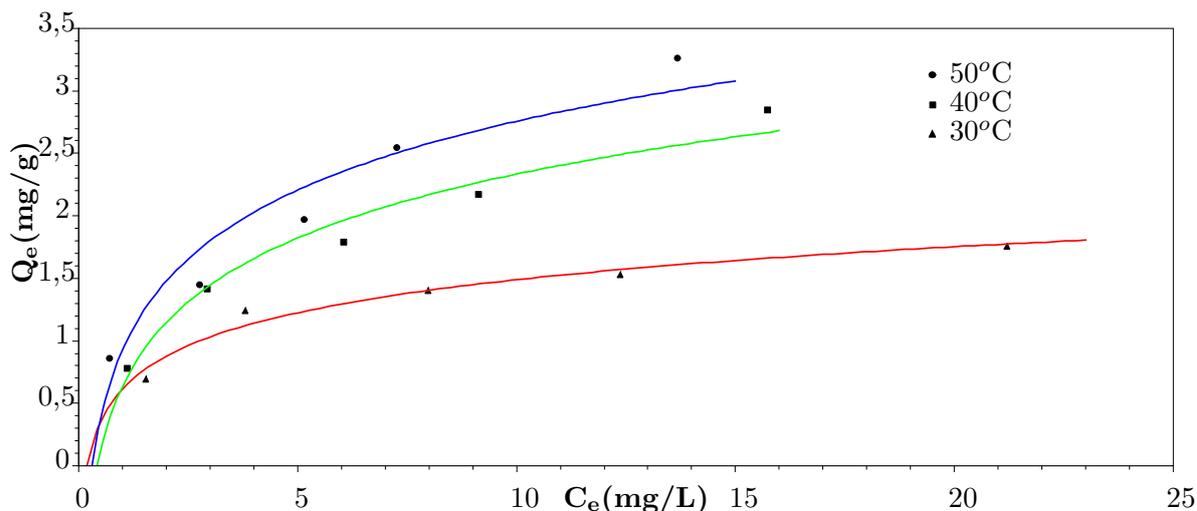


Figura 24 – Isoterma de Temkin para adsorção de β -caroteno em HP-20 em diferentes temperaturas. Solvente etanol. Sob agitação magnética por 300 min.

5.4 Avaliação termodinâmica

Para estimar o efeito da temperatura sobre o processo de adsorção os parâmetros termodinâmicos, energia livre Gibbs ΔG_{Ads}^o , entalpia ΔH_{Ads}^o e entropia ΔS_{Ads}^o do processo de adsorção foram calculados usando a Equação 3.24 e a Equação 3.25.

O valor para a constante de equilíbrio termodinâmico K_D (L/mol) foi calculado fazendo o ajuste linear de (Q_e/C_e) versus Q_e , sendo a inclinação da reta igual a $-K_D$ (SHU et al., 2015). A entalpia e entropia foram calculadas pela interceptação e inclinação da equação de van't Hoff (Equação 3.25) fazendo o ajuste linear de ΔG_{Ads}^o versus T .

O valor negativo da variação de energia livre de Gibbs e seu decréscimo com o incremento da temperatura observado na Figura 25 sugere que a adsorção foi um processo espontâneo. Os valores de ΔG_{Ads}^o foram obtidos na faixa de -13.883 a -17.549 kJ/mol. Assim, esse processo pode ser explicado por adsorção física dirigida por interações eletrostáticas entre os sítios ativos do adsorvente HP-20 e as moléculas de β -caroteno. Molecularmente isso pode ser atribuído às interações $\pi - \pi$ de elétrons doadores/receptores na superfície da resina polimérica HP-20 (Figura 26). O β -caroteno tem ligações duplas C=C que contém elétrons π . Esses elétrons π podem facilmente interagir com os elétrons π dos anéis aromáticos na superfície do adsorvente através do acoplamento desses elétrons (LI et al., 2013; LIBBRECHT et al., 2015; WU et al., 2011).

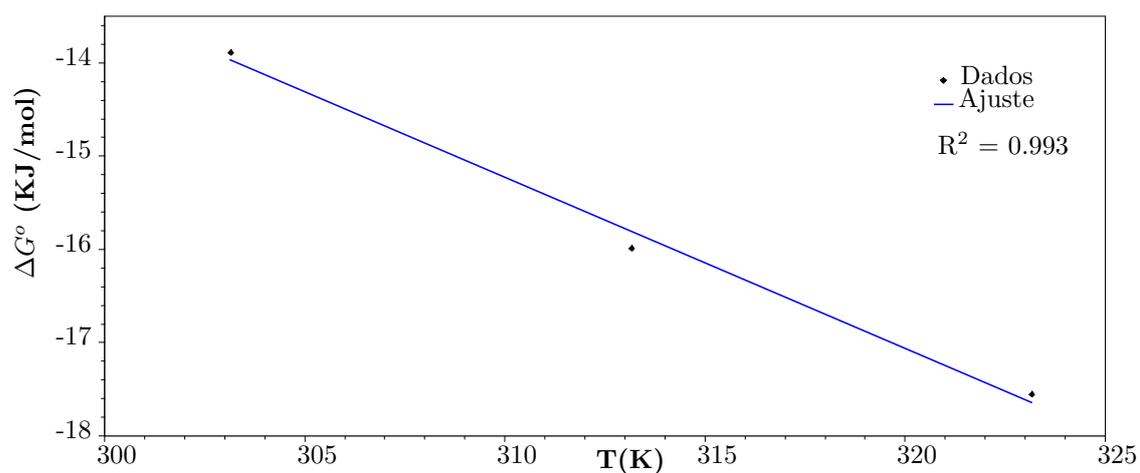


Figura 25 – Variação de energia livre de Gibbs, ΔG°_{Ads} , versus temperatura, T , na adsorção de β -caroteno em resina HP-20 com agitação magnética.

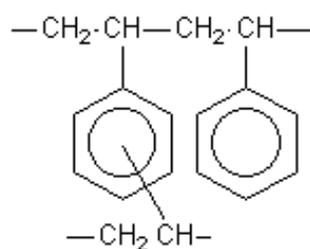


Figura 26 – Sítio ativo da resina polimérica HP-20.

Em altas temperaturas, a adsorção das moléculas de β -caroteno em etanol foi mais favorável. Esse efeito também foi observado com a máxima capacidade de adsorção teórica de Langmuir (Q_m), que foi incrementada pelo aumento da temperatura (Figura 27).

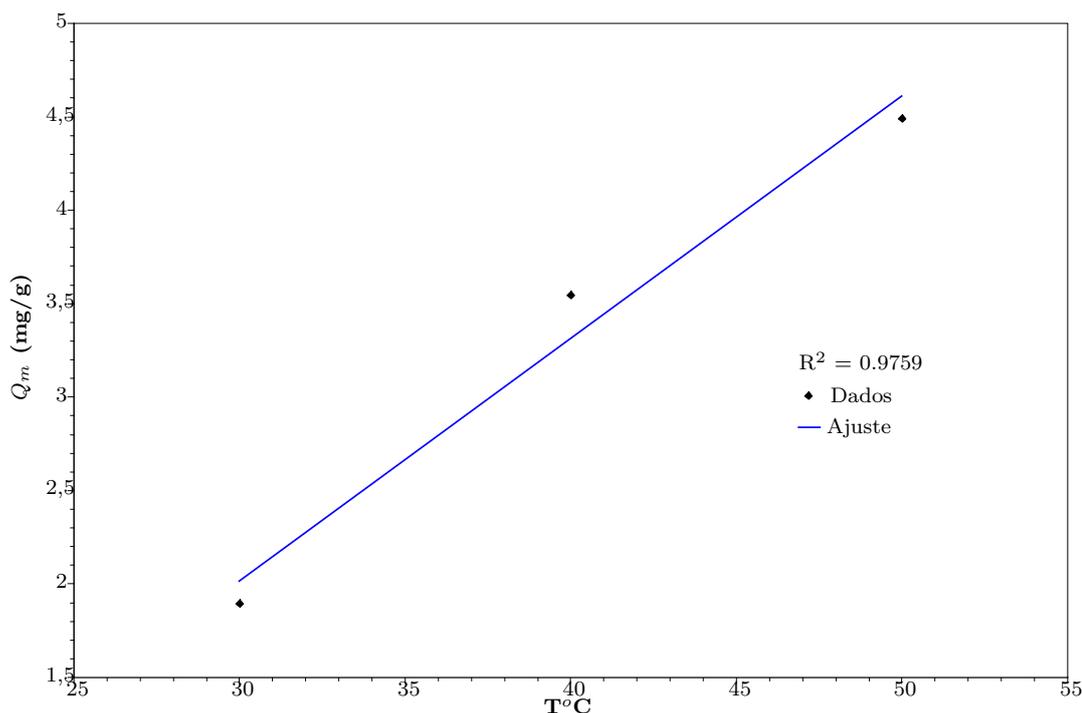


Figura 27 – Efeito da temperatura sobre a capacidade de adsorção na monocamada teórica para adsorção de β -caroteno em resina HP-20 com agitação magnética.

Os valores positivos da variação de entropia e do calor de entalpia (Tabela 11) confirmaram a natureza endotérmica do processo de adsorção de β -caroteno em meio etanólico com a resina polimérica HP-20.

Tabela 11 – Parâmetros termodinâmicos para adsorção de β -caroteno em adsorvente HP-20.

K_D (L/mol)	T ^o C	ΔG_{Ads}^o (KJ/mol)	ΔH_{Ads}^o (KJ/mol)	ΔS_{Ads}^o (J/mol)
246.699	30	-13.883		
463.903	40	-15.985	41.595	183.299
686.613	50	-17.549		

5.5 Espectroscopia NIR – Validação do modelo

5.5.1 Calibração multivariada com PLS

Para a geração dos modelos de calibração do espectrofotômetro UV-vis, do HPLC e do NIR, 30 amostras, sendo 5 réplicas de seis diferentes concentrações conhecidas de β -caroteno em etanol, foram preparadas à 30^oC. Na Figura 28 está apresentada a comparação entre a concentração conhecida (medido) e a predição de três métodos analíticos validados com *leverage correction*. Cada ponto no gráfico representa a média aritmética de cinco réplicas.

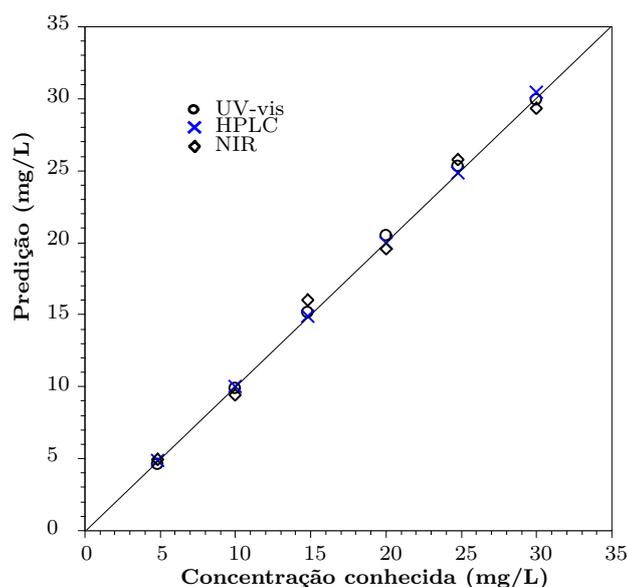


Figura 28 – Validação pelo método *leverage correction*.

A linha diagonal representa os resultados ideais (previstos) e assim os pontos mais próximos a linha são as predições de maior precisão. Os círculos representam as predições com UV-vis, os X representam as predições com HPLC e os losangos representam as predições com NIR.

Os valores de RMSEC baixos e de correlação R^2 maiores que 0,99 apresentados na Tabela 12 confirmam que as predições dos três métodos são precisas e estão fortemente correlacionadas às reais concentrações observadas.

Tabela 12 – Resultados de precisão para os modelos de predição validados pelo método *leverage corrected*.

	UV-vis	HPLC	NIR
R^2	0,9995	0,9999	0,9964
RMSEC	0,3363	0,1957	0,7364

Apesar obtermos modelos com altas correlações e baixos erros médios de predição (RMSEP), a calibração pelo método *leverage correction* não é a mais recomendada para validação de modelos de predição (ESBENSEN et al., 2002) por gerar um modelo bastante otimista, sem levar em consideração sua capacidade de generalização frente a amostras externas (FIELD, 2013). No entanto, apesar do super ajuste do modelo observado, essa técnica foi muito útil para modelagem inicial do problema, escolha das amostras de calibração e eliminação de três espectros irregulares encontrados.

5.5.2 Validação cruzada com amostras de concentrações conhecidas

Para validar a metodologia de quantificação de β -caroteno em meio etanólico através de espectroscopia NIR e calibração PLS foram desenvolvidos e validados novos modelos de

predição usando os dois principais métodos de validação cruzada entre diferentes amostras *holdout* e *k-fold*, como recomendado por Esbensen et al. (2002) e Field (2013).

Na Figura 29 e na Figura 30 estão apresentados os espectros originais de calibração e de validação recolhidos para amostras de β -caroteno em etanol.

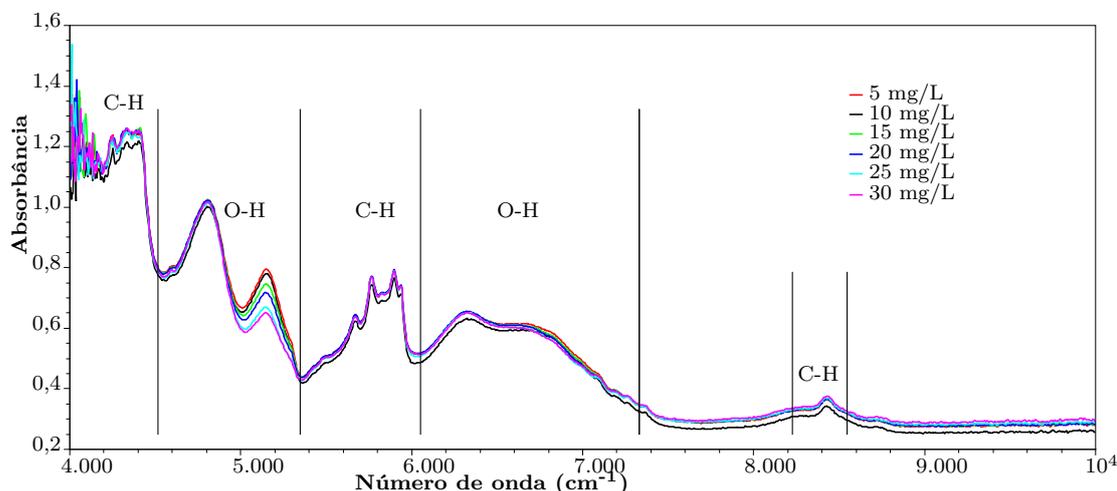


Figura 29 – Espectros NIR das amostras de calibração.

Uma banda de absorção ruidosa considerável foi observada na região entre 4000 e 4385 cm^{-1} (2500 - 2280 nm), devido às combinações de estiramento e torção de ligações C-H. Em 4784 e em 5101 cm^{-1} observam-se duas bandas de absorção que características correspondentes às combinações de estiramento e torção de ligações O-H e ao estiramento de ligações O-H, pertencentes ao grupo hidroxila do solvente etanol. Entre 5617 e 5900 cm^{-1} foi observado uma larga banda de absorção referente ao estiramento de ligações C-H oriundas de grupos CH_2 e CH_3 . Em 6500 e 6700 cm^{-1} foi observada uma banda de absorção de média intensidade relativa ao estiramento de ligações O-H. Entre 8163 e 8368 cm^{-1} foi observada uma banda de absorção de baixa intensidade causada por ligações C-H de grupos CH, CH_2 e CH_3 (BURNS; CIURCZAK, 2007).

Para a avaliação da precisão e da capacidade de predição dos modelos gerados na validação cruzada, foram calculados o SEP, o RMSEP e o RPD. Esses dados são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Precisão dos modelos de predição do NIR com PLS

Modelo	Método	R_C^2	R_V^2	RMSEC	SEC	RMSEP	SEP	CP
Modelo 1	<i>holdout</i>	0,956303	0,920058	1,915136	1,960204	2,674438	2,497242	4
Modelo 2	<i>k-fold</i>	0,957045	0,893793	1,914467	1,945100	3,285046	3,360029	5
Modelo 3	<i>k-fold</i>	0,978445	0,860544	1,356174	1,377874	3,560297	3,615626	6

Todos os modelos apresentados na Tabela 13 foram gerados a partir dos espectros das 32 amostras trabalhadas na seção anterior. O modelo 1 foi gerado a partir de 20 amostras de calibração e validado com 12 amostras de teste pelo método *holdout*. Esse

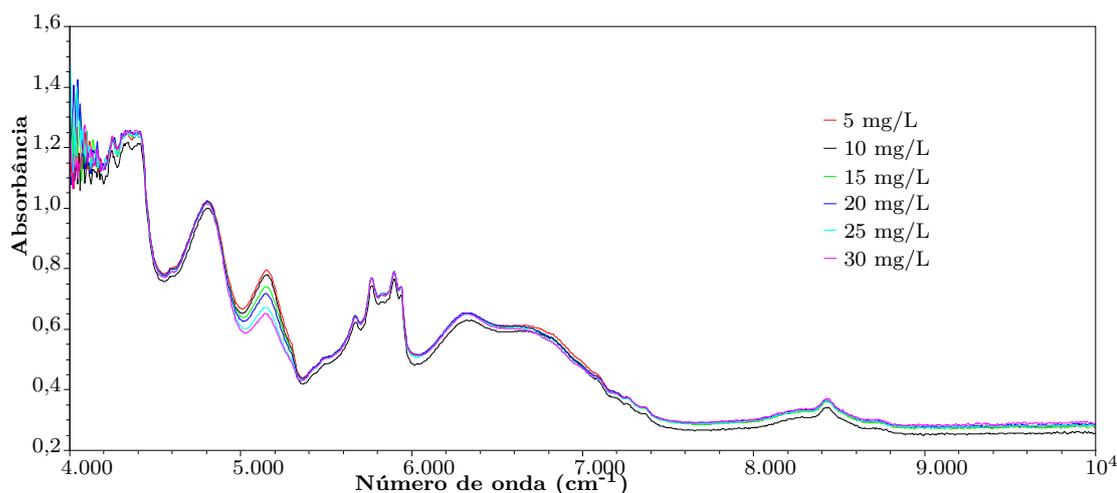


Figura 30 – Espectros NIR das amostras de validação.

modelo apresentou o menor erro e é o mais preciso em relação às amostras de validação, com $RMSEP = 2,674$.

Os modelos 2 e 3 foram construídos pelo método *k-fold*. O modelo 2 foi produzido partindo de 12 amostras exclusivas para calibração e 20 amostras de validação divididas aleatoriamente em 10 grupos de 2 elementos. O modelo 3 foi gerado por validação cruzada completa com as 32 amostras de validação divididas aleatoriamente em 16 grupos de 2 elementos, conforme relatado por Rungpichayapichet et al. (2015). Ambos os modelos apresentaram menor precisão que o modelo validado por *holdout*, de modo que o modelo 1 é aquele que apresentou maior capacidade de generalização de predição e é, portanto, mais adequado para quantificação de β -caroteno em matriz etanólica.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 13, conseguimos predições com maior capacidade de generalização que as de Rungpichayapichet et al. (2015), quando relatou quantificar β -caroteno em polpa de manga com precisão $SEP > 11$ e R_V^2 entre 0,693 e 0,882. Enquanto nosso trabalho alcançou SEP entre 2,497 e 3,616 com R_V^2 entre 0,860 a 0,920. Esses resultados demonstram que a espectroscopia NIR com modelo PLS teve um bom desempenho preditivo para β -caroteno em etanol, inclusive superior aos que fora reportados na literatura.

Na Figura 31 estão apresentados os gráficos da concentração conhecida (medido) em função da predição NIR com os dois modelos PLS de melhor precisão. A linha diagonal representa os resultados ideais (previstos) e assim os pontos mais próximos a linha são as predições de maior precisão. Os círculos representam espectros de calibração e os X azuis representam os espectros de validação.

O modelo que apresentou melhor precisão foi o modelo validado pelo método *holdout* (Figura 31a).

A Figura 32 ilustra a validação cruzada dos modelos 1, 2 e 3. O número de

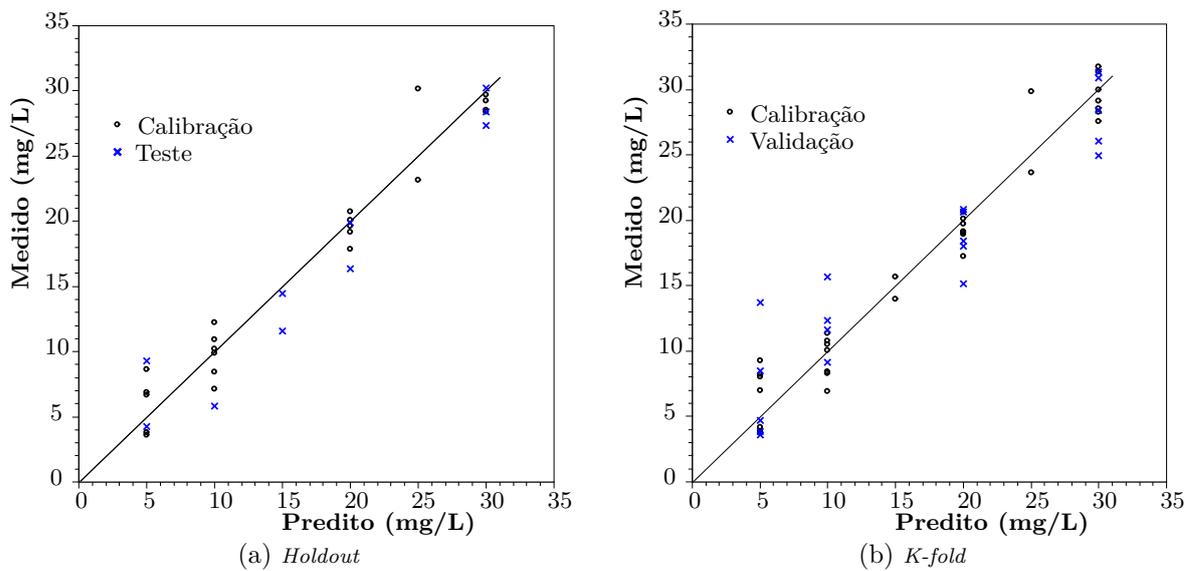


Figura 31 – Predição NIR com PLS calibrado por validação cruzada.

componentes principais para o modelo foi escolhido de acordo com a menor variância residual (Equação 5.1) de cada conjunto de validação. As linhas tracejadas representam os conjuntos de validação e teste enquanto as linhas sólidas representam os conjuntos de calibração.

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2} \quad (5.1)$$

O modelo 1 (Figura 32a) apresenta menor variância residual com 4 componentes principais. O modelo 2 (Figura 32b) apresenta menor variância residual com 5 componentes principais. Enquanto o modelo 3 (Figura 32c) apresenta menor variância residual com 6 componentes principais.

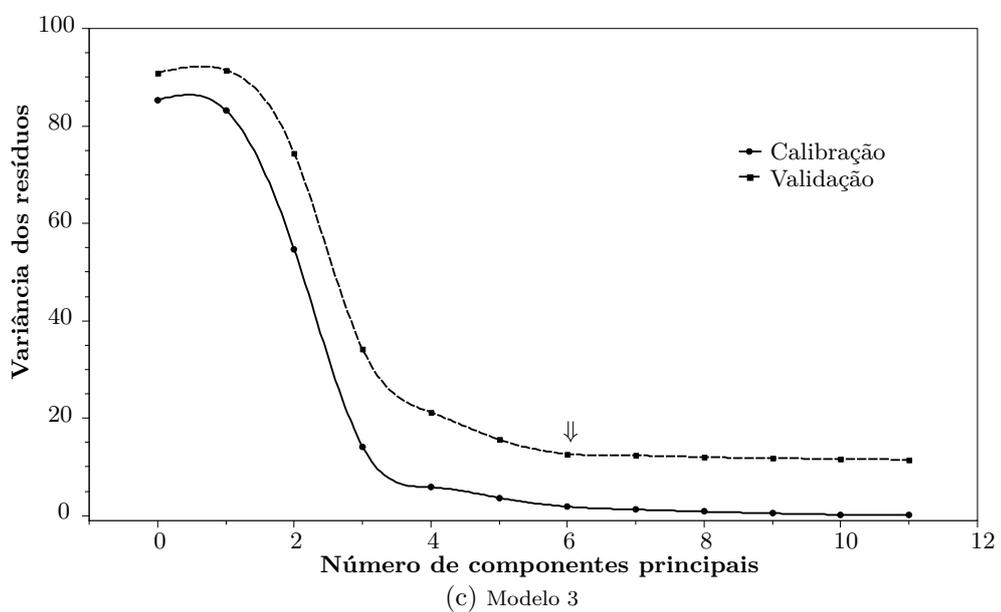
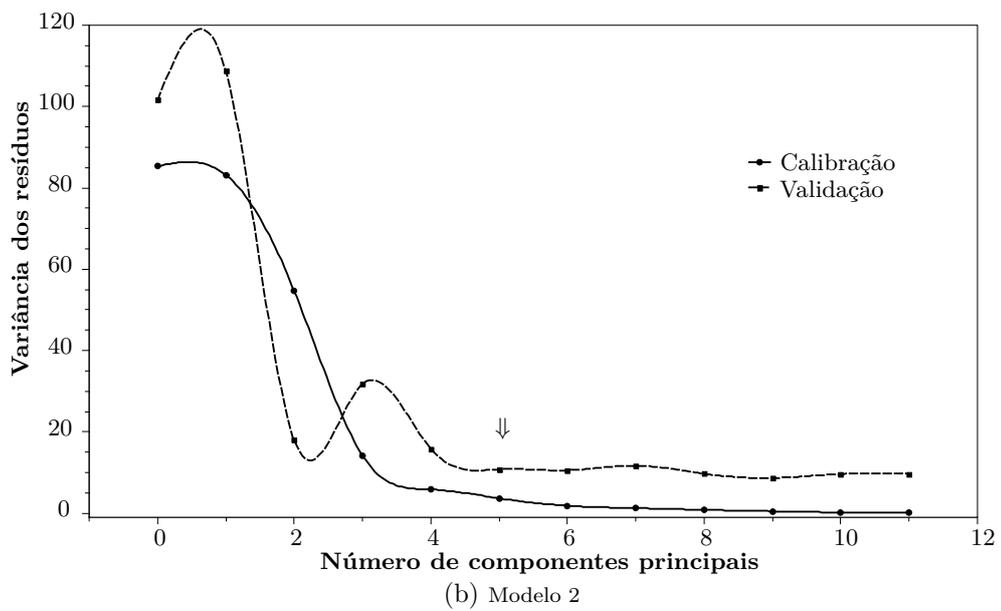
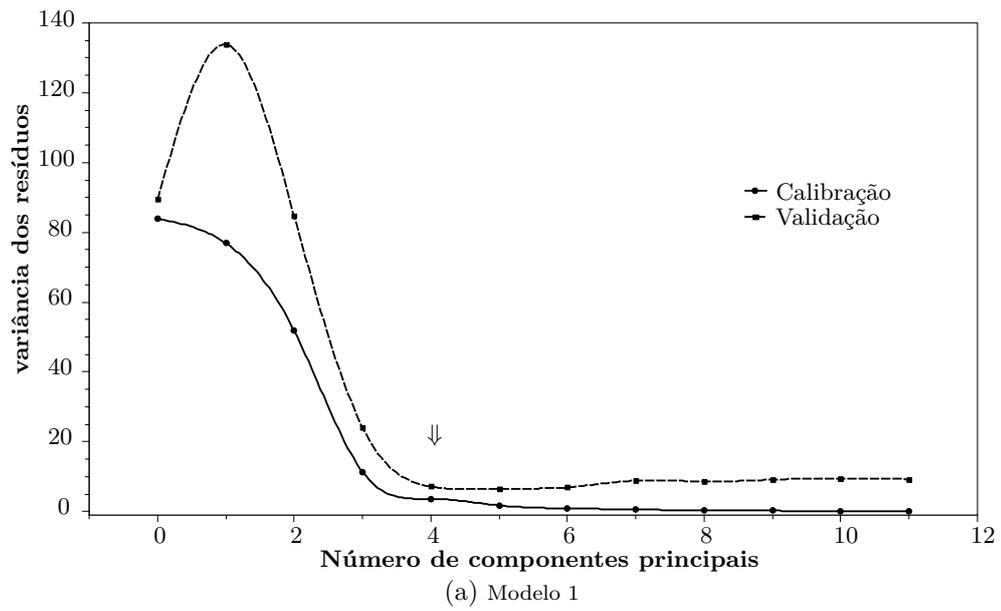


Figura 32 – Validação cruzada dos modelos PLS

5.5.3 Monitoramento da cinética de adsorção de β -caroteno com espectroscopia NIR

Nesse trabalho conseguimos previsões com maior capacidade de generalização que as de Pedro e Ferreira (2005), quando relatou quantificar β -caroteno em tomates com erro médio percentual de 3,43%. Enquanto nosso trabalho alcançou erro médio percentual de 2,34%.

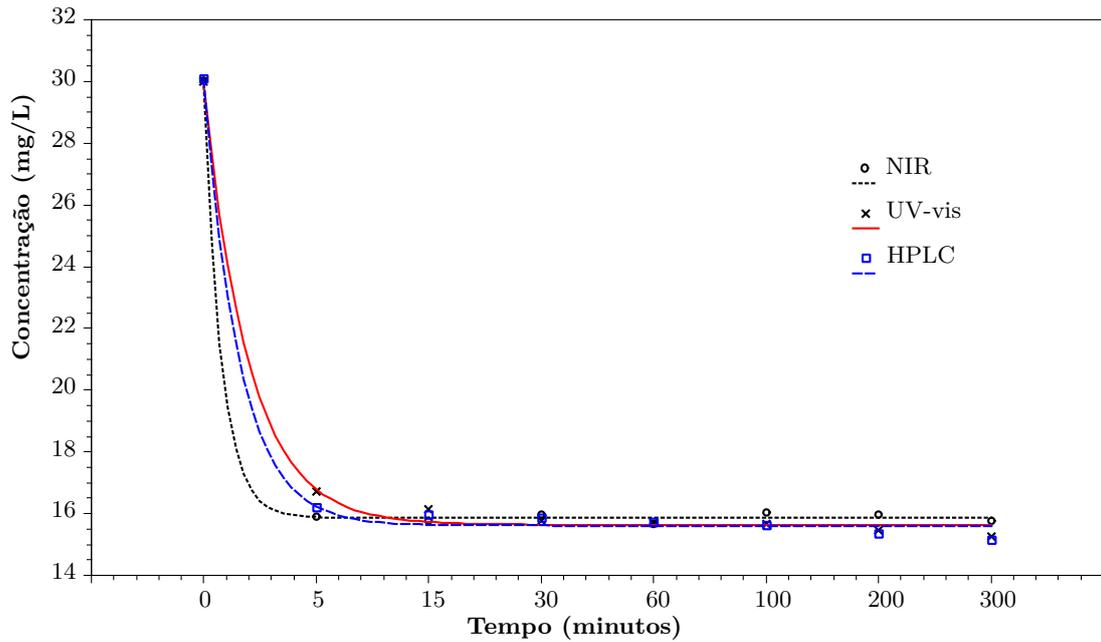


Figura 33 – Curva de decaimento da concentração de β -caroteno na adsorção à 40°C.

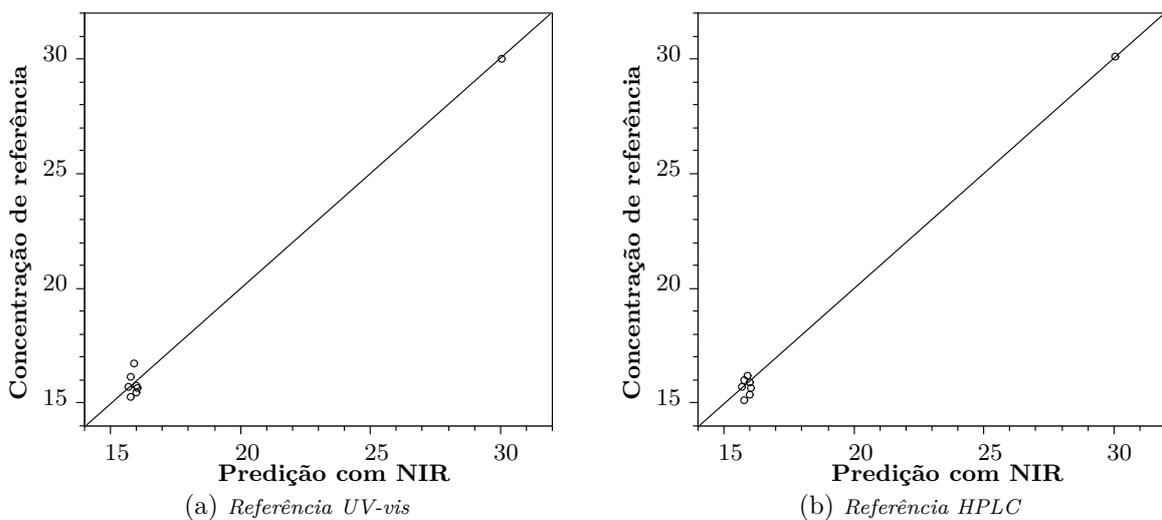


Figura 34 – Predição da concentração média de β -caroteno na adsorção à 40°C.

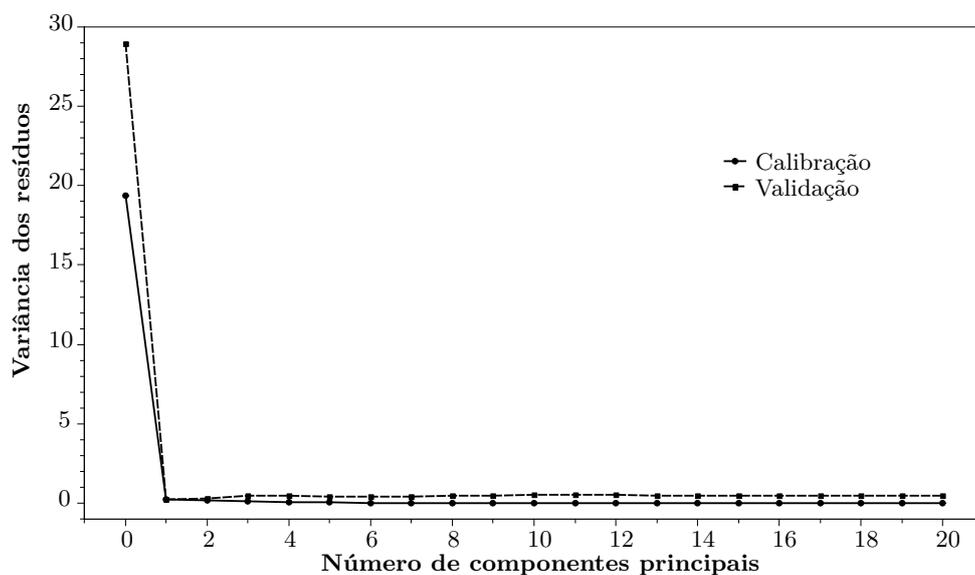


Figura 35 – Validação cruzada do modelo 4.

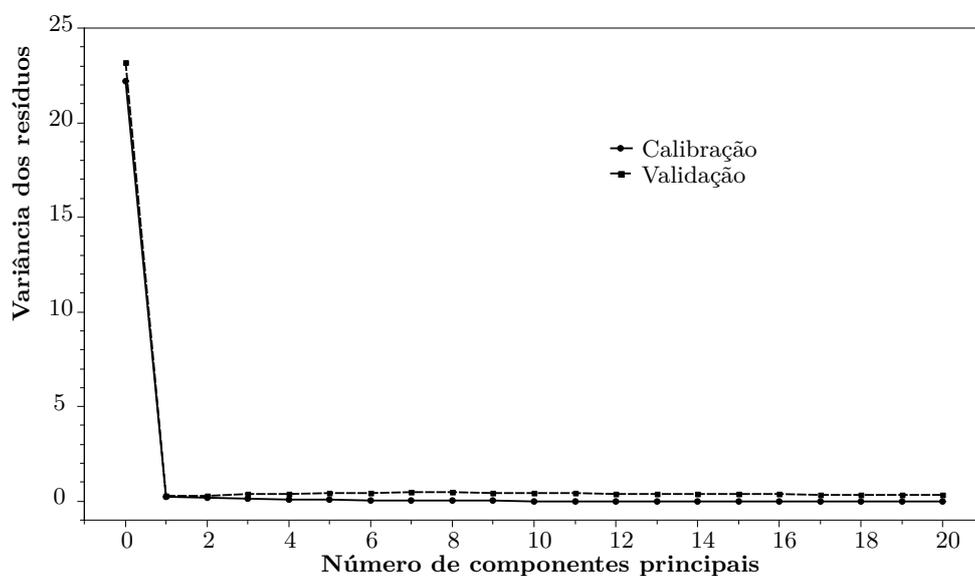


Figura 36 – Validação cruzada do modelo 5.

Tabela 14 – Análise de Modelos de predição do NIR aplicado ao monitoramento da cinética de adsorção

Modelo	Método	R_C^2	R_V^2	RMSEC	SEC	RMSEP	SEP
Modelo 4	<i>holdout</i>	0,987154	0,991901	0,498848	0,508002	0,484034	0,493059
Modelo 5	<i>k-fold</i>	0,989029	0,988746	0,493351	0,499636	0,510617	0,517119

6 Conclusões

Esse trabalho trouxe uma pioneira metodologia de recuperação de β -caroteno com um solvente ambientalmente correto, atóxico e renovável, com potenciais aplicações na indústria de alimentos.

Esse trabalho demonstrou que a técnica de agitação magnética apresentou influência positiva, em relação ao shaker orbital, sobre a quantidade de β -caroteno adsorvida no equilíbrio em meio etanólico.

Do ponto vista cinético, o processo em estudo é melhor explicado ($0,908 \leq R^2 \leq 0,999$) pelo modelo Hill 5. Sendo que nas condições ótimas com agitação magnética a 50°C foram obtidas 3,170 mg de β -caroteno por grama de adsorvente.

Após uma rigorosa avaliação estatística, concluímos que o equilíbrio de adsorção com o uso de resina polimérica como adsorvente de β -caroteno em etanol, na maioria dos casos, é melhor descrito ($0,928 \leq R^2 \leq 0,990$) pelo modelo de Freundlich.

Foi verificado que esse processo de adsorção é endotérmico e espontâneo e que um moderado aumento de temperatura é um fator bastante favorável.

Os resultados demonstraram que a espectroscopia NIR com modelo PLS apresentou um bom desempenho preditivo para o problema estudado, inclusive superior aos que fora reportados na literatura. Além disso, foi validada uma metodologia rápida, não invasiva e não destrutiva para quantificação de β -caroteno em matriz etanólica.

De um modo geral, trouxemos fundamentais contribuições, como a modelagem do equilíbrio através isotermas de adsorção, que descrevem fielmente como o β -caroteno pode ser recuperado em solução etanólica, e a modelagem cinética de adsorção, que é a base para dimensionamento de leito fixo ou de quaisquer outros sistemas de escoamento especificamente com o solvente e o adsorvente proposto estudados.

7 Trabalhos Futuros

Esse trabalho limitou-se à avaliação da adsorção de β -caroteno diluído em etanol em condições de pressão atmosférica. Trabalhos futuros sugerem a aplicação da metodologia desenvolvida para extração e purificação desse biocomposto a partir de fontes naturais, como óleos e extratos vegetais utilizados na produção de biodiesel.

Investigações mais profundas sobre a inovação desse processo a altas pressões com espectroscopia NIR também são bastante atrativas.

ANEXO A – Balanço de massa incremental com múltiplas remoções

Segundo Li et al. (2013):

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t) \times V}{m}$$

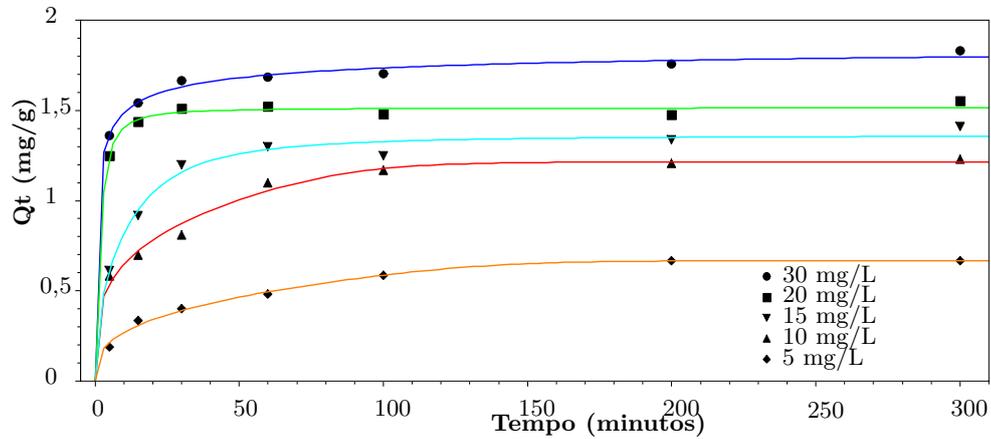
1. Dado um conjunto de valores de concentração do adsorbato C_t mensurados ao longo do tempo t , $C_t = (C_0, C_1, C_2, \dots, C_n) \forall n \geq 1$.
2. Sejam tomadas n alíquotas sucessivas em um experimento de adsorção de volume total V .
3. Seja cada alíquota de volume constante α .
4. Em $t=0$, $Q_0 = 0$;
5. Em $t=1$, $C_0 = C_0$, $C_t = C_1$ e $V = V$;
6. Em $t=2$, $C_0 = C_1$, $C_t = C_2$ e $V = V-\alpha(1)$;
7. Em $t=3$, $C_0 = C_2$, $C_t = C_3$ e $V = V-\alpha(2)$;
8. Em $t=4$, $C_0 = C_3$, $C_t = C_4$ e $V = V-\alpha(3)$;
9. ...
10. Em $t=n$, $C_0 = C_{(n-1)}$, $C_t = C_n$ e $V = V-\alpha(t-1)$.
11. Então Q_t , a quantidade adsorvida no tempo t , $\forall t \in [1, 2, \dots, n]$, é dada por:

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_1) \times V}{m} + \frac{(C_1 - C_2) \times [V - \alpha(1)]}{m} + \frac{(C_2 - C_3) \times [V - \alpha(2)]}{m} \\ + \dots + \frac{(C_{(n-1)} - C_n) \times [V - \alpha(n-1)]}{m}$$

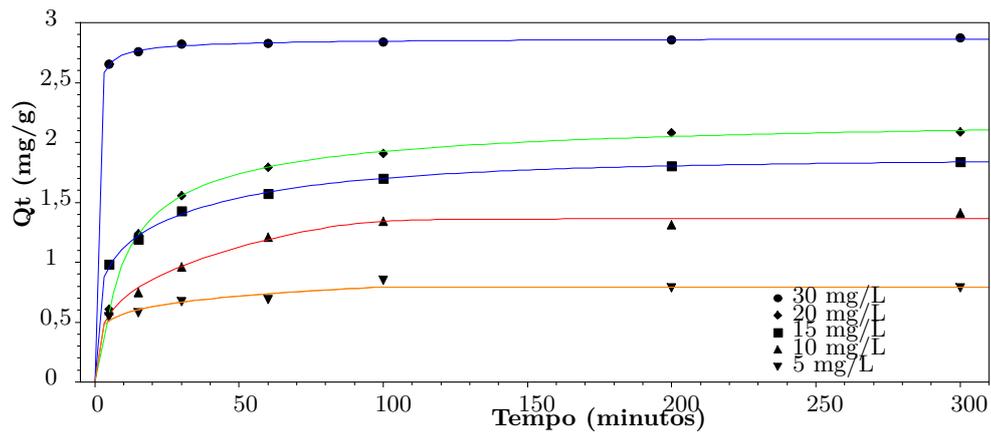
12. Q_t , a quantidade adsorvida no tempo t , $\forall t \in [1, 2, \dots, n]$, pode dada então por:

$$Q_t = \sum_{t=1}^n \frac{(C_{(t-1)} - C_t) \times [V - \alpha(t-1)]}{m}$$

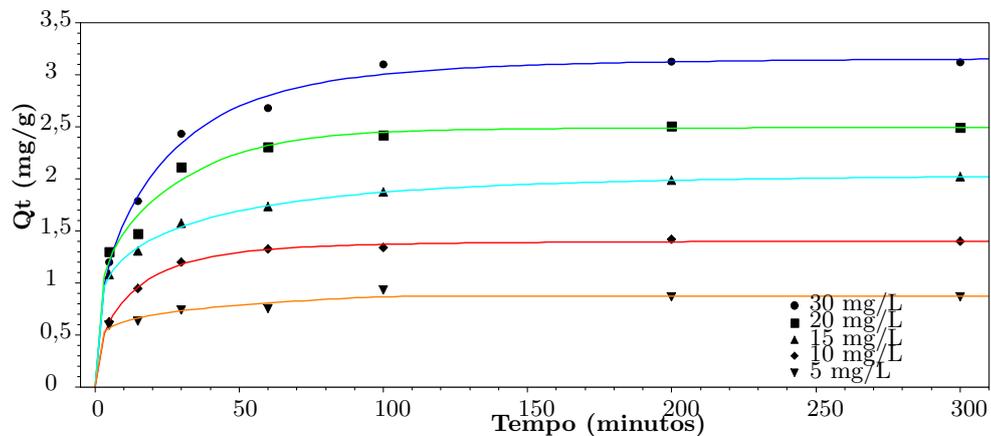
ANEXO B – Dados de cinética de adsorção



(a) Adsorção à 30°C



(b) Adsorção à 40°C



(c) Adsorção à 50°C

Figura 37 – Modelo cinético Hill 5 e dados experimentais obtidos na adsorção de β -caroteno com resina HP-20 em agitação magnética a 150 RPM.

Referências

- ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Partial least squares methods: partial least squares correlation and partial least square regression. *Computational Toxicology*, Springer, v. 2, p. 549–579, 2013.
- ABRAHAMSSON, V.; RODRIGUEZ-MEIZOSO, I.; TURNER, C. Determination of carotenoids in microalgae using supercritical fluid extraction and chromatography. *Journal of Chromatography A*, Elsevier, v. 1250, p. 63–68, 2012.
- ACEVEDO, J. C. et al. Analysis of operating costs for producing biodiesel from palm oil at pilot-scale in colombia. *Bioresource technology*, Elsevier, v. 188, p. 117–123, 2015.
- AHMAD, A. et al. Recovery of oil and carotenes from palm oil mill effluent (pome). *Chemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 141, n. 1, p. 383–386, 2008.
- AHMAD, A. et al. Adsorption kinetics and thermodynamics of β -carotene on silica-based adsorbent. *Chemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 148, n. 2, p. 378–384, 2009.
- AHMAD, A. et al. Isolation of carotenes from palm oil mill effluent and its use as a source of carotenes. *Desalination and Water Treatment*, Taylor & Francis, v. 7, n. 1-3, p. 251–256, 2009.
- AHMAD, A. et al. Separation of oil and carotenes from palm oil mill effluent by adsorption chromatography with silica based adsorbent. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, Wiley Online Library, v. 4, n. 5, p. 717–722, 2009.
- ALHICHRI, H. et al. A novel fusion approach based on induced ordered weighted averaging operators for chemometric data analysis. *Journal of Chemometrics*, Wiley Online Library, v. 27, n. 12, p. 447–456, 2013.
- ALLEONI, L.; CAMARGO, O.; CASAGRANDE, J. Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de boro em solos altamente intemperizados. *Scientia Agricola*, Escola Superior de Agricultura, v. 55, n. 3, p. 379–387, 1998.
- AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. d. A. C.; FARO, Z. P. d. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose a. *Rev. nutr*, v. 19, n. 2, p. 233–243, 2006.
- AMORIM-CARRILHO, K. et al. Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Elsevier, v. 56, p. 49–73, 2014.
- ANIRUDHAN, T.; SUCHITHRA, P. et al. Equilibrium, kinetic and thennodynamic modeling for the adsorption of heavy metals onto chemically modified hydrotalcite. *Indian journal of chemical technology*, Scientific Publishers, v. 17, n. 4, p. 247–259, 2010.
- ANIZA, A. *Extraction of α -carotene and other carotene components from crude palm oil using resin chromatography method*. Serdang, Selangor, Malaysia: Tese - University Pertanian Malaysia, 1995.

- ARLOT, S.; CELISSE, A. et al. A survey of cross-validation procedures for model selection. *Statistics surveys*, The author, under a Creative Commons Attribution License, v. 4, p. 40–79, 2010.
- ARMAGAN, B.; TOPRAK, F. Optimum isotherm parameters for reactive azo dye onto pistachio nut shells: comparison of linear and non-linear methods. *Polish Journal of Environmental Studies*, v. 22, n. 4, 2013.
- ARVAYO-ENRÍQUEZ, H. et al. Carotenoids extraction and quantification: A review. *Analytical Methods*, Royal Society of Chemistry, v. 5, n. 12, p. 2916–2924, 2013.
- ATKINS, P. *Físico-Química*. Rio de Janeiro: LTC, 1999. v. 3.
- BERARDO, N. et al. Carotenoids concentration among maize genotypes measured by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Elsevier, v. 5, n. 3, p. 393–398, 2004.
- BIEHLER, E. et al. Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *Journal of food science*, Wiley Online Library, v. 75, n. 1, p. C55–C61, 2010.
- BRENNAN, O. V.; BERARDO, N. Application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to the evaluation of carotenoids content in maize. *Journal of agricultural and food chemistry*, ACS Publications, v. 52, n. 18, p. 5577–5582, 2004.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Multimodel inference understanding AIC and BIC in model selection. *Sociological methods & research*, Sage Publications, v. 33, n. 2, p. 261–304, 2004.
- BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. *Handbook of near-infrared analysis*. Boca Raton: CRC press, 2007.
- CARDENAS-TORO, F. P. et al. Pressurized liquid extraction and low-pressure solvent extraction of carotenoids from pressed palm fiber: Experimental and economical evaluation. *Food and Bioproducts Processing*, Elsevier, v. 94, p. 90–100, 2015.
- CHAN, K. et al. Adsorption isotherm studies of palm carotene extraction by synthetic polymer adsorbent. *Journal of Food Lipids*, Wiley Online Library, v. 7, n. 2, p. 127–141, 2000.
- CHEN, X. et al. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to evaluate the lutein and β -carotene in chinese kale. *Journal of food composition and analysis*, Elsevier, v. 22, n. 2, p. 148–153, 2009.
- COMPANIES AND MARKETS. *The Global Market for Carotenoids*. 2015. Disponível em: <<http://www.companiesandmarkets.com/Market/Food-and-Drink/Market-Research/The-Global-Market-for-Carotenoids/RPT988273>>.
- COONEY, D. O. *Adsorption design for wastewater treatment*. Boca Raton: CRC Press, 1998.
- CRAFT, N. E.; SOARES, J. H. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and β -carotene in organic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ACS Publications, v. 40, n. 3, p. 431–434, 1992.

- CRINI, G. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Progress in polymer science*, Elsevier, v. 30, n. 1, p. 38–70, 2005.
- DABROWSKI, A. Adsorption—from theory to practice. *Advances in colloid and interface science*, Elsevier, v. 93, n. 1, p. 135–224, 2001.
- DADA, A. et al. Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin–Radushkevich isotherms studies of equilibrium sorption of Zn²⁺ unto phosphoric acid modified rice husk. *Journal of Applied Chemistry*, v. 3, n. 1, p. 38–45, 2012.
- DAMAYANTI, S. et al. Isolation of β -carotene from palm (*elaeis guineensis jacq.*) oil using transesterification-adsorption-desorption method and its characterization. *Journal of Applied Sciences*, Asian Network for Scientific Information (ANSINET), v. 14, n. 20, p. 2615, 2014.
- DIAS, M. da G. Hydrocarbon carotenoids. *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*, CRC Press, Boca Raton, p. 243, 2012.
- DIAS, M. O. et al. Production of bioethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: integration to conventional bioethanol production process. *Chemical Engineering Research and Design*, Elsevier, v. 87, n. 9, p. 1206–1216, 2009.
- ESBENSEN, K. H. et al. *Multivariate data analysis-in practice: An introduction to multivariate data analysis and experimental design*. 5. ed. Woodbridge: CAMO Process AS, 2002.
- FERREIRA, M. M. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. *Química Nova*, v. 22, n. 5, p. 724–731, 1999.
- FIELD, A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. 4. ed. Los Angeles: Sage, 2013.
- FOO, K.; HAMEED, B. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 156, n. 1, p. 2–10, 2010.
- FOX, D. M. Alternative solvents for green chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, ACS Publications, v. 131, n. 33, p. 12016–12016, 2009.
- FREUNDLICH, U. Die adsorption in lusungen. *JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY*, 1906.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica chimica acta*, Elsevier, v. 185, p. 1–17, 1986.
- GRUNE, T. et al. β -carotene is an important vitamin A source for humans. *The Journal of nutrition*, Am Soc Nutrition, v. 140, n. 12, p. 2268S–2285S, 2010.
- HENLEY, E. J.; SEADER, J. D.; ROPER, D. K. *Separation process principles*. Hoboken: Wiley New York, 2011.
- HO, Y.-S. Pseudo-isotherms using a second order kinetic expression constant. *Adsorption*, Springer, v. 10, n. 2, p. 151–158, 2004.
- HO, Y.-S.; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. *Process biochemistry*, Elsevier, v. 34, n. 5, p. 451–465, 1999.

- HURVICH, C. M.; TSAI, C.-L. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, Biometrika Trust, v. 76, n. 2, p. 297–307, 1989.
- JAMRÓGIEWICZ, M. Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, Elsevier, v. 66, p. 1–10, 2012.
- KARNJANAWIPAGUL, P. et al. Analysis of β -carotene in carrot by spectrophotometry. *Mahidol Univ. J. Pharm. Sci.*, v. 37, p. 8–16, 2010.
- KARO, J. A. K. et al. Adsorption and Desorption Carotenoids of Raw Palm Oil (Crude Palm Oil/CPO) using Salt M-Polystyrene Sulfonate (M = Na, Mg, Ca, Sr and Ba). *Indian Journal of Science and Technology*, v. 7, n. 12, p. 1925–1932, 2014.
- KERTON, F. M.; MARRIOTT, R. *Alternative solvents for green chemistry*. Cambridge: Royal Society of chemistry, 2013.
- KOHAVI, R. A study of cross-validation and bootstrap for accuracy estimation and model selection. In: *Proceedings of the 14th International joint conference on Artificial intelligence*. San Francisco: Morgan Kaufmann Publisher Inc., 1995. v. 2, p. 1137–1145.
- KOUTCHMA, T.; FORNEY, L. J.; MORARU, C. I. *Ultraviolet light in food technology: principles and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2009.
- KRALCHEVSKY, P. A.; DANOV, K. D.; DENKOV, N. D. Chemical physics of colloid systems and interfaces. In: BIRDI, K.; S (Ed.). *Handbook of surface and colloid chemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2009. cap. 7, p. 197–377.
- KUŚMIEREK, K.; ŚWIĄTKOWSKI, A. The influence of different agitation techniques on the adsorption kinetics of 4-chlorophenol on granular activated carbon. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, Springer, v. 116, n. 1, p. 261–271, 2015.
- LAGERGREN, S. About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, v. 24, n. 4, p. 1–39, 1898.
- LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical society*, ACS Publications, v. 40, n. 9, p. 1361–1403, 1918.
- LATIP, R. et al. Evaluation of different types of synthetic adsorbents for carotene extraction from crude palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Springer, v. 77, n. 12, p. 1277–1282, 2000.
- LEVENBERG, K. A method for the solution of certain non-linear problems in least squares. *Quarterly of Applied Mathematics*, v. 2, p. 164–168, 1944.
- LI, X. et al. Determination of hemicellulose, cellulose and lignin in moso bamboo by near infrared spectroscopy. *Scientific reports*, Nature Publishing Group, v. 5, 2015.
- LI, Y. et al. Comparative study of methylene blue dye adsorption onto activated carbon, graphene oxide, and carbon nanotubes. *Chemical Engineering Research and Design*, Elsevier, v. 91, n. 2, p. 361–368, 2013.

- LIBBRECHT, W. et al. Optimization of soft templated mesoporous carbon synthesis using definitive screening design. *Chemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 259, p. 126–134, 2015.
- LIMOUSIN, G. et al. Sorption isotherms: a review on physical bases, modeling and measurement. *Applied Geochemistry*, Elsevier, v. 22, n. 2, p. 249–275, 2007.
- LIU, W. et al. Separation of isoflavone aglycones using chitosan microspheres from soy whey wastewater after foam fractionation and acidic hydrolysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Elsevier, 2014.
- MARQUARDT, D. W. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial & Applied Mathematics*, SIAM, v. 11, n. 2, p. 431–441, 1963.
- MARTENS, H.; NAES, T. *Multivariate calibration*. Chichester: John Wiley & Sons, 1992.
- MASCIO, P. D.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of biochemistry and biophysics*, Elsevier, v. 274, n. 2, p. 532–538, 1989.
- MCKAY, G. *Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewater*. Boca Raton: CRC press, 1995.
- MEHER, L.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, Elsevier, v. 10, n. 3, p. 248–268, 2006.
- MILLER, J. C.; MILLER, J. N. Statistics for analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, New York, NY, v. 60, n. 18, 1988.
- MUHAMMAD et al. Adsorption of β -carotene onto mesoporous carbon coated monolith in isopropyl alcohol and n-hexane solution: equilibrium and thermodynamic study. *Chemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 164, n. 1, p. 178–182, 2010.
- NARWAL, S. K.; GUPTA, R. Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. *Biotechnology letters*, Springer, v. 35, n. 4, p. 479–490, 2013.
- NASCIMENTO, R. F. do et al. Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais. *Biblioteca de Ciências e Tecnologia*, 2014.
- NEATH, A. A.; CAVANAUGH, J. E. The bayesian information criterion: background, derivation, and applications. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, Wiley Online Library, v. 4, n. 2, p. 199–203, 2012.
- OTHMAN, N. et al. A review of extraction technology for carotenoids and vitamin E recovery from palm oil. *Journal Applied Sciences*, v. 10, n. 12, p. 1187–1191, 2010.
- PEDRO, A. M.; FERREIRA, M. M. Nondestructive determination of solids and carotenoids in tomato products by near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Analytical Chemistry*, ACS Publications, v. 77, n. 8, p. 2505–2511, 2005.
- PERALTA-ZAMORA, P. et al. Alternativas quimiométricas para a resolução de problemas analíticos clássicos. determinação espectrofotométrica de misturas de zircônio e háfnio. *Química Nova*, scielo, v. 20, p. 469 – 474, 10 1997.

- POSPĚCHOVÁ, J. et al. Polysaccharide biopolymers modified with titanium or nickel nanoparticles for removal of radionuclides from aqueous solutions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Springer, p. 1–12, 2015.
- PRADO, J. M.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, A. A. Extraction methods for obtaining carotenoids from vegetables-review. *Current Analytical Chemistry*, Bentham Science Publishers, v. 10, n. 1, p. 29–66, 2014.
- QIU, H. et al. Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University Science A*, Springer, v. 10, n. 5, p. 716–724, 2009.
- RAVANELLO, M. P. et al. Coordinate expression of multiple bacterial carotenoid genes in canola leading to altered carotenoid production. *Metabolic engineering*, Elsevier, v. 5, n. 4, p. 255–263, 2003.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Campinas: ILSI press Washington, DC, 2001.
- RUNGPICHAYAPICHET, P. et al. Non-destructive determination of β -carotene content in mango by near-infrared spectroscopy compared with colorimetric measurements. *Journal of Food Composition and Analysis*, Elsevier, v. 38, p. 32–41, 2015.
- RUTHVEN, D. M. *Principles of adsorption and adsorption processes*. New York: John Wiley & Sons, 1984.
- SAADI, R. et al. Monolayer and multilayer adsorption isotherm models for sorption from aqueous media. *Korean Journal of Chemical Engineering*, Springer, v. 32, n. 5, p. 787–799, 2015.
- SENTANIN, M. A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de carotenoides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciênc Tecnol Alim*, SciELO Brasil, v. 27, p. 787–92, 2007.
- SHAMI, N.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Rev Nutr*, v. 17, n. 2, p. 227–36, 2004.
- SHU, J. et al. Adsorption removal of Congo red from aqueous solution by polyhedral Cu₂O nanoparticles: Kinetics, isotherms, thermodynamics and mechanism analysis. *Journal of Alloys and Compounds*, Elsevier, v. 633, p. 338–346, 2015.
- SILVA, S. M. et al. Adsorption of carotenes and phosphorus from palm oil onto acid activated bleaching earth: Equilibrium, kinetics and thermodynamics. *Journal of Food Engineering*, Elsevier, v. 118, p. 341–349, 2013.
- SILVA, S. M. et al. Effect of type of bleaching earth on the final color of refined palm oil. *LWT-Food Science and Technology*, Elsevier, v. 59, n. 2, p. 1258–1264, 2014.
- SINGH, A.; AHMAD, S.; AHMAD, A. Green extraction methods and environmental applications of carotenoids - a review. *RSC Advances*, v. 5, n. 77, p. 62358–62393, 2015.
- SOHN, S.; KIM, D. Modification of langmuir isotherm in solution systems—definition and utilization of concentration dependent factor. *Chemosphere*, Elsevier, v. 58, n. 1, p. 115–123, 2005.

- SOLOMON, B. Biofuels and sustainability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1185, p. 119–134, 2010.
- SZUVANDZSIEV, P. et al. Estimation of antioxidant components of tomato using VIS-NIR reflectance data by handheld portable spectrometer. *International Agrophysics*, v. 28, n. 4, p. 521–527, 2014.
- TURNER, B. et al. Kinetic model selection and the Hill model in geochemistry. *International Journal of Environmental Science and Technology*, Springer, p. 1–14, 2014.
- UENOJO, M.; MAROSTICA, M.; PASTORE, G. M. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 30, n. 3, p. 616, 2007.
- VALENCIA, C. A. V. Aplicação da adsorção em carvão ativado e outros materiais carbonosos no tratamento de águas contaminadas por pesticidas de uso agrícola. *Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro*, 2007.
- WU, T. et al. Adsorption characteristics of acrylonitrile, p-toluenesulfonic acid, 1-naphthalenesulfonic acid and methyl blue on graphene in aqueous solutions. *Chemical engineering journal*, Elsevier, v. 173, n. 1, p. 144–149, 2011.
- XAVIER, A. A. O. et al. Desenvolvimento e validação de método espectrofotométrico para determinação de corante à base de luteína adicionado em iogurte desnatado. *Quim. Nova*, SciELO Brasil, v. 35, n. 10, p. 2057–2062, 2012.
- ZEB, A.; MEHMOOD, S. Carotenoids contents from various sources and their potential health applications. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 3, n. 3, p. 199–204, 2004.