

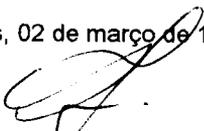
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**EFEITOS DA TROCA IÔNICA EM ZEÓLITAS NA  
ADSORÇÃO DE FRUTOSE**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por CLASSIUS FERREIRA DA SILVA aprovada pela Comissão Julgadora em 02 de março de 1998.

Campinas, 02 de março de 1998.

  
Prof. Dr. FRANCISCO MAUGERI FILHO  
Presidente da Banca

Classius Ferreira da Silva

Engenheiro Químico, UEM/1995

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nádia Regina Camargo Fernandes Machado

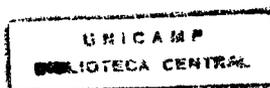
Co-orientadora (DEQ/UEM)

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho

Orientador

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Campinas, Março de 1998



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	33735
	395/98
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	08/05/98
N.º CPD	

CM-00111149-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

Si38e

Silva, Classius Ferreira da  
Efeitos da troca iônica em zeólitas na adsorção de frutose / Classius  
Ferreira da Silva -- Campinas, SP: [s.n], 1998.

Orientador: Francisco Maugeri Filho

Co-orientador: Nádia Regina Camargo Fernandes Machado.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Frutose. 2. Dextrana. 3. Zeólitas. 4. Adsorção. I. Maugeri  
Filho, Francisco. II. Machado, Nádia Regina Camargo Fernandes.  
III.. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade Engenharia de  
Alimentos. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho  
(Orientador)



---

Prof.ª Dr.ª Gisella Maria Zanin  
(Membro)



---

Prof.ª Dr.ª Maria Isabel Rodrigues  
(Membro)

---

Prof.ª Dr.ª Telma Teixeira Franco  
(Membro)

Campinas,  de março de 1998.

A meus pais, Durval e Honória,  
com amor e gratidão.

CACO

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que criou a noite.

Ao Professor Dr. Francisco Maugeri Filho por sua orientação, amizade e confiança.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nádia Regina Camargo Fernandes Machado pela orientação, amizade, confiança e todo o seu conhecimento dividido comigo durante todos nossos trabalhos, inclusive anteriores a este.

Aos amigos especiais do mestrado, Marió (Spice Girl I), Fábria (Spice Girl II), Márcia Rizzato (Bixu grilo de Black River), Fernanda Davoli (Fer, que nos abandonou mas meu carinho por ela é muito grande), ao Alfredo; pelo carinho e amizade.

Ao pessoal do laboratório, Eliana, Oscar, Simara, Danny, Belzinha, Yemiko, D. Maria pelo companheirismo.

À Fifa, que é simplesmente necessária!

À Lia pela companhia nas noitadas de laboratório, pelas sugestões, apoio e principalmente amizade.

Aos amigos também muito especiais Jean Carlo, Tia Claudinha e Marcos Paixão (mesmo de longe), Luis Márcio e Flávio Roberto pelo apoio e paciência ao me ouvir nos momentos difíceis deste mestrado.

Ao pessoal do Laboratório de Engenharia de Processos (Polo Sul e Polo Norte) por todas as vezes que utilizei a balança analítica.

Também aos outros amigos necessários... Denise (Drag), Mara (Maratara), Cristiane (Japonesa Fashion), Miriam (KPS), Maria Angélica.

Aos meus queridos pais, Durval e Honória, e meus irmãos, Cassius (Colecito) e Aracélis, que sempre me apoiaram nesta etapa da minha vida.

À Clarice do DEQ/UEM pela ajuda nas análises de área B.E.T.

À Fábrica Carioca de Catalisadores pela realização das análises de FRX e PSD, em especial ao Francisco e Luiz Roberto do laboratório.

À Bayer por ter cedido as amostras de zeólita A.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

## ÍNDICE GERAL

Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras.....	xi
Nomenclatura.....	xv
Resumo.....	xvi
Summary.....	xviii
<b>1 - Introdução.....</b>	<b>01</b>
<b>2 - Revisão Bibliográfica e Fundamentação Teórica.....</b>	<b>04</b>
2.1 - Frutose.....	04
2.1.1 - Produção e mercado.....	06
2.1.2 - Propriedades da frutose.....	09
2.1.3 - Aplicações do HFS e da frutose cristalina.....	12
2.2 - A dextrana.....	13
2.2.1 - Propriedades e aplicações das dextranas.....	14
2.2.2 - Produção.....	17
2.2.3 - Redução do peso molecular.....	19
2.2.4 - Fracionamento.....	20
2.2.5 - Caracterização do peso molecular.....	20
2.3 - As zeólitas.....	21
2.3.1 - Histórico das zeólitas.....	21
2.3.2 - A estrutura das zeólitas.....	22
2.3.3 - Aplicações das zeólitas.....	26
2.3.4 - A relação silício/alumínio da zeólita Y.....	26
2.3.5 - Os cátions de compensação das zeólitas.....	27
2.3.6 - Troca iônica.....	27
2.4 - A separação da frutose.....	29
2.5 - Isoterma de adsorção.....	33
2.5.1 - Isoterma de Langmuir.....	35

<b>3 - Materiais e Métodos</b> .....	37
3.1 - Zeólitas de partida.....	37
3.2 - Pré-tratamento da zeólita A: troca iônica do K <sup>+</sup> pelo Na <sup>+</sup> .....	37
3.3 - A troca iônica.....	38
3.4 - Caracterização das zeólitas trocadas.....	39
3.4.1 - Medida de área superficial.....	40
3.4.2 - Florescência de raio-X (FRX).....	40
3.4.3 - Diâmetro médio das partículas.....	41
3.5 - Síntese da dextrana.....	42
3.5.1 - Meio de cultura para a produção da enzima dextrana-sacarase.....	42
3.5.2 - Preparo do inóculo.....	43
3.5.3 - Composição da alimentação.....	43
3.5.4 - Fermentação.....	44
3.5.5 - Purificação da dextrana-sacarase.....	44
3.5.6 - A reação enzimática para a produção da dextrana bruta.....	44
3.6 - A adsorção da frutose.....	45
3.6.1 - Cinética da adsorção da frutose.....	45
3.6.2 - Isotherma de adsorção de frutose.....	45
3.6.3 - Teste de adsorção de frutose no meio obtido da reação enzimática da dextrana.....	46
3.7 - Métodos analíticos.....	46
3.7.1 - Determinação de açúcares redutores - Método DNS (MILLER 1959).....	46
3.7.2 - Determinação da atividade enzimática da dextrana-sacarase (SANTOS, 1996).....	47
3.7.3 - Análise do peso molecular por cromatografia de permeação em gel (CPG).....	48
3.7.3.1 - Preparo da fase móvel.....	50
3.7.3.2 - Preparo das amostras e padrões de dextrana.....	50
3.7.3.3 - Injeção das amostras no HPLC.....	50

3.7.3.4 - Curva de calibração.....	51
3.7.3.5 - Quantificação das amostras.....	52
3.7.4 - Análise de frutose por HPLC.....	52
3.7.4.1 - Preparo das amostras e padrões de frutose.....	53
<b>4 - Resultados e Discussões.....</b>	<b>54</b>
4.1 - As zeólitas de partida.....	54
4.2 - Planejamento experimental.....	55
4.2.1 - Planejamento experimental I.....	56
4.2.2 - Planejamento experimental II.....	61
4.2.3 - Planejamento experimental III.....	64
4.3 - Teste cinético de adsorção da frutose.....	67
4.4 - Síntese da dextrana.....	71
4.4.1 - Preparo do inóculo.....	71
4.4.2 - Fermentação.....	72
4.4.3 - Reação enzimática.....	72
4.5 - Teste de adsorção da frutose em meio contendo dextrana.....	75
4.6 - Comportamento geral das isotermas.....	77
4.7 - Comportamento geral das zeólitas em relação às respostas.....	79
<b>5 - Conclusões.....</b>	<b>81</b>
<b>6 - Sugestões para trabalhos futuros.....</b>	<b>84</b>
<b>7 - Bibliografia.....</b>	<b>85</b>
<b>Apêndice.....</b>	<b>89</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 01: Porcentagem de frutose e glicose em vegetais.....	04
TABELA 02: Doçura de alguns adoçantes em relação a sacarose.....	09
TABELA 03: Condições das trocas iônicas.....	39
TABELA 04: Características das colunas utilizadas.....	49
TABELA 05: Condições de injeção das amostras de dextrana no HPLC.....	51
TABELA 06: Pesos moleculares dos padrões utilizados.....	51
TABELA 07: Condições de injeção das amostras de frutose no HPLC.....	52
TABELA 08: Composições das zeólitas de partida obtidas por FRX e áreas superficiais (Sg).....	54
TABELA 09: Constantes de Langmuir para as zeólitas de partida.....	55
TABELA 10: Pontos da porcentagem da distribuição F (BRUNS e outros, 1995).....	56
TABELA 11: Valores das respostas $q_m$ , $K_d$ , Sg e PST para o planejamento experimental I.....	57
TABELA 12: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental I.....	57

TABELA 13: Análise da variância para a resposta das constantes $q_m$ e $K_d$ do planejamento experimental I.....	59
TABELA 14: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental I.....	59
TABELA 15: Valores das respostas $q_m$ , $K_d$ , Sg e PST para o planejamento experiemental II.....	61
TABELA 16: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental II.....	62
TABELA 17: Análise da variância para a resposta das constantes $q_m$ e $K_d$ do planejamento experimental II.....	63
TABELA 18: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental II.....	63
TABELA 19: Valores das respostas $q_m$ , $K_d$ , Sg e PST para o planejamento experiemental III.....	65
TABELA 20: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental III.....	65
TABELA 21: Análise da variância para a resposta das constantes $q_m$ e $K_d$ do planejamento experimental III.....	67
TABELA 22: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental III.....	67

TABELA 23: Constantes da reação de ordem zero para a adsorção de frutose.....	69
TABELA 24: Constantes da reação de adsorção da frutose.....	71
TABELA 25: Atividade total (UDS) nas etapas de pré-fermentação.....	72
TABELA 26: Distribuição do peso molecular para a amostra da síntese.....	74

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01: Formas tautoméricas da D-frutose em solução (SCHNEIDER, 1996).....	05
FIGURA 02: Processo de refinação para obtenção do HFS e da frutose cristalina (HANOVER e WHITE, 1993).....	07
FIGURA 03: Comparação entre os perfis de intensidade de doçura (HANOVER e WHITE, 1993).....	10
FIGURA 04: Estrutura básica da molécula de dextrana (SANTOS, 1996).....	13
FIGURA 05: Unidades de construção secundária das zeólitas, SBU (BRECK, 1974).....	23
FIGURA 06: Estrutura das Zeólitas A eY (GIANNETTO, 1990).....	25
FIGURA 07: Isômeros da glicose e frutose em solução aquosa (CHENG e LEE, 1992).....	32
FIGURA 08: Tipos de isotermas de adsorção (FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1987).....	34
FIGURA 09: Superfície de resposta da porcentagem de sódio trocado (PST) em função das variáveis X1 e X3.....	60
FIGURA 10: Superfície de resposta da porcentagem de sódio trocado (PST) em função das variáveis X2 e X3.....	60

FIGURA 11: Superfície de Resposta da área superficial ( $S_g$ ) em função das variáveis X1 e X3.....	64
FIGURA 12: Teste cinético - Variação da concentração de frutose pelo tempo.....	68
FIGURA 13: Cromatograma da síntese da dextrana.....	74
FIGURA 14: Teste de adsorção de frutose em meio contendo dextrana.....	76
FIGURA 15: Cromatograma obtido para uma amostra de 20 g de frutose/L após a adsorção na zeólita A de partida.....	78
FIGURA 16: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 207$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 131$ g de frutose/L de solução).....	90
FIGURA 17: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 84$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 41$ g de frutose/L de solução).....	90
FIGURA 18: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 810$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 481$ g de frutose/L de solução).....	91
FIGURA 19: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 404$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 187$ g de frutose/L de solução).....	91

FIGURA 20: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 158$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 157$ g de frutose/L de solução).....	92
FIGURA 21: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 135$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 137$ g de frutose/L de solução).....	92
FIGURA 22: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 329$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 336$ g de frutose/L de solução).....	93
FIGURA 23: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 173$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 168$ g de frutose/L de solução).....	93
FIGURA 24: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 162$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 184$ g de frutose/L de solução).....	94
FIGURA 25: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 101$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 55$ g de frutose/L de solução).....	94
FIGURA 26: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 199$ mg de frutose/g de zeólita, $K_d = 188$ g de frutose/L de solução).....	95

- FIGURA 27: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 110$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 62$  g de frutose/L de solução).....95
- FIGURA 28: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 de partida ( $q_m = 62$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 47$  g de frutose/L de solução).....96
- FIGURA 29: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 de partida ( $q_m = 55$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 49$  g de frutose/L de solução).....96

## NOMENCLATURA

<b>a</b>	Constante de interação do sistema polímero-solvente e da temperatura
<b>C*</b>	Concentração de equilíbrio do adsorvato na solução
<b>FRX</b>	Fluorescência de raio-X
<b>K<sub>d</sub></b>	Constante de adsorção
<b>M<sub>n</sub></b>	Peso molecular médio numérico
<b>M<sub>p</sub></b>	Peso molecular médio do pico
<b>M<sub>v</sub></b>	Peso molecular médio viscosimétrico
<b>M<sub>w</sub></b>	Peso molecular médio ponderal
<b>N<sub>Al</sub></b>	Número de alumínio por célula unitária da zeólita
<b>N<sub>Si</sub></b>	Número de silício por célula unitária da zeólita
<b>PST</b>	Porcentagem de sódio trocado
<b>q*</b>	Concentração de equilíbrio do adsorvato no adsorvente
<b>q<sub>m</sub></b>	Capacidade máxima de adsorção
<b>r</b>	Coefficiente de correlação
<b>R</b>	Razão Silício/Alumínio da zeólita
<b>Sg</b>	Área superficial
<b>T<sub>R</sub></b>	Tempo de residência
<b>UDS</b>	Unidade de dextrana-sacarase
<b>UI</b>	Unidade internacional

## RESUMO

A dextrana é um grupo de polissacarídeos de origem bacteriológica, constituída por uma cadeia principal de moléculas de D-glucose unidas por ligações  $\alpha$ -1,6. O grau de ramificação, o peso molecular e outras propriedades da dextrana são muito específicas, variando conforme o microrganismo usado para a produção da dextrana-sacarase. Na produção da dextrana a partir da sacarose, também há a formação de frutose como produto secundário da reação. Diversos trabalhos e algumas patentes têm proposto a separação da mistura dextrana-frutose utilizando resinas de troca iônica. Nenhum trabalho tem sido reportado utilizando zeólitas na separação desta mistura; porém, zeólitas Y na forma cálcica e bária têm sido testadas na separação da mistura glicose-frutose. As zeólitas são aluminossilicatos cristalinos, com estrutura porosa, formada basicamente por tetraedros  $\text{SiO}_4$  e  $(\text{AlO}_4)^-$ . Cada tetraedro  $(\text{AlO}_4)^-$  induz uma carga negativa que é contrabalanceada por um cátion, chamado cátion de compensação, que confere à zeólita diferentes propriedades físico-químicas. Normalmente as zeólitas são sintetizadas com sódio como cátion de compensação e este pode ser trocado posteriormente. O objetivo deste trabalho é verificar o efeito da troca iônica em zeólitas na adsorção da frutose. As zeólitas sofreram trocas iônicas segundo um planejamento experimental tendo como parâmetros o cátion introduzido na troca (cálcio ou bário), o tempo de realização da troca (5 minutos ou 24 horas) e o tipo de zeólita (A e duas zeólitas Y com diferentes razões de silício/alumínio). As trocas iônicas foram realizadas em reator batelada sob agitação. Na primeira fase foram determinadas as isotermas de adsorção de frutose a 30°C para cada zeólita trocada variando a concentração de frutose de 5 a 150 g/L. Observou-se que as isotermas se comportaram como isotermas de Langmuir em concentrações menores que 150 g/L, sendo que as zeólitas Y de maior razão silício/alumínio apresentaram uma maior capacidade de adsorção, seguida pelas zeólita A e a zeólita Y de menor razão silício/alumínio. A capacidade de adsorção também foi maior para as zeólitas que apresentavam o cálcio como cátion trocado. Observou-se ainda que, quanto

maior o tempo de troca iônica maior é a quantidade de cátions trocados pela zeólita e maior é a capacidade de adsorção da frutose. As zeólitas que não foram submetidas à troca iônica apresentaram capacidades de adsorção de frutose bem menores. Com base na análise das isotermas observou-se que a zeólita Y de maior razão silício/alumínio trocada com cálcio durante 24 horas apresentou melhor comportamento com relação à capacidade de adsorção. Com esta zeólita realizou-se um teste de adsorção da frutose num meio contendo a dextrana, verificou-se que houve adsorção da frutose nestas condições , obtendo-se uma relação da ordem de 30 mg de frutose/g de zeólita.

## SUMMARY

Dextran is a polysaccharide group from bacteriological origin, composed by glucose units linked by  $\alpha$ -1,6 bonds. Branching, molecular weight and other properties are very specific and related to the micro-organism used to produce dextranase enzyme. Fructose is obtained as a secondary product by dextranase synthesis from sucrose. Some reported works, many of them as patents, advise to separate fructose from dextran by ion-exchange resins. No article has been shown about fructose separation from dextran by zeolites, however zeolite type Y with Calcium and Barium has been tried in fructose separation from glucose. Zeolites are aluminium silicate with porous structure composed basically by  $\text{SiO}_4$  and  $(\text{Al}_2\text{O}_3)^-$  tetrahedrons. Each tetrahedron induces a negative charge in its structure that is balanced by a cation named compensation cation. It is usually synthesized with Sodium as compensation cation, which can be exchanged afterward. This cation gives zeolites different physical chemistry properties. This work verifies the effects of the ion-exchange in zeolites in the adsorption of fructose. Ion-exchange was carried out in a batch reactor according to experimental designs with the following parameters: cation introduced (Calcium or Barium), exchanging time (5 minutes or 24 hours) and zeolite type (A and two zeolites type Y with different Silicon/Aluminium ratio). At first, were determined adsorption isotherm at  $30^\circ\text{C}$  for each ion-exchanged zeolite with concentration of fructose ranging from 5 to 150 g/L. The isotherm behaved like Langmuir Isotherm in concentration below 150 g/L, and the best capacity of adsorption were found in zeolite Y with the highest Silicon/Aluminium ratio, followed by zeolite A and the other zeolite Y with lower ratio. The best capacity of adsorption was also obtained by zeolites exchanged with Calcium. The research showed that the longer the exchanging time were, the more cation were exchanged and the higher were the capacity of adsorption. Zeolites that were not ion-exchanged showed lower capacity of adsorption. The highest capacity of adsorption was found in zeolite type Y with highest Silicon/Aluminium ratio and exchanged with Calcium. This zeolite was tried in the adsorption of fructose from

dextran production medium. It was verified that this zeolite adsorbed fructose from dextran medium in the ratio of about 30 mg fructose/g zeolite.

## 1 - Introdução

A utilização da frutose como fonte de carboidrato para o ser humano tornou-se importante na década de 70 com a introdução do xarope com alta concentração de frutose (high-fructose syrups, HFS), derivado inicialmente do amido de milho. Devido às suas propriedades, seu uso se difundiu nas mais diversas indústrias alimentícias, principalmente na indústria de refrigerantes, maior consumidor do HFS. Dentre estas propriedades que favorecem sua utilização industrial destacam-se: doçura relativa (que às vezes pode ser maior do que de outros açúcares, dependendo de sua concentração e estado físico), sinergia com outros açúcares (que promove um aumento da doçura relativa quando em presença de outros adoçantes), higroscopicidade (que favorece a manutenção da umidade de alimentos), redução da atividade de água da solução (que dificulta o crescimento de microrganismos).

O crescente aumento do consumo de frutose (cerca de 1,5 milhões de toneladas por ano, segundo VUILLEUMIER, 1997) tem voltado a atenção de muitos pesquisadores, das mais diversas áreas, em pesquisas envolvendo processos industriais alternativos para a obtenção de frutose, assim como estudos voltados para o metabolismo, absorção e possíveis efeitos do consumo de frutose pelo homem.

Os processos industriais mais comuns na obtenção do HFS, principal produto que contém frutose, utilizam o amido de milho ou o açúcar invertido como matéria-prima para a produção. Porém na produção da dextrana a partir da sacarose, também há a formação de frutose como produto secundário da reação. Devidos às grandes diferenças estruturais entre a dextrana e a frutose, sua separação é aparentemente facilitada. Pouquíssimos trabalhos relatam a recuperação da frutose obtida nesta reação, que tornaria não somente a dextrana mas também a frutose um produto muito importante da reação.

A dextrana é um grupo de polissacarídeos de origem bacteriológica, constituída por uma cadeia principal de moléculas de D-glucose unidas por ligações  $\alpha$ -1,6. O grau de ramificação, o peso molecular e outras propriedades da dextrana são muito específicas, variando conforme o microrganismo usado para a produção da dextrana-sacarase. As aplicações da dextrana estão relacionadas com seu peso molecular, se este for superior a 25 milhões de daltons, pode ser empregada na extração do petróleo como agente de impermeabilização, ou ainda na recuperação secundária de petróleo de alta viscosidade. A dextrana de peso molecular médio (faixa entre 20 000 e 100 000 daltons) é usada na indústria de alimentos como agente de textura, estabilizante e geleificante. Na indústria farmacêutica como substância de encapsulação e vetor de medicamentos; na indústria química tem seu uso na purificação de produtos biológicos (géis para enchimento de colunas cromatográficas). A dextrana de baixo peso molecular (faixa entre 10 000 e 20 000 daltons) é usada na indústria farmacêutica como substituta do plasma sanguíneo ou com a finalidade de melhorar a fluidez do sangue prevenindo a obstrução dos capilares. Existem ainda alguns derivados da dextrana com importantes aplicações, como a dextrana-sulfato com propriedades anticoagulantes e a dextrana-ferro, usada no tratamento de anemias de humanos. Vários outros usos têm sido propostos, entre eles no tratamento da AIDS.

Diversos trabalhos e algumas patentes têm sido propostos para separar a mistura dextrana-frutose utilizando resinas de troca iônica. As resinas mais utilizadas são KORELA VO&C (na forma cálcica), ZEROLIT SRC14 (na forma cálcica) e a DOWEX 1-X\* (na forma bissulfito). Nenhum trabalho têm sido reportado utilizando zeólitas na separação desta mistura, porém zeólitas Y na forma cálcica e bária têm sido testadas na separação da mistura glucose-frutose.

O objetivo deste trabalho é verificar o efeito da troca iônica em zeólitas na adsorção da frutose e assim selecionar a zeólita mais adequada a ser utilizada na separação da frutose presente no meio de síntese da dextrana.

Justifica-se este trabalho em função do recente aumento do consumo da frutose, seu alto valor de mercado, a obtenção de uma dextrana isenta de frutose e a transformação de um produto secundário de uma reação em um produto primário. O uso da zeólita facilita a compreensão do fenômeno de adsorção, uma vez que se conhece sua estrutura e composição, o que a torna uma vantagem em relação às resinas, que na maioria das vezes, não se tem informações a respeito de sua estrutura.

## 2 - Revisão Bibliográfica e Fundamentação Teórica

### 2.1 - Frutose

A frutose é um monossacarídeo, que no estado cristalino, encontra-se na forma  $\beta$ -D-frutopiranosose. É encontrada em muitas frutas (Tabela 01), razão pela qual recebe este nome, e ainda em alguns legumes. Ela ainda é constituinte normal do sangue (0,5-5,0 mg/100 mL de sangue), do líquido seminal e do líquido amniótico. Na maioria das dietas normais a frutose constitui cerca de 15 a 50 % dos carboidratos ingeridos. Quando dissolvida em água a frutose resulta em uma mistura complexa de isômeros em equilíbrio, como  $\alpha$ -D-frutopiranosose,  $\beta$ -D-frutopiranosose,  $\alpha$ -D-frutofuranose e  $\beta$ -D-frutofuranose. A proporção relativa destas diferentes substâncias formadas pela frutose em solução pode variar com a temperatura, pH e outros fatores. Este fenômeno de mutarrotação é resultado de uma rápida interconversão piranosose-furanose, representado na Figura 01 (PAWAN, 1973).

TABELA 01: Porcentagem de frutose e glicose em vegetais.

	Glicose (%)	Frutose (%)
Maçã	1,1-1,7	6,0-6,1
Banana	5,8	3,8
Amora preta	2,5-3,3	2,2-2,9
Uva	6,8-8,8	7,2-7,8
Pêra	1,0-2,4	6,7-7,0
Cereja (doce)	4,7-6,5	7,2-7,4
Tomate	1,1	1,3
Cenoura	0,25	0,46
Alface	0,85	0,85

Fonte: SCHNEIDER, 1996

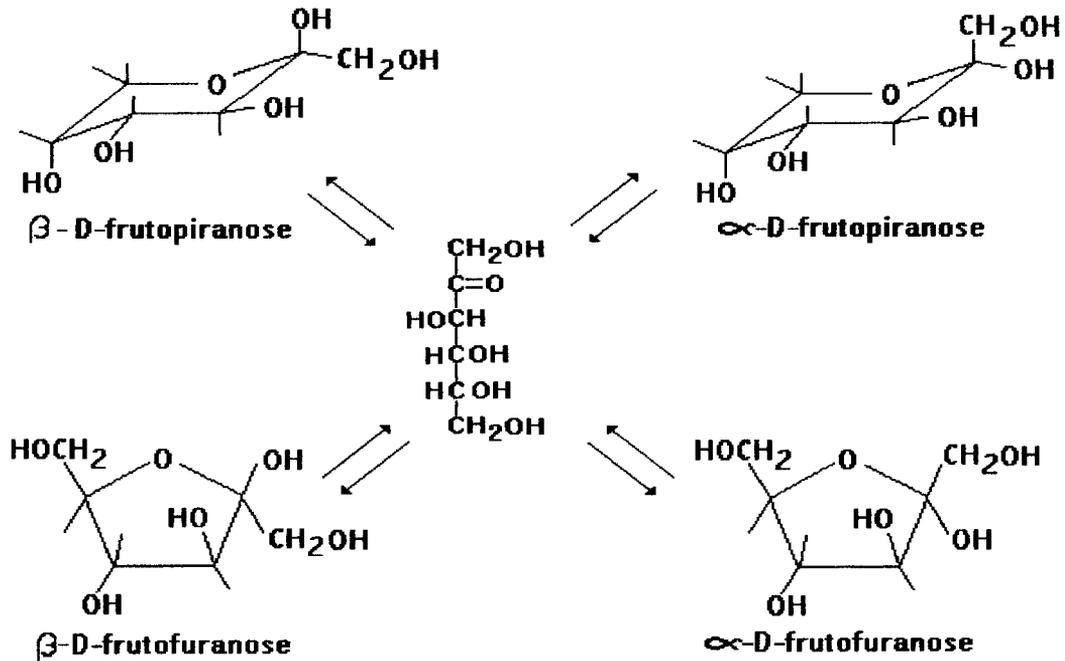


FIGURA 01: Formas tautoméricas da D-frutose em solução (SCHNEIDER, 1996).

O mecanismo de absorção de frutose pelo organismo humano ainda é desconhecido. Antigos estudos acreditavam que a absorção da frutose no intestino ocorria por difusão passiva. Atualmente não há evidências de um transporte ativo em humanos e por isto aceita-se a hipótese de que a frutose é absorvida pela mucosa intestinal de humanos por difusão facilitada, ou seja, a absorção da frutose é facilitada pela presença da glicose. Este mecanismo de difusão facilitada não é disponível quando a glicose não é ingerida. O transporte ativo da glicose através das células do intestino humano aumenta o fluxo de água pela pressão osmótica e a frutose é arrastada pela água para o interior da célula (RIBY e outros, 1993).

A frutose é capaz de formar complexos com metais e assim afetar a biodisponibilidade de íons metálicos (particularmente cobre, zinco e ferro) essenciais ao corpo humano. Numerosos estudos com animais de diversas espécies são disponíveis porém seus resultados ainda são inconsistentes e altamente variáveis. Em um estudo realizado com grupos de ratos alimentados com amido, frutose e

sacarose, respectivamente, observou-se que os ratos alimentados somente com frutose apresentavam uma redução na biodisponibilidade de cobre. Porém este efeito não foi verificado em porcos e seres humanos (O'DELL, 1993).

### 2.1.1 - Produção e mercado

O principal produto comercial contendo frutose é um xarope (high-fructose syrups, HFS) composto por 42 a 55 % de frutose, e ainda glicose e pequenas quantidades de oligossacarídeos. A produção industrial do HFS foi possível devido ao desenvolvimento das tecnologias de refinação, isomerização e separação ocorridas na década de 60. Somente na década de 80 a frutose cristalina surgiu no mercado devido aos avanços nas tecnologias de cristalização.

O amido de milho é a principal matéria-prima para a produção do HFS devido ao seu baixo custo em muitos países, porém também são usados amidos derivados de arroz, trigo, tapioca e batata.

HANOVER e WHITE (1993) descreveram o processo de produção de HFS em diversas etapas sucessivas:

Extração do amido do milho: nesta etapa há a separação do amido dos demais componentes como óleo, fibras e proteínas, através de operações envolvendo moagem, imersão em água e centrifugação.

Refinação: esta etapa consiste na obtenção do xarope HFS a partir do amido obtido na etapa anterior. Inicialmente o amido é hidrolisado por ácidos ou enzimas como  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase quebrando a cadeia de amido em oligossacarídeos e pequenas quantidades de polissacarídeos de baixo e médio peso molecular. A hidrólise completa do amido é obtida através da enzima amiloglicosidase. O produto obtido desta última hidrólise é utilizado como substrato para a reação de isomerização da

glicose em frutose. A reação de isomerização é realizada através de reatores contendo a enzima glicose-isomerase imobilizada capaz de produzir um xarope com cerca de 42 % de frutose, chamado HFS-42.

Posteriormente, com o aumento do uso do HFS por indústrias de refrigerante, foi necessário o desenvolvimento de um xarope com cerca de 55 % de frutose (HFS-55). Através de um processo de separação cromatográfica do HFS-42, obtém-se um xarope com 90 % de frutose (HFS-90), cujo a demanda comercial não é tão significativa, que é misturado ao HFS-42 para obter o HFS-55. A concentração do HFS-55 é considerada ótima para a indústria de refrigerantes. O HFS-90 ainda pode ser utilizado para a obtenção da frutose cristalina através da cristalização. A Figura 02 representa o processo de refinação para a conversão do amido de milho em HFS.

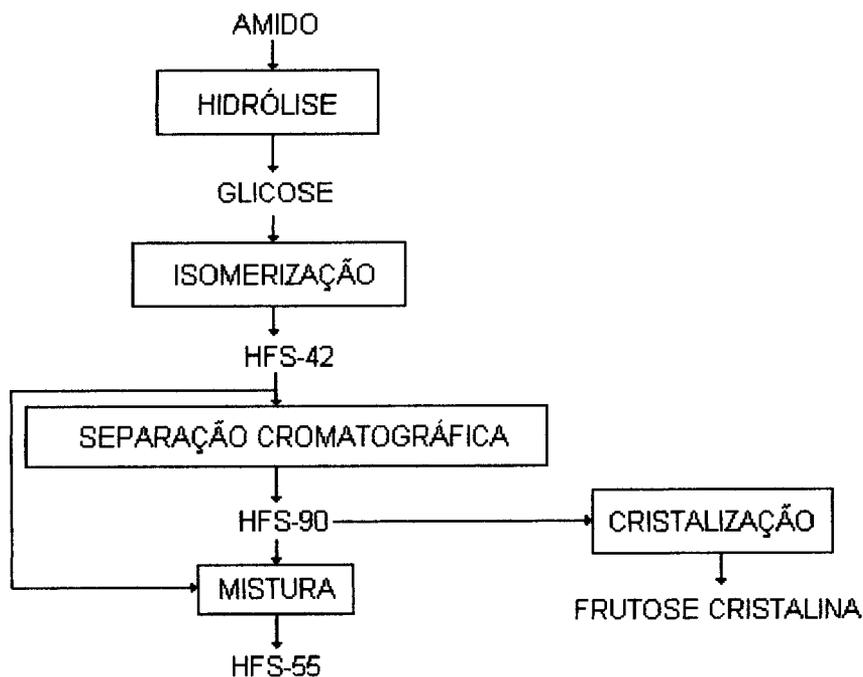


FIGURA 02: Processo de refinação para obtenção do HFS e da frutose cristalina (HANOVER e WHITE, 1993).

A frutose também pode ser obtida a partir do açúcar invertido seguido pelo processo de separação cromatográfica utilizando resinas de troca iônica. A inulina também é utilizada como substrato para produção de frutose sendo encontrada como o principal carboidrato de reserva de plantas como a alcachofra de Jerusalém, chicória e dália. Ela é constituída essencialmente de unidades de frutose e desta forma não é necessário a etapa de isomerização da glicose em frutose mas é necessário fazer a hidrólise através da enzima exo-inulinase (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

O consumo de HFS tem aumentado em cerca de 1,5 milhões de toneladas por ano, sendo que entre os anos de 1975 e 1995 o consumo cresceu de 0,7 milhões para 10,2 milhões de toneladas. Estima-se ainda que o consumo de frutose no ano 2000 será de 13,6 milhões de toneladas. Alguns países possuem um grande potencial de crescimento do consumo de HFS devido a expansão das indústrias de refrigerantes (que consomem cerca de 75% da produção HFS), porque estes países apresentam um consumo per capita muito menor do que o consumo per capita mundial. Apesar de apresentar o segundo maior consumo per capita de refrigerantes do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos (maior produtor de HFS), o México apresenta um grande potencial de crescimento do consumo de HFS pelas indústrias de refrigerantes. Suas condições climáticas, a pobre qualidade da água potável e a população extremamente jovem dão ao México um grande potencial de crescimento do consumo de HFS (VUILLEUMIER, 1997).

Na América do Sul somente a Argentina e o Uruguai produzem o HFS. O Uruguai possui apenas uma pequena planta de produção de HFS capaz de suprir parte da demanda de HFS. O potencial crescimento de consumo de HFS na Argentina tem se mostrado favorável devido ao aumento do consumo de refrigerantes (VUILLEUMIER, 1993).

Os Estados Unidos também são os maiores produtores de frutose cristalina que é usada principalmente como adoçante em pó e na produção de alguns produtos como balas, geléias e pós para sucos. No ano de 1992 a produção estimada de frutose cristalina foi de 54,4 milhões de kg secos. Alguns países europeus e o Japão também produzem a frutose cristalina, mas em quantidades muito menores (VUILLEUMIER, 1993).

### 2.1.2 - Propriedades da frutose

O uso da frutose nas indústrias alimentícias e de refrigerantes deve-se principalmente às suas propriedades químicas e físicas. A principal propriedade da frutose é sua doçura relativa. Observa-se pela Tabela 02 que a doçura relativa da frutose é de 117 em uma escala onde a doçura relativa da sacarose é fixada em 100. O HFS-55 e a sacarose apresentam praticamente a mesma doçura relativa.

TABELA 02: Doçura de alguns adoçantes em relação à sacarose.

Adoçante	Doçura relativa
50 % frutose + 50 % sacarose	128
Frutose	117
Açúcar invertido	109
HFS-90	106
Sacarose	100
HFS-55	99
HFS-42	92
Glicose	67
Xarope com 95 % de glicose	63
Xarope com 63 % de glicose	45

Fonte: HANNOVER e WHITE, 1993.

A doçura da frutose depende ainda do sistema em que ela se encontra, ou seja, algumas variáveis alteram o equilíbrio das reações de mutarrotação que formam os 4 anômeros da frutose. Estes anômeros apresentam doçuras relativas diferentes sendo o anômero  $\beta$ -D-frutopirranose o mais doce. A doçura do sistema aumenta com o decréscimo do pH, da temperatura e do teor de sólidos (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

A frutose apresenta uma sinergia com outros adoçantes presentes no sistema, por exemplo, a mistura de 50 % de frutose + 50 % de sacarose apresenta uma doçura relativa de 128. Mais sinergias similares com adoçantes como aspartame, sacarina e sucralose também são possíveis. A sinergia da frutose possibilita a obtenção de produtos alimentares com maior doçura e também uma redução no custo devido a redução da quantidade de adoçante usado (CÂNDIDO e CAMPOS, 1996).

O perfil de intensidade de doçura da frutose também é diferente de outros açúcares como a sacarose e a glicose, como é observado na Figura 03.

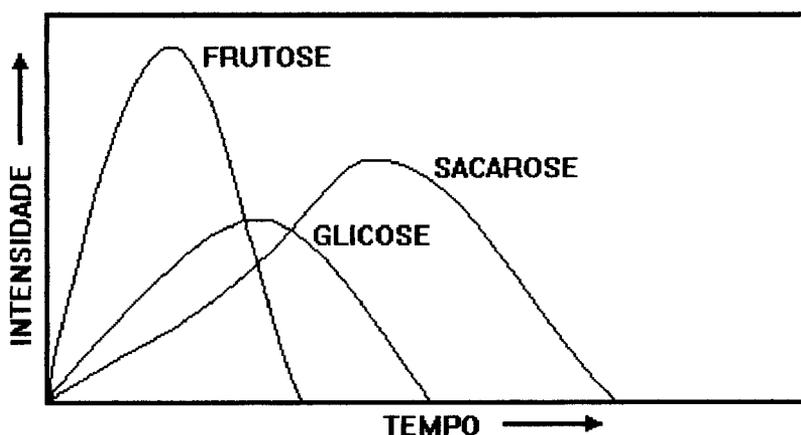


FIGURA 03: Comparação entre os perfis de intensidade de doçura (HANOVER e WHITE, 1993).

A doçura da frutose é percebida em menor tempo que a doçura da sacarose e da glicose fazendo com que a sensação do gosto atinja um pico mais rápido e também diminua mais rápido. Este perfil de intensidade de doçura faz com que a frutose freqüentemente aumente o sabor do sistema, ou seja, não há uma mascaração do sabor. Como a sensação da intensidade da frutose é dissipada rapidamente, é possível sentir mais claramente o sabor de frutas, temperos, ácidos porque este não é mascarado. A sacarose demora mais a ser percebida, porém sua percepção é mais duradoura e a glicose comporta-se como intermediário (HANOVER e WHITE, 1993).

A frutose reduz a atividade de água em alimentos possibilitando uma maior estabilidade ao microrganismo sem que haja remoção da umidade que é necessária à textura dos alimentos. A atividade de água em soluções de frutose é menor que a atividade de água em soluções de açúcares de pesos moleculares maiores nas mesmas concentrações (HANOVER e WHITE, 1993).

A alta solubilidade da frutose dificulta a sua cristalização em sistemas onde ela está muito concentrada e sua propriedade higroscópica favorece a retenção da umidade do alimento por um período maior, melhorando a qualidade, a textura e a vida de prateleira do alimento (HANOVER e WHITE, 1993).

O baixo peso molecular da frutose provoca uma redução na temperatura do ponto de congelamento dos alimentos tornando vantajoso seu uso em sistemas nos quais a formação de cristais de gelo é indesejável. Esta redução é bem maior que de outros dissacarídeos e oligossacarídeos. Sendo a frutose um açúcar redutor, sua presença é importante na clássica reação de Maillard. Esta reação é importante nos processos de panificação sendo a responsável pelo desenvolvimento da coloração castanha da casca do pão (HANOVER e WHITE, 1993).

### 2.1.3 - Aplicações do HFS e da frutose cristalina

A maior aplicação do HFS está na indústria de refrigerantes e mais recentemente a indústria de panificação tem expandido seu uso. Na panificação verifica-se que o HFS além de econômico e de fácil manuseio proporciona uma doçura aproximadamente igual à sacarose. A indústria de refrigerantes é a maior usuária do HFS, em concentrações de 42 a 55 % de frutose. Os refrigerantes “colas” utilizam o ácido fosfórico para acidificá-los, porém, este provoca alterações no sabor que podem ser balanceadas pelo uso do HFS-55 como adoçante. A acidificação dos demais refrigerantes (refrigerantes “não colas”) é feita pela adição de ácidos orgânicos que não provocam alterações significativas no sabor e então utiliza-se HFS-42 como adoçante. O terceiro maior usuário do HFS é a indústria de frutas enlatadas. O HFS-42 é adicionado à calda na qual são imersas as frutas, proporcionando um balanço entre a doçura e o sabor da fruta assim como melhorando a aparência brilhante da fruta quando servida como sobremesa. Outras indústrias que também utilizam o HFS são as indústrias de derivados de leite como iogurtes, leite achocolatado e sorvetes. A frutose proporciona um aumento no sabor além de acelerar a fermentação dos iogurtes e melhorar a viscosidade. Na indústria de geléia a frutose evita a cristalização durante o processo de armazenamento (HANOVER e WHITE, 1993).

O desenvolvimento das tecnologias de cristalização da frutose possibilitaram a comercialização da frutose cristalina em larga escala e a custos menores do que nas décadas passadas e assim sua utilização nas indústrias alimentícias tem aumentado significativamente. Diversas indústrias de produtos como cereais matinais, cereais em barra, bebidas energéticas para esportistas, pó para sucos, iogurtes, leite achocolatado têm utilizado a frutose cristalina na formulação destes alimentos. A frutose cristalina é muito consumida como adoçante por pessoas, em dieta ou preocupadas com a saúde, que são motivadas pelo fato da frutose ser um

adoçante natural com uma doçura relativa maior do que outros açúcares naturais (HANOVER e WHITE, 1993).

## 2.2 - A dextrana

O termo "dextrana" ou "dextranas" é o nome coletivo atribuído à larga classe de polissacarídeos bacterianos extracelulares compostos quase exclusivamente de unidades monoméricas  $\alpha$ -D-glucopiranosose ligadas principalmente por ligações  $\alpha$ -1,6 (ALSOP, 1983). Atualmente sabe-se que a fórmula molecular da dextrana é  $(C_6H_{10}O_5)_n$  (NEELY, 1960). A estrutura básica de sua molécula é apresentada na Figura 04.

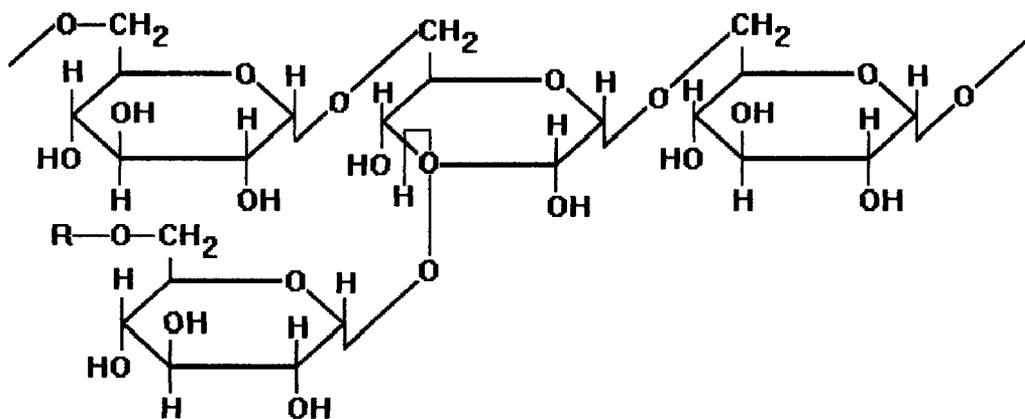


FIGURA 04: Estrutura básica da molécula de dextrana (SANTOS, 1996).

A principal bactéria sintetizadora de dextrana pertence ao gênero *Leuconostoc*, espécie *mesenteroides* e *dextranicum*, grupo *Streptococceae* e família *Lactobacillaceae*. Tais microrganismos têm como característica comum o fato de utilizarem a sacarose como única fonte de carboidratos para a produção do polissacarídeo. Outros açúcares como a glicose, frutose, manose e lactose promovem um crescimento vegetativo da bactéria, mas sem produção da enzima (ALSOP, 1983 e BARKER e AJONGWEN, 1991).

Na década de 40, Hestrin e Avineri-Shapiro denominaram dextrana-sacarase a enzima envolvida na síntese de dextrana (NEELY, 1960). É importante mencionar que a dextrana não é um produto direto da fermentação bacteriana na presença de sacarose, mas provém da ação da enzima dextrana-sacarase (sacarose: 1,6  $\alpha$ -D-glucan 6- $\alpha$ -glucosyl transferase EC 2.4.1.5) produzida pelo microrganismo sobre a sacarose existente no meio.

A dextrana-sacarase é uma enzima extracelular induzida, produzida por bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Lactobacillus* que durante a fase de crescimento secretam a enzima no meio onde o excesso de sacarose é convertido em dextrana. A sacarose é o único substrato conhecido capaz de induzir a produção da enzima (BARKER e AJONGWEN, 1991).

A síntese do polissacarídeo é catalisada pela dextrana-sacarase sem envolver intemediários fosforilados, sendo que a energia requerida para a formação das unidades glicosídicas é obtida pela quebra da molécula de sacarose, ou seja, pela hidrólise da ligação entre glicose e frutose. Isto constitui uma diferença fundamental com o mecanismo geral de síntese dos polissacarídeos intracelulares, no qual um considerável número de intermediários são utilizados, como o caso do glicogênio e amido (SABATIE e outros, 1986).

### **2.2.1 - Propriedades e aplicações das dextranas**

A distribuição de peso molecular da dextrana depende das condições de síntese tais como: temperatura, concentração de sacarose e presença de outros açúcares (Robyt citado por BAZÁN, 1993). Quando sintetizada somente com sacarose, denomina-se dextrana nativa e apresenta um peso molecular médio entre 30 e 90 milhões de daltons e alta viscosidade. Baixos pesos moleculares são obtidos

na presença de outros açúcares (aceptores), como maltose, isomaltose, etc; ou pela hidrólise da dextrana nativa (BAZÁN, 1993).

A linhagem do *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 (F) produz uma dextrana completamente solúvel em água, metil sulfóxido, formamida, etilenoglicol, glicerol e hexametilfosforamida. Algumas frações de dextrana possuem um certo grau de cristalização e podem ser solubilizadas pelo aquecimento (DE BELDER, 1987).

A dextrana possui a capacidade de complexar íons metálicos, o que diversifica ainda mais suas aplicações. Esta propriedade está relacionada com os grupos 3-hidroxil das ramificações  $\alpha$ -(1,3), cuja constatação foi feita medindo-se a rotação ótica a 20°C, para dextransas com diferentes porcentagens de ligações  $\alpha$ -(1,3) (Sanford, 1983 citado por BAZÁN, 1993).

As propriedades reológicas da dextrana foram bastante estudadas devido às suas aplicações industriais, por serem de grande importância no controle dos processos produtivos e na determinação do peso molecular médio (CURRALERO, 1993). Uma solução de dextrana com concentrações de até 5% (p/v) apresenta comportamento Newtoniano (Jeanes, 1953 citado por CURRALERO, 1993).

O uso de dextrana se fundamenta em certas características distintas que diferenciam dextransas de outros polissacarídeos utilizados comercialmente. Estas características são afetadas fundamentalmente pelo peso molecular, distribuição de peso molecular, pelo tipo de estrutura e pela solubilidade ou insolubilidade da dextrana em água (JEANES, 1966).

Dextransas de alto peso molecular são antigênicas e causam efeitos colaterais (ALSOP, 1983), enquanto que as de baixo peso molecular são completamente

metabolizadas no organismo e não apresentam efeitos tóxicos ou alérgicos (BAZÁN, 1993).

As dextranas de baixo peso molecular (com peso molecular entre 10 000 e 20 000 daltons) são largamente utilizadas na indústria farmacêutica nas quais frações de vários pesos moleculares e distribuição de pesos moleculares são empregadas como expansores do plasma e auxiliares do fluxo sanguíneo. Estes produtos foram introduzidos pela primeira vez há trinta anos atrás como substitutos do plasma sanguíneo em uma solução salina isotônica a 6% promovendo viscosidade e propriedades coloidais e osmóticas equivalentes às proteínas do plasma (ALSOP, 1983).

São comercializadas de acordo com o peso molecular, sendo a dextrana 70 (peso molecular médio 70 000 daltons) utilizada como expansor do sangue e para manter a pressão arterial em casos de choque por queimaduras ou hemorragias severas, e a dextrana 40 (peso molecular médio 40 000 daltons) empregada com a finalidade de aumentar a fluidez do sangue (ALSOP, 1983).

As soluções de dextrana clínica apresentam as vantagens de serem estáveis à esterilização por calor e à estocagem, independem do tipo sanguíneo, apresentam baixos incidentes de reações adversas e estão livres da transmissão de doenças (JEANES, 1966).

Dentre as dextranas clínicas encontram-se a dextrana-sulfato, a ferro-dextrana e a dextrana hemoglobina. A dextrana-sulfato tem sido utilizada com sucesso como agente anti-coagulante, com propriedades semelhantes à heparina. Recentemente têm sido investigadas suas propriedades anti-virais, inclusive contra o vírus HIV (CURRALERO, 1993). A ferro-dextrana, complexo preparado de dextrana de peso molecular 5 000, é usada no tratamento da deficiência de ferro (DE BELDER, 1987), particularmente para o tratamento de anemia em animais e

seres humanos (ALSOP, 1983). Soluções preparadas de dextrana-hemoglobina são utilizadas como substitutos do sangue atuando como expansor do plasma e agindo na transferência de oxigênio (ALSOP, 1983).

A dextrana de peso molecular médio (entre 20 000 e 100 000 daltons) é utilizada também nas indústrias de alimentos e química. Na indústria química é usada com sucesso na produção de peneiras moleculares e os produtos mais conhecidos são SEPHADEX e DEAE-DEXTRANA. Na indústria de alimentos é aplicada como agente geleificante em gomas de mascar, como inibidor de cristalização em sorvetes, homogeneizador e espessante em doces e xaropes (BAZÁN, 1993). Encontra também usos significativos nas indústrias de fotografia e produção de cosméticos (ALSOP, 1983).

### **2.2.2 - Produção**

Processo Convencional: A produção de dextrana ocorre diretamente no meio de cultura durante o crescimento do microrganismo *Leuconostoc mesenteroides*. Soluções de açúcar enriquecidas com nutrientes estimuladores de crescimento, tampões e sais minerais são inoculados com a bactéria em um pH próximo ao neutro. Deste modo a fermentação ocorre em três etapas: fase de crescimento dos microrganismos, fase de produção da enzima e fase de reação da enzima com a sacarose para produzir a dextrana. A temperatura aumenta significativamente devido à natureza exotérmica da reação e ocorre uma queda no pH devido à formação de subprodutos ácidos (ALSOP, 1983).

As condições ótimas de pH observadas são diferentes para cada fase do processo de fermentação, tendo sido encontrado pH 7,0 para o crescimento celular, pH entre 6,0 e 6,9 para a produção da enzima e pH 5,2 para a produção de

dextrana. Embora ocorram essas diferenças, este método foi tido como satisfatório para a produção de dextrana por muitos anos (ALSOP, 1983).

O final da reação se dá entre 18 e 24 horas, atingindo-se máxima viscosidade, pesos moleculares da ordem de 100 milhões de daltons e um rendimento, em relação à sacarose inicial, de aproximadamente 25% (BAZÁN, 1993 e CURRALERO, 1993). A dextrana nativa é extraída do meio através de processos de centrifugação e precipitação com etanol (até 4% v/v) (BAZÁN, 1993). A separação das células é dificultada pela alta viscosidade presente.

Processo Enzimático: Numa primeira etapa de fermentação, a enzima dextrana-sacarase é produzida pelo microrganismo *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512(F). A enzima produzida, na sua forma bruta ou purificada, é então utilizada na síntese "in vitro" da dextrana. A síntese "in vitro" apresenta um grande potencial econômico por ser a dextrana-sacarase uma enzima extracelular, sem intermediários fosforilados, não sendo necessária energia adicional para sintetizar dextrana e por ser uma reação irreversível (BAZÁN, 1993).

As vantagens do processo enzimático em relação ao processo convencional são mencionadas por CURRALERO (1993):

- **Maior rendimento**: o rendimento teórico da síntese enzimática é de 100%, já que não há consumo de sacarose no crescimento microbiano. Em condições industriais, com concentrações de sacarose abaixo de 10%, a produção fica pouco abaixo do valor teórico.
- **Purificação simplificada**: no processo enzimático não ocorre aumento da viscosidade como no convencional, já que a produção de dextrana nativa, causadora de alta viscosidade ocorre em meio já livre de microrganismos, não sendo necessária a separação das células.
- **Melhores condições de controle**: no processo tradicional ocorrem simultaneamente três etapas - crescimento celular (pH ótimo 7,0), produção de dextrana-sacarase

(pH ótimo 6,0 a 6,9) e síntese de dextrana (pH ótimo 5,2); além das condições de temperatura e concentração de sacarose ótimas distintas. Este fato dificulta o controle, uma vez que as condições são transitoriamente ótimas para cada processo. No processo enzimático o controle, a otimização da fermentação e da síntese são facilitados.

Segundo MATHIAS e outros (1993) a formação de produtos secundários da reação de polimerização (como leucrose) da sacarose pela enzima dextrana-sacarase foi observado pela primeira vez por Stodola em 1952.

A distribuição de pesos moleculares e rendimento de dextrana sintetizada por dextrana-sacarase dependem, primordialmente, da concentração inicial de sacarose. Um aumento de 2% para 20% na concentração de sacarose aumenta a quantidade de monossacarídeos formados, principalmente a frutose. A quantidade de dissacarídeos (principalmente leucrose) aumenta consideravelmente e a quantidade de dextrana de baixo peso molecular incluindo oligossacarídeos, aumenta principalmente acima de 10% de sacarose. Como consequência disto o rendimento em dextranas de alto peso molecular decresce drasticamente (ALSOP, 1983).

### **2.2.3 - Redução do peso molecular**

Para a obtenção da dextrana a ser utilizada em produtos farmacêuticos e industriais faz-se a redução do peso molecular da dextrana nativa. Dentre os métodos de redução do peso molecular estão: hidrólise ácida, hidrólise enzimática e clivagem por ultrassom (ALSOP, 1983). As principais vantagens da hidrólise ácida são a facilidade no controle, possibilidade de utilização de dextrana nativa úmida ou mesmo não isolada e a não exigência de equipamentos sofisticados (CURRALERO, 1993).

### 2.2.4 - Fracionamento

A distribuição de peso molecular do hidrolisado pode ser rapidamente verificada por cromatografia de permeação em gel e a hidrólise pode ser finalizada quando o resultado mostrar o máximo número de moléculas na faixa de peso molecular desejada, como por exemplo de 10 000 a 100 000 daltons para a dextrana clínica 40 (ALSOP, 1983).

### 2.2.5 - Caracterização do peso molecular

Segundo SANTOS (1996) os polímeros não são produtos homogêneos no que se refere ao peso molecular, mas sim, apresentam uma mistura de moléculas de pesos moleculares variados, a polimolecularidade. Para a caracterização da amostra é necessário o conhecimento da distribuição de pesos moleculares e o peso molecular médio do produto. Os três principais tipos de peso molecular mais referidos na literatura são: peso molecular numérico médio ( $M_n$ ); peso molecular ponderal médio ( $M_w$ ) e peso molecular viscosimétrico médio ( $M_v$ ).

a) Peso molecular numérico médio ( $M_n$ )

$$M_n = \left( \sum_{i=1} n_i M_i \right) / \sum_{i=1} n_i \quad (01)$$

onde:  $M_i$  é o peso molecular de moléculas de classe  $i$

$n_i$  é o número de moléculas de classe  $i$

O peso molecular numérico médio (equação 01) depende do número de moléculas com determinado peso, e é geralmente obtido através de osmometria de membrana, osmometria de pressão de vapor e análise de grupos terminais.

b) Peso molecular ponderal médio ( $M_w$ )

$$M_w = ( \sum_{i=1} n_i M_i^2 ) / ( \sum_{i=1} n_i M_i ) \quad (02)$$

O peso molecular ponderal médio (equação 02) depende do número e do peso das moléculas presentes na solução do polímero. É obtido principalmente por espalhamento de luz de laser.

c) Peso molecular viscosimétrico médio ( $M_v$ )

$$M_v = [ ( \sum_{i=1} n_i M_i^{1+a} ) ]^{1/a} / ( \sum_{i=1} n_i M_i ) \quad (03)$$

onde: a é constante que depende do sistema polímero-solvente e da temperatura; quando  $a = 1$ ,  $M_v = M_w$

O peso molecular viscosimétrico médio se baseia na propriedade dos polímeros de produzirem soluções viscosas mesmo a grandes diluições, sendo determinado por viscosimetria. Este depende do espaço ocupado pelas macromoléculas, causando resistência ao escoamento, e são fatores importantes não apenas o número e o peso das moléculas, mas também a sua forma na solução. As interações polímero-solvente afetam os resultados obtidos.

## 2.3 - As zeólitas

### 2.3.1. Histórico das zeólitas

O termo zeólita foi criado no século XVIII, quando constatou-se que determinados minerais submetidos à calcinação a elevadas temperaturas pareciam

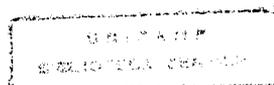
fundir-se e ferver com liberação de vapor de água. Designou-se zeólitas por composição das palavras gregas “zein” (ferver) e “lithos” (pedra).

Os primeiros trabalhos realizados com zeólitas, no final do século passado, foram em adsorção e troca iônica. Até então eram consideradas “curiosidades mineralógicas”. Surgiram muitos trabalhos com zeólitas naturais, para satisfazer a pesquisadores e interesses industriais, e em 1948 foram produzidas em laboratório as primeiras zeólitas sintéticas.

Em 1954 as zeólitas sintéticas começaram a ser utilizadas, como adsorventes e peneiras moleculares, em processos industriais de separação e purificação de gases. A mais importante aplicação de zeólitas em catálise heterogênea iniciou-se em 1962 no craqueamento catalítico do petróleo para produção de gasolina, as zeólitas substituíram os clássicos catalisadores de sílica-alumina amorfa.

### **2.3.2 - A estrutura das zeólitas**

As zeólitas são aluminossilicatos cristalinos com estrutura tridimensional composta por canais e cavidades com dimensões comparáveis às moléculas orgânicas. Os elementos estruturais básicos das zeólitas são os tetraedros  $TO_4$  (onde o átomo “T” pode ser Al, Si, Ga, Ge....). Cada átomo T localiza-se no centro do tetraedro e os átomos de oxigênio no vértice dos tetraedros. Estes são unidos entre si pelo átomo de oxigênio, ou seja, cada átomo de oxigênio é compartilhado por dois tetraedros. Os tetraedros  $TO_4$  são chamados de unidades de construção primária da zeólita. Estes tetraedros se combinam formando as SBU's (secondary building units), ou unidades de construção secundária. As unidades de construção secundária mais simples são o anel de quatro tetraedros (4-ring) e de seis tetraedros (6-ring). Em alguns casos, a estrutura da zeólita pode ser considerada em termos de unidades de poliedros, tal como o octaedro truncado. A Figura 05 apresenta as



diversas formas das SBU's, onde os vértices das estruturas representam átomos T's, e o ponto médio das arestas representam átomos de oxigênio.

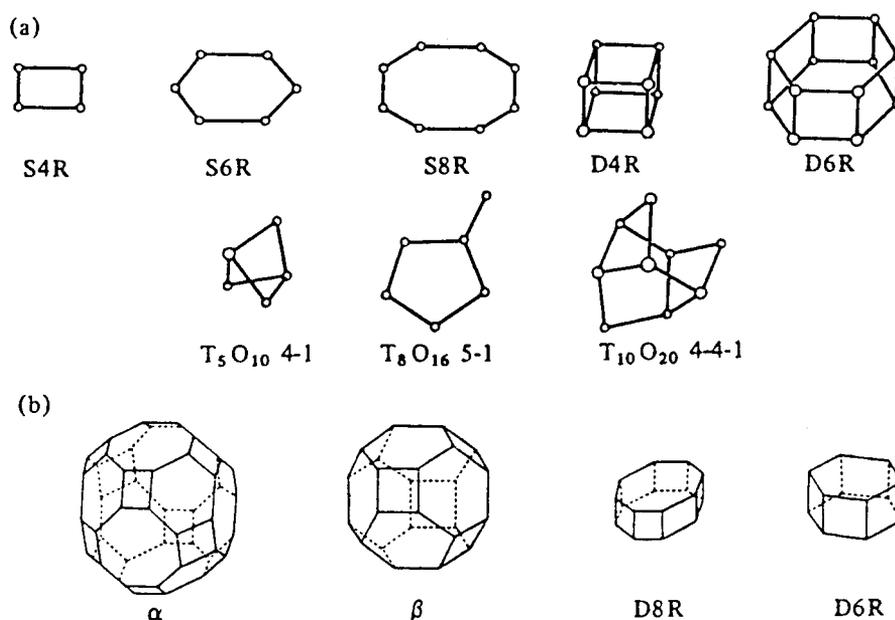


FIGURA 05: Unidades de construção secundária das zeólitas, SBU (BRECK, 1974).

As zeólitas A, X e Y apresentam estruturas formadas pela união de octaedros truncados ( $\beta$ -cages) característico de estruturas sodalitas.

No caso da zeólita Y, os átomos T's podem ser silício ou alumínio. As zeólitas X são idênticas estruturalmente às zeólitas Y, porém a relação silício/alumínio da zeólita X varia de 1 a 1,5. Já a zeólita Y apresenta esta relação maior que 1,5. Encontra-se na natureza a zeólita Faujasita que é análoga estruturalmente à zeólita Y.

Segundo BRECK (1974) a estrutura da zeólita pode ser representada por:



onde M é o cátion de compensação cuja valência é n;

x + y é o número total de tetraedros na célula unitária da zeólita.

Define-se como célula unitária a menor estrutura capaz de representar a zeólita em questão, ou seja, é a estrutura básica que se repete ao longo do cristal. O número total de tetraedros na célula unitária da zeólita Y é 192, e o número de alumínio por célula unitária está relacionado com a razão silício/alumínio (R), segundo a equação 05:

$$N_{Al} = \frac{192}{1 + R} \quad \text{onde} \quad R = \frac{N_{Al}}{N_{Si}} \quad (05)$$

sendo que R é maior ou igual a 1,5 para zeólitas Y.

A zeólita Y apresenta uma estrutura microporosa formada por canais e cavidades interligados, por isso possui uma área superficial interna muito grande em relação à área superficial externa. Esta estrutura possibilita a transferência de matéria entre o espaço intracristalino e o meio. Esta transferência é limitada pelo diâmetro dos poros da zeólita assim como pelo diâmetro da molécula. Só podem entrar e sair do espaço cristalino as moléculas com dimensões menores a um valor crítico (GIANNETTO, 1990).

A célula unitária cúbica da zeólita Y é caracterizada por oito octaedros truncados (sodalita ou cavidade beta,  $\beta$ -cage) conectados por meio de 16 prismas hexagonais (double 6-ring, D6R) pela união das faces hexagonais destes octaedros, formando assim uma grande cavidade com aproximadamente 13,7 Å de diâmetro livre (super-cavidade ou cavidade alfa,  $\alpha$ -cage). Os pontos médios das arestas dos octaedros representam os átomos de oxigênio. A estrutura zeolítica confere à zeólita diversas características que influenciam nas suas diferentes propriedades e aplicações (BRECK, 1974).

As zeólitas A podem ser descritas em termo de dois tipos de poliedros: um é o simples arranjo cúbico de oito tetraedros, as estruturas D4R (double 4-ring); o outro é um octaedro truncado de 24 tetraedros ou  $\beta$ -cages. Os octaedros truncados são ligados uns aos outros por intermédio das estruturas D4R. Desta forma os octaedros ocupam cada vértice da estrutura cúbica, formando no interior do cubo uma cavidade com um diâmetro livre de 11,4 Å. O diâmetro livre das cavidades  $\beta$ -cages é de 6,6 Å (BRECK, 1974).

A célula unitária da zeólita A contém 192 tetraedros  $TO_4$  (96 tetraedros  $SiO_4$  e 96 tetraedros  $(AlO_4)^-$ ). Normalmente a zeólita A é sintetizada na forma sódica, outras formas podem ser preparadas pela troca iônica em solução. A troca iônica provoca alterações no tamanho de poro da zeólita. As zeólitas A podem ser classificadas segundo seus cátions de compensação em 3A, 4A e 5A que apresentam como cátion de compensação, respectivamente, potássio, sódio e cálcio e diâmetros, respectivamente, de 3,2 Å, 4,2 Å e 5,2 Å. A estrutura da zeólita A e Y estão representadas na Figura 06.

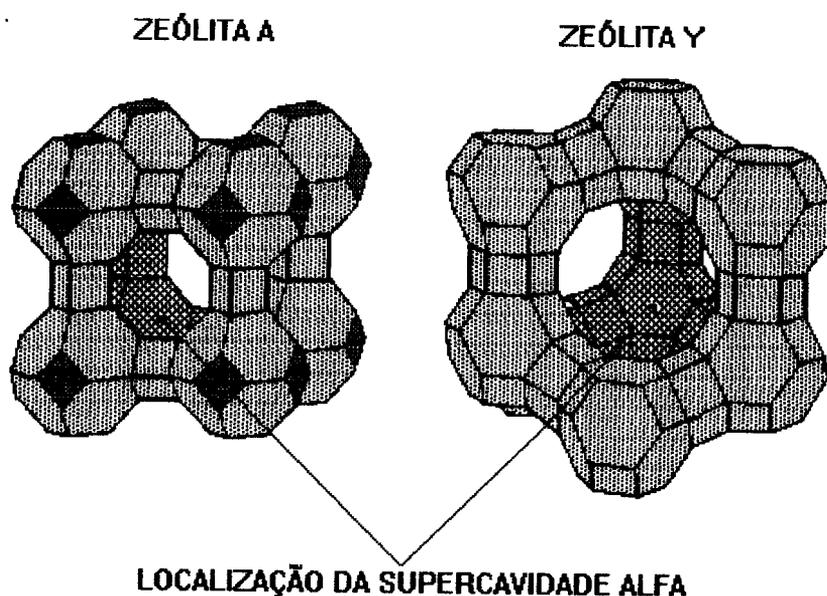


FIGURA 06: Estrutura das Zeólitas A e Y (GIANNETTO, 1990).

### 2.3.3 - Aplicações das zeólitas

As principais aplicações das zeólitas são em adsorção e catálise. A grande aplicação de zeólitas em adsorção deve-se às suas propriedades particulares como:

- seletividade geométrica, a qual permite atuarem como peneiras moleculares;
- elevada capacidade de adsorção a baixa pressão devido às pequenas dimensões dos poros, aumentando a concentração superficial do adsorvido;
- seletividade energética de adsorção, resultante de interações entre as cargas elétricas da estrutura zeolítica e moléculas polares e polarizáveis.

Como adsorventes as zeólitas são utilizadas nas indústrias para secagem, purificação de gases e separação de hidrocarbonetos.

As zeólitas apresentam elevada área específica, canais e cavidades de dimensões moleculares que possibilitam a aplicação em catálise. Apresentam centros ácidos que catalisam reações de craqueamento e isomerização, ou centros metálicos que catalisam reações de hidrogenação.

### 2.3.4 - A relação silício/alumínio da zeólita Y

A relação silício/alumínio da zeólita Y também é de grande importância nas propriedades físico-químicas desta. Outra relação bastante conhecida é a SAR que é a razão sílica/alumina, ou seja,  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ , que é igual a duas vezes a relação silício/alumínio. Zeólitas com diferentes SAR apresentam propriedades diferentes como, hidrofília, capacidade de troca iônica e estabilidade térmica. A zeólita pode sofrer um processo de desaluminização, que é a retirada de alumínio da rede cristalina através da passagem de vapor de água a altas temperaturas em um leito de zeólita. Também é possível inserir novamente os átomos de alumínio na rede

cristalina. Zeólitas desaluminizadas e realuminizadas apresentam propriedades bastante diferentes.

### **2.3.5 - Os cátions de compensação das zeólitas**

Os tetraedros  $(AlO_4)^-$  induzem à formação de cargas negativas na estrutura zeolítica, isto porque o número de oxidação do alumínio é +3 e está coordenado por 4 átomos de oxigênio. A carga negativa induzida pelo alumínio é então contrabalanceada por um cátion que é denominado cátion de compensação, que localiza-se nas cavidades e canais da zeólita sem pertencer a sua estrutura cristalina. O cátion de compensação é introduzido durante o processo de síntese da zeólita Y. Geralmente a zeólita Y é sintetizada na forma sódica, ou seja, o cátion de compensação é o sódio, sendo representada por NaY. Desta maneira, para indicar qual o cátion de compensação da zeólita Y adiciona-se o símbolo do cátion antes do Y.

### **2.3.6 - Troca iônica**

O cátion de compensação atribui diversas propriedades à zeólita, assim, realizando-se a troca deste cátion é possível modificar suas propriedades. As propriedades que podem ser modificadas são muitas, como acidez, capacidade de adsorção, seletividade, área superficial, estabilidade térmica, atividade catalítica, abertura de poros. A troca iônica ocorre devido a mobilidade dos cátions de compensação no interior das cavidades e canais zeolíticos.

A troca iônica com alcalinos terrosos e terras raras aumenta a resistência da zeólita, sua vida útil e atividade catalítica, sendo utilizada na preparação de

catalisadores específicos. Segundo BRECK (1974) o processo de troca iônica pode ser representado pela equação 06.



onde  $Z_A$  e  $Z_B$  são as cargas dos cátions  $A$  e  $B$  envolvidos na troca e os índices  $z$  e  $s$  referem-se à zeólita e solução respectivamente.

O equilíbrio que se estabelece entre os cátions de troca é proposto por BRECK (1974). Em sua teoria sobre a troca iônica, assume-se que a troca não é completa. SHERRY (1968) apresenta a isoterma de troca do sódio pelo cálcio em zeólitas Y, que atinge um patamar da ordem de 70% dos cátions trocados.

A troca iônica é controlada pela difusão do íon no interior da estrutura zeolítica. O efeito peneira das zeólitas, com relação a vários cátions, tem sido atribuído a diversos mecanismos possíveis: (a) alguns cátions podem ser grandes o suficiente para não entrar nos pequenos canais e cavidades da estrutura zeolítica, ou até mesmo alguns íons que poderiam ser trocados são “fechados” na estrutura durante a síntese; (b) a distribuição das cargas na estrutura zeolítica pode ser desfavorável para o cátion; (c) o tamanho do íon hidratado ou solvatado em solução não aquosa podem influenciar e retardar a troca do cátion.

A troca do sódio incompleta na zeólita Y, é controlada tanto pelo efeito “peneira”, devido ao sistema de canais e cavidades onde a penetração dos íons hidratados requer consideráveis energias de ativação, quanto à incapacidade dos cátions introduzidos de ocupar precisamente o mesmo lugar antes ocupado pelo íon trocado na zeólita. A troca é também governada pela capacidade de coordenação do íon metálico com os oxigênios da rede cristalina.

## 2.4 - A separação da frutose

No processo de obtenção da dextrana, após a hidrólise ácida e precipitação seletiva para obtenção do polissacarídeo, obtém-se uma solução de açúcares, contendo considerável quantidade de frutose, leucrose, sacarose e outros oligossacarídeos. A separação desses açúcares é de grande interesse para as indústrias devido ao valor comercial atribuído a estes e várias técnicas cromatográficas podem ser utilizadas neste processo.

Muitos estudos foram realizados com relação à utilização de processos cromatográficos para a separação de frutose, escolha de resinas para o empacotamento de colunas e condições de operação dos sistemas.

BARKER e GANETSOS (1985) utilizaram um cromatógrafo semi-contínuo com coluna empacotada com resina na forma cálcica (KORELAVO+C), para obter xarope de alto teor de frutose a partir de uma mistura contendo 42% de frutose, 52% de glicose e 6% de maltose e oligossacarídeos. Segundo os pesquisadores, a glicose é adsorvida com menos força e juntamente com maltose e os oligossacarídeos eluem com a fase móvel (água deionizada). A frutose é retida pela resina, pois forma um complexo químico livre com íons cálcio, e é removida por um alto fluxo de água deionizada para obter um produto rico em frutose. O objetivo de obter um mínimo de 90% de frutose no produto rico em frutose e até 7% de impurezas no produto rico em glicose foi atingido.

A dextrana e a frutose foram produzidas pela primeira vez em um reator-separador cromatográfico em batelada, em 1987, por BARKER e ZAFAR. A fase estacionária era formada por uma resina de troca iônica na forma de cálcio, e o eluente foi uma solução diluída de dextrana-sacarase. A separação resultou não só em dextrana pura, mas também em frutose altamente purificada e dextrana com peso molecular diferente do obtido em reatores convencionais. O reator precisou de

um tempo para atingir o estado estacionário, porque uma certa quantidade de enzima é adsorvida na superfície da resina.

VIARD e LAMELOISE (1992) desenvolveram uma metodologia para a modelagem de processos cromatográficos na indústria de alimentos. Isotermas de equilíbrio foram reportadas para a resina de troca iônica tipo gel à base de  $\text{Ca}^{+2}$ , observaram que a retenção da frutose é menor a altas temperaturas. Resinas com diferentes tamanhos de partícula foram utilizadas e concluíram que houve uma concordância satisfatória entre os resultados experimentais e as curvas simuladas. O modelo pode ser usado como um guia na seleção da resina e das condições de operação para a separação cromatográfica dos dois açúcares.

A separação da mistura glicose-frutose em um sistema em contracorrente foi estudada por CHING e outros (1987) em condições similares às condições industriais, na qual a concentração total de açúcar está em torno de 50% p/v. Nestas concentrações é necessário um aumento da temperatura de separação para uma faixa de 55 a 60°C, diminuindo a viscosidade da mistura e a queda de pressão através da coluna, acarretando mudanças na isoterma de equilíbrio. As separações foram feitas em colunas empacotadas com a zeólita CaY e a resina de troca iônica Duolite. As isothermas de equilíbrio apresentaram um desvio da linearidade para ambos os adsorventes, necessitando assim de um ajuste com modelos matemáticos mais sofisticados. Sob determinadas condições foram obtidas separações eficientes e comportamentos similares para ambos os adsorventes, porém com vazões diferentes para cada um deles. Com a resina Duolite foi possível obter maior concentração de frutose no produto extraído o que é vantajoso para o processo de separação. Mas por outro lado a transferência de massa, a cinética, a queda de pressão e o custo favorecem a zeólita CaY.

CHING e outros (1987) pesquisaram o fator de equilíbrio da separação da glicose e frutose e o coeficiente de transferência de massa em uma unidade de

separação cromatográfica em contracorrente utilizando diferentes tipos de adsorventes, como zeólitas CaX, CaY e uma resina trocadora de íons. A zeólita CaX não apresentou seletividade à frutose e nem à glicose. Com relação à zeólita CaY, observaram que esta apresentou uma resistência à transferência de massa consideravelmente menor, e a mistura axial da coluna de adsorção pode ser mantida a um mínimo o que induz a uma redução do volume de adsorvente requerido para uma mesma carga de mistura. Esta redução de volume exige, no entanto, um aumento de vazão de adsorbato para compensar a seletividade menor da zeólita comparada com a seletividade da resina. Finalmente, concluíram que a escolha do adsorvente depende de fatores de custo e durabilidade já que desempenhos idênticos são obtidos em diferentes vazões para cada adsorvente.

CHENG e LEE (1992) estudaram a separação da mistura glicose-frutose em colunas de adsorção empacotadas com zeólitas Y. Os melhores resultados foram obtidos a 40°C. Observaram também, que em temperaturas superiores a 50°C a mistura começa a tornar-se marrom devido às modificações estruturais que dificultam a separação. Com relação à vazão de dessorvente, os melhores resultados foram obtidos às menores vazões e menores razões de quantidade de mistura injetada por vazão de dessorvente. Utilizaram também o etanol (95%) como dessorvente, porém os resultados não foram satisfatórios, e em alguns casos até mesmo nenhuma molécula de glicose ou frutose foi detectada na saída da coluna. Os cátions de compensação da zeólita Y também influenciaram na separação da mistura, sendo que a zeólita BaY apresentou melhor resultado, seguido pelas zeólitas CaY, KY e NaY. Em todas as separações a glicose era eluída antes da frutose, tal fato foi justificado pelas interações entre a zeólita e a mistura. A glicose apresenta um grupo aldeído no topo de sua estrutura e a frutose apresenta um grupo cetona no topo da sua, sendo o dipolo da cetona maior que o dipolo do aldeído isto justifica a maior atração da frutose pela zeólita. As diferentes formas que a glicose e a frutose podem apresentar em solução aquosa também explicam a eluição diferenciada. Segundo os pesquisadores a glicose pode formar em solução

aquosa a  $\alpha$ -D-glicopiranosose e/ou  $\beta$ -D-glicopiranosose, já a frutose pode formar a  $\alpha$ -D-frutofuranose e/ou  $\beta$ -D-frutofuranose, mostradas na Figura 07. Estas estruturas apresentam diferentes tamanhos e estabilidades, sendo que a forma pirano da glicose é mais estável e compacta do que a forma furano da frutose. A combinação dos efeitos de atração da frutose pela zeólita e o tamanho levemente compacto da glicose possibilitam a eluição da glicose antes da frutose. Através de um teste pulso eles obtiveram parâmetros dinâmicos e de equilíbrio que podem ser empregados no projeto, operação e controle da separação.

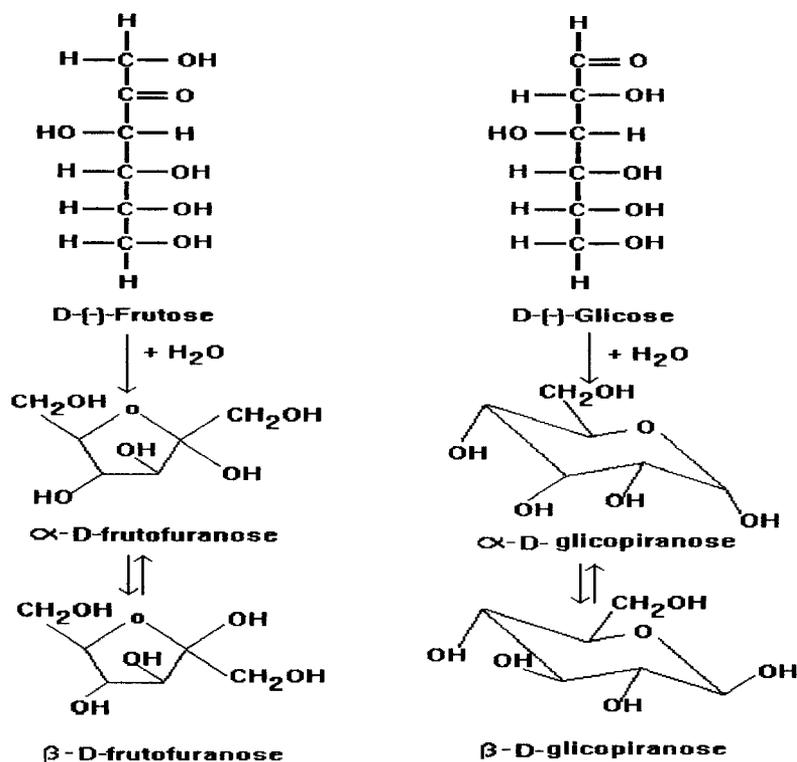


FIGURA 07: Isômeros da glicose e frutose em solução aquosa (CHENG e LEE, 1992).

Um leite móvel simulado empacotado com zeólitas CaY foi utilizado na separação da mistura glicose e frutose por HASHIMOTO e outros (1983). O sistema de separação era composto por um conjunto de colunas de adsorção com duas

correntes de entrada, uma de adsorbato (neste caso foi utilizada a água) e outra da mistura glicose-frutose, e havia também duas correntes de saída, uma corrente rica em glicose e outra rica em frutose. O leito móvel é simulado porque havia um movimento de cada coluna em relação às entradas e saídas do sistema, que são fixas, em tempos determinados sem que houvesse um movimento do sólido adsorvente. Foram propostos dois modelos matemáticos para descrever o sistema, um deles o leito móvel intermitente, onde cada coluna era considerada um leito fixo exceto no momento de rotação da coluna. O outro modelo, o modelo do leito móvel contínuo, baseou-se na hipótese de que as partículas de adsorvente moviam-se continuamente entre as colunas. Ambos os modelos possibilitaram o cálculo do perfil de concentração de glicose e frutose no leito móvel simulado. O modelo intermitente demonstrou ser melhor nos cálculos do perfil de concentração em estado não estacionário, já o modelo contínuo é melhor para o estado estacionário.

## **2.5 - Isoterma de adsorção**

A adsorção é um fenômeno pelo qual moléculas de um soluto em contato com uma fase sólida, um sorvente microcristalino ou resinoso, são atraídas e fixadas na superfície deste sólido em virtude de forças físicas, adsorção física, ou de ligações químicas, adsorção química. A melhor diferenciação destes dois tipos de adsorção é a magnitude do calor de adsorção, que é a energia pela qual as moléculas estão ligadas à fase sólida. Esta ligação varia com a natureza da ligação formada. Na adsorção física as forças das ligações são provenientes de ligações secundárias, tais como, forças de van der Waals, interações dipolo-dipolo e pontes de hidrogênio, não havendo transferência de elétrons entre as fases. A ordem de grandeza da energia livre de adsorção física varia de 8 a 60 kJ/mol. Na adsorção química há a formação de ligações químicas entre o adsorvente e o adsorbato por meio de transferência de elétrons e sua energia de livre varia geralmente de 120 a 420 kJ/mol (FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1987).

FIGUEIREDO e RIBEIRO (1987) classificaram as isotermas de adsorção de gases em sólidos em seis tipos (Figura 08).

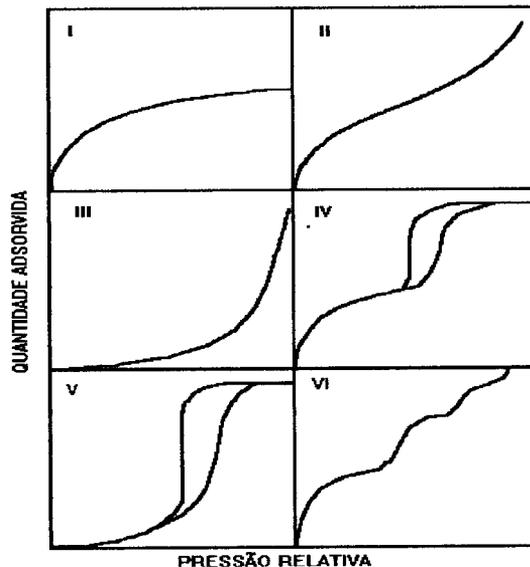


FIGURA 08: Tipos de isotermas de adsorção  
(FIGUEIREDO e RIBEIRO, 1987).

A classificação proposta acima por FIGUEIREDO e RIBEIRO (1987) pode ser estendida a adsorbatos líquidos. As isotermas do tipo I são características de sólidos microporosos com superfícies externas relativamente pequenas (por exemplo, carvões ativos) sendo que a quantidade adsorvida tende a um valor limite. Nas isotermas dos tipos II e III, a quantidade adsorvida tende a um valor infinito, corresponde à adsorção em múltiplas camadas sobrepostas, e ocorre em sólidos não porosos ou macroporosos. As isotermas dos tipos IV e V são obtidas para sólidos que apresentam mesoporos nos quais ocorre o fenômeno de condensação capilar, ou seja, o gás se condensa no interior dos mesoporos (que não ocorre se o adsorbato for líquido). Estes tipos de isotermas correspondem, respectivamente, às isotermas dos tipos II e III, que não apresentam condensação capilar e histerese. As isotermas do tipo VI (em degraus) ocorrem em superfícies uniformes não porosas, e

representa uma adsorção camada a camada, onde a altura do degrau corresponde à capacidade da monocamada em cada camada adsorvida.

### 2.5.1 - Isoterma de Langmuir

Segundo Langmuir as forças que atuam na adsorção são similares às aquelas que envolvem combinação química e baseia-se nos seguintes princípios:

- O sistema é ideal;
- As moléculas adsorvidas aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, formando uma monocamada sobre a superfície homogênea;
- Cada sítio pode acomodar uma, e somente uma, molécula adsorvida;
- A energia da molécula adsorvida é a mesma para todos os sítios da superfície, não havendo interações entre as moléculas.

As taxas de adsorção e dessorção são definidas pelas equações 07 e 08:

$$\text{Taxa de adsorção : } r_{\text{ads}} = k_{\text{ads}} C^* (q_m - q^*) \quad (07)$$

$$\text{Taxa de dessorção : } r_{\text{des}} = k_{\text{des}} q^* \quad (08)$$

onde: número de sítios de adsorção disponíveis =  $q_m$

número de sítios de adsorção ocupados pelo adsorbato =  $q^*$

número de sítios livres =  $q_m - q^*$

constante da reação de adsorção =  $k_{\text{ads}}$

constante da reação de dessorção =  $k_{\text{des}}$

concentração de adsorbato na fase líquida =  $C^*$

No equilíbrio as taxas de adsorção e dessorção são iguais, portanto tem-se:

$$r_{ads} = r_{des} \quad (09)$$

substituindo as equações 07 e 08 na equação 09 obtem-se:

$$k_{ads} C^* (q_m - q^*) = k_{des} q^* \quad (10)$$

rearranjando a equação 10 e definindo  $K_d$  como a razão entre  $k_{des}/k_{ads}$  tem-se:

$$C^* q_m = q^* (K_d + C^*) \quad (11)$$

Escrevendo  $q^*$  em função de  $C^*$  obtem-se a equação da isoterma de Langmuir que pode ser expressa pela equação 12:

$$q^* = \frac{q_m \cdot C^*}{K_d + C^*} \quad (12)$$

Os valores de  $q^*$  e  $q_m$  podem ser expressos em quantidades de adsorbato por grama de adsorvente, desta forma  $q^*$  e  $q_m$  corresponderão, respectivamente, à concentração de adsorbato no adsorvente no equilíbrio e à concentração máxima de adsorbato que pode ser adsorvida. Sendo  $K_d$  a relação entre as constantes de dessorção e adsorção, quanto maior for o seu valor, mais favorável o deslocamento da reação reversível para a dessorção.

A equação de Langmuir é bastante teórica e geralmente falha em muitos casos devido a heterogeneidade da superfície do adsorvente, por exemplo, na adsorção química pode haver diferentes tipos de centros ativos e com diferentes capacidades de adsorção para um determinado composto. Pode haver, e esse é a mais importante, interações entre as moléculas já adsorvidas, dificultando ou facilitando novas adsorções nos sítios.

### 3 - Materiais e Métodos

#### 3.1 - Zeólitas de partida

As zeólitas utilizadas neste trabalho foram de diversas procedências. A zeólita Y (aqui denominada de Y2) foi fornecida pelo CENPES/PETROBRÁS, a zeólita A foi fornecida pela Bayer e com nome comercial de BAYLITH SV-133, e outra zeólita Y (denominada de Y1) foi sintetizada no Laboratório de Catálise do Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá (DEQ/UEM). As composições das zeólitas foram determinadas por fluorescência de raio-X (FRX). A zeólita A, fornecida pela Bayer, apresentava como cátion de compensação o potássio e, portanto, foi submetida a troca iônica com o sódio para que apresentasse o mesmo cátion de compensação que as zeólitas Y de partida. Também foi necessário fazer uma redução do tamanho das partículas por trituração, já que a zeólita A se apresentavam na forma de pequenas esferas de 2 mm de diâmetro.

#### 3.2 - Pré-tratamento da zeólita A: troca iônica do $K^+$ pelo $Na^+$

Inicialmente a zeólita foi triturada com água em um liquidificador industrial para promover a redução do tamanho das partículas, em seguida foi filtrada e seca a 100°C por uma hora. O pré-tratamento consistiu de uma troca iônica, em condições bastante severas, para garantir a troca completa de todos os cátions de potássio por cátions de sódio. A troca completa dos cátions pode ser garantida uma vez que a zeólita A foi sintetizada com sódio e depois trocada por potássio para então ser comercializada. Foram realizadas cinco trocas iônicas sucessivas de 30 minutos cada, em reator batelada a 25°C, utilizando uma solução de NaCl 2 N em uma razão de 1 mL de zeólita/5 mL de solução de NaCl. Após cada troca iônica a zeólita foi filtrada a vácuo e lavada no funil de Büchner com o mesmo volume de solução de NaCl utilizado na troca iônica. Em

seguida foi lavada duas vezes com o mesmo volume anterior de água deionizada. A zeólita foi seca em estufa a 100°C durante uma hora. Repetiu-se este procedimento até que se completassem as cinco trocas iônicas.

### 3.3 - A troca iônica

Sendo a troca iônica um processo extremamente rápido escolheu-se 5 minutos e 24 horas como tempo de troca iônica para garantir que as zeólitas trocadas apresentassem características bastante diferentes após a troca iônica.

Como sal de troca para fornecer os cátions a serem introduzidos na zeólita, foram utilizadas soluções de  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{BaCl}_2$ .

A metodologia de troca foi a mesma utilizada por SILVA e MACHADO (1994). A troca foi realizada em um reator tipo batelada. A quantidade de íon utilizada na troca, foi baseada no número de equivalentes grama em  $\text{Na}_2\text{O}$  presente na zeólita, tomando-se uma razão  $\text{Ca}^{+2}/\text{Na}^+$  (ou  $\text{Ba}^{+2}/\text{Na}^+$ ) de 2. Definiu-se em 15% o teor de sólidos no reator, definido como a razão de massa de zeólita/massa total. A troca consistiu em colocar a zeólita com água em suspensão sob agitação por 1 hora. Ajustou-se o pH entre 5 e 6 com o auxílio de uma solução de HCl 6% p/p. O reator foi colocado em banho termostático a 75°C sob agitação pendular. Adicionou-se a solução do sal de troca, onde a quantidade de água utilizada baseia-se nos cálculos do teor de 15% de massa seca de zeólita na suspensão. Após o tempo de troca (5 minutos ou 24 horas), a suspensão foi filtrada em funil de Büchner. A torta foi lavada duas vezes, a primeira vez com a mesma quantidade do sal utilizado na troca em um volume de água deionizada igual ao do reator, e a segunda lavagem foi realizada com o dobro do volume em água deionizada sem o sal de troca. As lavagens foram realizadas à mesma temperatura da troca. Após a lavagem da torta, secou-se em estufa a 120°C por 24 horas.

Foram realizadas 12 trocas iônicas cujas as condições são apresentadas na Tabela 03.

TABELA 03: Condições das trocas iônicas.

Ensaio	Cátion introduzido na troca iônica	Tempo de troca iônica	Tipo de zeólita
01	Cálcio	5 minutos	A
02	Bário	5 minutos	A
03	Cálcio	24 horas	A
04	Bário	24 horas	A
05	Cálcio	5 minutos	Y1
06	Bário	5 minutos	Y1
07	Cálcio	24 horas	Y1
08	Bário	24 horas	Y1
09	Cálcio	5 minutos	Y2
10	Bário	5 minutos	Y2
11	Cálcio	24 horas	Y2
12	Bário	24 horas	Y2

### 3.4 - Caracterização das zeólitas trocadas

As zeólitas trocadas foram caracterizadas para verificar as mudanças ocorridas na estrutura e que de certa forma resultaram em diferentes comportamentos com relação à adsorção da frutose. Foram caracterizadas por fluorescência de raio-X (FRX), medida de área superficial (B.E.T.), medida de tamanho de partículas por difração de raio laser (Particle Size Diameter, PSD).

### 3.4.1 - Medida de área superficial

Foi utilizado o aparelho CG2000 do DEQ/UEM cujo princípio de funcionamento baseia-se no método B.E.T.. Amostras de aproximadamente 0,1 g foram pré-tratadas a 200°C por 2 horas com fluxo de N<sub>2</sub>, e em seguida fez-se a adsorção do N<sub>2</sub> a baixas pressões e temperaturas. A quantidade de nitrogênio adsorvido relaciona-se com a área superficial da zeólita. Durante a adsorção utilizou-se uma mistura N<sub>2</sub>-He com 10 % de N<sub>2</sub>. Utilizou-se o método dinâmico de medida de área, onde as amostras contidas no fundo de um tubo em "U" são submetidas a um fluxo da mistura de N<sub>2</sub>-He a diversas pressões (P). A análise consistiu em imergir o tubo em "U" em um recipiente contendo o Nitrogênio líquido para diversos valores de P. Após a imersão do tubo há a adsorção do Nitrogênio na amostra e desta maneira há uma variação da concentração de Nitrogênio na saída do tubo. Após a saída do tubo há um detector de condutividade térmica conectado a um integrador que registra um pico proporcional à quantidade de N<sub>2</sub> adsorvido pela amostra naquela pressão. Em seguida fez-se a dessorção do Nitrogênio da amostra imergindo o tubo em "U" em água à temperatura ambiente. Repetiu-se este procedimento para diversas razões de P/Po (P é a pressão do sistema e Po é a pressão de saturação do N<sub>2</sub> nas mesmas condições) menores que 0,3 (condição do modelo de B.E.T). A partir de relações entre a área dos picos e seus valores de P/Po foi possível obter o valor da área superficial.

### 3.4.2 - Fluorescência de raio-X (FRX)

A fluorescência de raio-X foi utilizada para determinar a composição química média das amostras: % de Na<sub>2</sub>O, % de SiO<sub>2</sub> e % de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Utilizou-se um espectrômetro Philips PW1404 da Fábrica Carioca de Catalisadores, com tubo gerador de raio-X de cromo, controlado por

microcomputador pelo software X40 também da Philips, o qual analisa automaticamente a amostra.

A amostra (2,5 g em base seca) foi calcinada a 800°C por 1 hora e resfriada em dessecador. A seguir, 1,5 g da amostra calcinada foi misturada com 6 g de fundente (tetraborato e metaborato de lítio). Adicionou-se ainda cerca de 0,2 g de KI, para facilitar a desmoldagem após a fundição. Esta mistura foi moída em um gral e colocada num cadinho de Pt-Au-Rh, que foi levado a um forno a 1 100°C por cerca de 30 minutos, obteve-se assim a pastilha, que foi analisada no espectrômetro. Foram analisadas as linhas  $K\alpha$  dos elementos Na, Si e Al, obtidas pela excitação das amostras pela radiação gerada a 50 KV e 40 mA.

### **3.4.3 - Diâmetro médio das partículas**

As análises de diâmetro médio das partículas foram realizadas na Fábrica Carioca de Catalisadores utilizando um analisador de partículas Malvern, série 2600, capaz de medir partículas cujos tamanhos estejam na faixa de 0,5 a 564  $\mu\text{m}$ .

O princípio de operação do equipamento baseia-se na difração (espalhamento) de laser. A luz de um laser de He-Ne, de baixa potência, é usada para formar um fecho colimado e monocromático, que é espalhado ao iluminar as partículas suspensas no fluido (no caso, água) que circula pelo sistema de detecção.

A partícula espalha a luz predominantemente em um ângulo preferencial, inversamente proporcional ao seu diâmetro. Os raios, espalhados ou não, incidem sobre uma lente receptora, que forma o padrão de difração em seu plano focal. Neste, um detetor formado por 31 anéis concêntricos semicirculares totaliza a energia luminosa espalhada ao longo de uma faixa de ângulos sólidos.

A luz não espalhada passa por uma pequena abertura no centro do detetor, saindo do sistema óptico, o que permite a determinação da concentração volumétrica da amostra. O sinal é tratado por um software que gera o relatório com a distribuição de freqüência e diâmetros médios.

A suspensão é bombeada pelo sistema a partir de um tanque de aço inox, passando por uma cela de medição de alumínio com janelas de vidros.

Em geral a quantidade de material necessária para proporcionar uma boa medida depende da faixa de tamanho das partículas. Quanto mais fino o pó, tanto menos material será preciso. Como o software indica o nível de sinal gerado pela amostra, o método permite uma larga faixa de concentrações ideais.

### **3.5 - Síntese da dextrana**

Para a obtenção da dextrana foi utilizada a enzima dextrana-sacarase e como substrato a sacarose. A dextrana-sacarase foi produzida por fermentação, utilizando o microrganismo *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512(F), mantido em estoque a -15°C em solução de glicerol a 10% (p/v). As condições de fermentação e o procedimento foram descritos por SANTOS (1996).

#### **3.5.1 - Meio de cultura para a produção da enzima dextrana-sacarase**

##### Meio Padrão

Sacarose (açúcar cristal comercial)	40,0 g/L
Extrato de Levedura (marca DIFCO)	20,0 g/L
Fosfato de Potássio Dibásico (marca Synth, P.A.)	20,0 g/L
Sulfato de Magnésio (marca ECICRA, P.A.)	0,20 g/L
Sulfato de Manganês (marca ECIBRA, P.A.)	0,01 g/L
Sulfato Ferroso (marca MERCK, P.A.)	0,01 g/L

Cloreto de Cálcio (marca ECIBRA, P.A.)	0,02 g/L
Cloreto de Sódio (marca Synth, P.A.)	0,01 g/L
Antiespumante	

Dissolveu-se o açúcar comercial e o extrato de levedura em água, então adicionou-se os oligoelementos e antiespumante suficientes para obter as concentrações desejadas, ajustou-se o pH a 6,7 com HCl 1N. A solução de fosfato foi preparada separadamente e o pH também ajustado a 6,7. Ambas foram esterilizadas separadamente a 121°C por 15 minutos. A solução de fosfato foi esterilizada separadamente para evitar a precipitação do sal constatada experimentalmente quando este sal é autoclavado em presença dos demais componentes do meio.

### **3.5.2 - Preparo do inóculo**

Foram realizadas cinco pré-fermentações para ativar o microrganismo. Na pré-fermentação final foi transferido 10% de inóculo para um frasco contendo  $K_2HPO_4$  e meio padrão. O meio foi incubado a 27°C a 150 rpm por 5 horas.

### **3.5.3 - Composição da alimentação**

O sistema de alimentação escolhido foi o mesmo utilizado por BAZÁN (1993). Uma solução de sacarose 200 g/L e outra de hidróxido de sódio 200 g/L, foram esterilizados separadamente a 121°C por 15 minutos e então misturadas depois de frias, para obter uma solução com concentração final de 160 g/L de sacarose e 40 g/L de hidróxido de sódio 1N.

### **3.5.4 - Fermentação**

A um fermentador BIOFLO III, contendo meio padrão estéril, adicionou-se o inóculo, fazendo a incubação a 27°C com aeração de 0,5 L/min, agitação mecânica de 160 rpm e controle de pH. O pH era mantido em 6,7 pela adição da solução combinada de sacarose e NaOH, preparada de acordo com o item 3.5.3. Esta adição foi feita por um período de aproximadamente 8 horas por meio de uma bomba conectada ao controlador automático de pH. No final da fermentação o pH do caldo fermentado foi acertado para 5,2 com uma solução de HCl 1N.

### **3.5.5 - Purificação da dextrana-sacarase**

O caldo proveniente da fermentação foi centrifugado a 10 000 rpm durante 15 minutos a 2°C para separação das células bacterianas, e o sobrenadante contendo a enzima foi concentrado por ultrafiltração. A enzima presente no filtrado foi precipitada pela adição de um volume igual de solução 50 % de polietilenoglicol 1500 (PEG 1500) e então centrifugada nas mesmas condições anteriores. O precipitado, rico em dextrana-sacarase, foi dissolvido em solução tampão de acetato de sódio 200 mM, pH 5,2 e estocado a -15°C.

### **3.5.6 - A reação enzimática para a produção da dextrana bruta**

A reação de polimerização foi realizada em um reator encamisado a uma temperatura de 20°C e o pH mantido em 5,2, valor este que é o ótimo de atividade e estabilidade da enzima. Para a reação foram adicionados ao reator uma solução de sacarose 100,0 g/L e uma solução de dextrana-sacarase 40 UDS/mL (UDS-unidade de dextrana-sacarase é definida como a quantidade de enzima que converte 1 mg de sacarose em dextrana, em uma hora, liberando

0,52 mg de frutose, em pH 5,2 e temperatura de 30°C). A extensão da reação foi acompanhada pela retirada de amostras do meio reacional em intervalos de 30 minutos para a dosagem de frutose liberada. Cada amostra foi aquecida em banho-maria durante 10 minutos para inativação da enzima e a frutose foi quantificada pelo método DNS (MILLER, 1959). A reação de polimerização foi interrompida quando pelo menos dois valores iguais de concentração de frutose foram obtidos. A mistura reacional foi então estocada a -15°C.

### **3.6 - A adsorção da frutose**

#### **3.6.1 - Cinética da adsorção da frutose**

Foram realizados testes cinéticos de adsorção de frutose para determinação do tempo necessário para atingir o equilíbrio cinético. Os testes foram realizados em reator encamisado a 30°C com agitação magnética, onde 6 g de zeólita foram adicionados a 120 mL de uma solução de 100 g de frutose/L e retiradas amostras de 1 mL em intervalos de tempo determinados: 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20 e 30 minutos. As amostras eram filtradas em um filtro acoplado a uma seringa, utilizando um filtro de membrana de 0,45 µm de abertura de poros. Após a filtração da amostra, esta foi convenientemente diluída e analisou-se a concentração de frutose por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Plotou-se a concentração de frutose em função do tempo, sendo que após o ajuste matemático foi possível obter as constantes da reação de adsorção.

#### **3.6.2 - Isoterma de adsorção de frutose**

Para a obtenção das isotermas foram feitas diversas soluções de frutose com concentrações de 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 150 g de frutose/L. Em diferentes recipientes de vidro foi pesado 1 g de zeólita, adicionou-se 20 mL de

cada solução de frutose e tampou-se o recipiente. Os recipientes foram levados à estufa a 30°C sob agitação de 170 rpm. Após 24 horas, filtrou-se as suspensões para separar a solução de frutose da zeólita, e as amostras filtradas foram analisadas em HPLC para determinar a concentração de frutose.

### **3.6.3 - Teste de adsorção de frutose no meio obtido da reação enzimática da dextrana**

Para a zeólita que obteve a isoterma mais favorável à adsorção da frutose, foi realizado um teste de adsorção da frutose no meio contendo a dextrana. Em diversos recipientes de vidro foram colocados 22 g da mistura obtida na reação enzimática da dextrana. Em cada recipiente foram adicionadas quantidades de zeólita que variaram de 1 a 5 gramas. Os recipientes foram colocados em shaker a 30°C com 250 rpm de agitação. Após 24 horas desligou-se a agitação, para que houvesse a sedimentação da zeólita e deixou-se na estufa a 30°C por mais 48 horas. Após este período as suspensões foram centrifugadas a 10 000 rpm e 30°C, e então o filtrado foi convenientemente diluído e analisado.

## **3.7 - Métodos analíticos**

### **3.7.1 - Determinação de açúcares redutores - Método DNS (MILLER, 1959)**

Misturou-se 1 416 mL de água deionizada, 10,6 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) e 19,8 g de NaOH, dissolveu-se a quente e então adicionou-se 7,6 mL de fenol (fundido a quente a 50°C) e 8,3 g de metabissulfito de sódio.

O método consiste na reação de 1,0 mL de amostra com 1,0 mL do reagente descrito anteriormente, aquecendo-se a 100°C por 5 minutos. Resfria-se imediatamente em solução de gelo e adiciona-se 16 mL de solução de tartarato de sódio e potássio (11,25 g/L). O branco é feito pela substituição da amostra por água deionizada.

A reação do DNS com açúcares redutores produz uma coloração amarela, cuja intensidade é proporcional à concentração de açúcares redutores presentes na amostra. Uma correlação entre a concentração de açúcares redutores (neste caso frutose) e a intensidade da cor amarela (medida pela absorvância) é obtida submetendo soluções de frutose com concentrações conhecidas ao teste e fazendo-se a leitura da absorvância a 540 nm em espectrofotômetro modelo B342 II da Micronal.

### **3.7.2 - Determinação da atividade enzimática da dextrana-sacarase (SANTOS, 1996)**

A atividade enzimática foi determinada no final de cada repicagem, no final da fermentação e após a purificação da dextrana-sacarase. A atividade consiste na velocidade inicial de produção de frutose pela ação da dextrana-sacarase sobre a sacarose em condições controladas.

Em um reator encamisado a 30°C foram adicionados 2 mL de solução de sacarose (600 g/L), 1 mL de solução tampão de acetato de sódio (20 mM de acetato de sódio e 1,2 g de  $\text{CaCl}_2/\text{L}$ ) e 8 mL de água deionizada. Após a adição de 1 mL da amostra de dextrana-sacarase retirou-se amostras de 1 mL a cada três minutos até 12 minutos. Plotou-se a absorvância em função do tempo, e com o valor da inclinação da reta obtida e a curva padrão do DNS determinou-se a atividade enzimática expressa em UDS (unidade de dextrana-sacarase) pela equação 13.

$$Atividade(UDS/mL) = \frac{\alpha \cdot \beta \cdot d \cdot 60}{0,52} \quad (13)$$

onde:  $\alpha$  é o coeficiente angular da curva absorvância em função do tempo

$\beta$  é o coeficiente angular da curva padrão de açúcares redutores

$d$  é a diluição final do reator

A unidade de dextrana-sacarase é definida como a quantidade de enzima que converte 1 mg de sacarose em dextrana, em uma hora, liberando 0,52 mg de frutose, a 30°C e pH igual a 5,2. Uma Unidade Internacional (UI) corresponde a 20,27 UDS.

### 3.7.3 - Análise do peso molecular por cromatografia de permeação em gel (CPG)

Cromatografia de permeação em gel é um método cromatográfico que se baseia na separação física dos componentes de uma mistura que é passada através de uma coluna empacotada com um meio cromatográfico que é um gel. A separação ocorre devido a acessos limitados de moléculas no interior da estrutura porosa do recheio. Assim as moléculas menores, que difundem para o interior do gel, são retardadas na sua passagem pela coluna comparadas às moléculas grandes que não difundem para o interior dos poros e se movem continuamente com o eluente. As moléculas com tamanho intermediário migram com velocidades entre estes dois extremos, com penetração seletiva nos poros, entrando em alguns poros, mas não em todos, e saindo da coluna em ordem relacionada com seus tamanhos efetivos. Desta forma o tempo de residência das espécies moleculares é uma função dos seus tamanhos e de variáveis operacionais. O peso molecular das frações pode ser obtido relacionando o tempo de retenção ao peso molecular quando padrões apropriados são disponíveis para construção da curva de calibração. A curva de calibração estabelece uma relação entre o tempo de retenção e o peso molecular ( $M_w$ ), ou seja, determina-se uma curva de calibração onde  $\log M_w$  é uma função do tempo

de residência ( $T_R$ ). Os pesos moleculares utilizados para obter a curva de calibração devem cobrir o intervalo de pesos moleculares para o qual a curva será válida e suas propriedades devem ser o mais próximas possíveis das propriedades das amostras a serem analisadas.

A cromatografia de permeação em gel foi utilizada para determinar a distribuição de peso molecular das amostras obtidas na síntese da dextrana e após o teste de adsorção de frutose no meio contendo dextrana. Utilizou-se um sistema composto de diversos equipamentos para determinar o peso molecular relativo das amostras e suas quantidades relativas:

- Injetor automático Varian 9095
- Bomba ternária Varian 9010
- Forno Spark Holland 99
- Detetor de índice de refração R14
- Software de aquisição e processamento dos dados: Millenium Chromatography Manager - Waters
- Conjunto de três colunas e uma pré-coluna Varian série Micropack. As colunas foram conectadas em série na seqüência de poro decrescente. A faixa de exclusão de cada coluna utilizada e suas dimensões são mostradas na Tabela 04.

TABELA 04: Características das colunas utilizadas.

Colunas TSK-Gel	Faixa de Exclusão	Comprimento (cm)	Diâmetro (cm)
G 3000 PW	$1 \times 10^5$	30,0	0,75
G 4000 PW	$3 \times 10^5$	30,0	0,75
G 6000 PW	$1 \times 10^7$	30,0	0,75
Pré-coluna	-	7,5	0,75

### **3.7.3.1 - Preparo da fase móvel**

Foi utilizada água ultrapura como eluente, obtida em um sistema de purificação compacto Milli-Q Plus. A água foi degaseificada a vácuo durante uma hora num banho ultra-som Eurosonics modelo SX-20. O frasco contendo a fase móvel foi mantido de 10 a 15 cm acima da entrada da bomba. O fluxo foi aumentado lentamente até 1,0 mL/min. A cada troca da fase móvel o sistema era monitorado pela linha de base obtida no software até conseguir a estabilização do refratômetro.

### **3.7.3.2 - Preparo das amostras e padrões de dextrana**

As amostras foram diluídas em água Milli-Q numa concentração de 0,02% (p/v) e filtradas com filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de abertura de poros. Em seguida eram deixadas em repouso por um período de 16 a 20 horas antes de serem injetadas. Este período de equilíbrio antes da injeção é necessário, para amostras e padrões com peso molecular superior a 200 000 daltons, para permitir que a cadeia do polímero extenda-se para sua conformação de solvatação no solvente.

### **3.7.3.3 - Injeção das amostras no HPLC**

As colunas conectadas em série, na seqüência do poro maior para o menor, têm por finalidade separar inicialmente as moléculas maiores, evitar problemas de viscosidade, e também para que a coluna de menor porosidade fique mais distante da bomba, já que é mais sensível à pressão. As condições de injeção das amostras e dos padrões estão apresentadas na Tabela 05.

TABELA 05: Condições de injeção das amostras de dextrana no HPLC.

Temperatura ambiente	23°C
Temperatura do forno	40°C
Temperatura do detetor de índice de refração	40°C
Volume de injeção	98 µL
Vazão do eluente	1,0 mL/min
Tempo de corrida	35 min

### 3.7.3.4 - Curva de calibração

Foram utilizados padrões de dextrana (American Polymer Standards Corporation) e frutose (Tabela 06). A curva de calibração foi obtida utilizando  $M_w$ ,  $M_n$  e  $M_p$  como parâmetros básicos.

TABELA 06: Pesos moleculares dos padrões utilizados.

Padrão	$M_w$	$M_p$	$M_n$
DXT 11K	11 700	9 900	8 000
DXT 43K	42 750	35 000	28 700
DXT 79K	78 800	68 000	49 400
DXT 165K	165 500	150 000	110 800
DXT 685K	685 000	500 000	380 600
DXT 1750K	1 750 000	1 450 000	1 250 000
DXT 5000K	4 900 000	4 500 000	1 500 000
Frutose	-	180	-

A integração dos picos para cada padrão foi otimizada de tal forma que os pesos moleculares médios fornecidos e aqueles calculados fossem os mais próximos possíveis, sendo que o tipo de regressão para a curva de calibração foi definido com base no melhor coeficiente de regressão obtido. Utilizou-se a

opção “broad standards”, padrões dispersos, para a calibração do software “Millenium”.

### 3.7.3.5 - Quantificação das amostras

Foi utilizado o software “Millenium” para a integração dos cromatogramas e cálculo da distribuição do peso molecular das amostras pela curva de calibração. As porcentagens em cada faixa de peso molecular são apresentadas no capítulo de resultados.

### 3.7.4 - Análise de frutose por HPLC

As análises de frutose para a determinação das isotermas foram realizadas por HPLC utilizando uma coluna SHODEX KS801 e uma pré-coluna de mesmo nome. As condições de injeção das amostras estão apresentadas na Tabela 07. Foi utilizado o mesmo sistema de equipamentos mencionados anteriormente para a cromatografia de permeação em gel.

TABELA 07: Condições de injeção das amostras de frutose no HPLC.

Temperatura ambiente	25°C
Temperatura do forno	60°C
Temperatura do detetor de índice de refração	40°C
Volume de injeção	90 µL
Vazão do eluente	0,70 mL/min
Tempo de corrida	15 min

A fase móvel utilizada também foi a água e para sua preparação utilizou-se a mesma metodologia. A curva de calibração foi obtida utilizando soluções de

frutose (marca MERCK, P.A.) de concentrações 4, 8, 12, 16 e 20 g/L. As amostras foram quantificadas utilizando o software “Millenium”.

#### **3.7.4.1 - Preparo das amostras e padrões de frutose**

As amostras de frutose foram diluídas convenientemente em água Milli-Q de tal forma que suas concentrações estivessem dentro dos limites da curva padrão. Após as diluições as amostras foram filtradas com filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de abertura de poros e injetadas no HPLC.

## 4 - Resultados e Discussões

### 4.1 - As zeólitas de partida

A composição das zeólitas de partida também foram determinadas por fluorescência de raio-X (FRX) e são apresentadas na Tabela 08. Determinou-se ainda a área superficial (Sg) destas zeólitas e seus valores também se encontram na Tabela 08.

TABELA 08: Composições das zeólitas de partida obtidas por FRX e áreas superficiais (Sg).

Zeólita	% Na <sub>2</sub> O	% SiO <sub>2</sub>	% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Si/Al	Sg (m <sup>2</sup> /g)
Y1	17,14	55,98	26,88	1,77	712
Y2	13,65	65,04	21,31	2,59	856
A	18,35	49,01	32,64	1,27	72

Observa-se pela Tabela 08 que a razão silício/alumínio da zeólita A não é igual a 1 (um), o que normalmente é esperado. Sabendo-se que a análise de FRX fornece a quantidade total de silício e alumínio presentes na zeólita e não somente destes elementos presentes na estrutura da zeólita, provavelmente o valor que exceda a 1, corresponda ao silício ou alumínio e silício fora da estrutura cristalina que podem estar presentes nos canais e cavidades da zeólita. Ou ainda este excesso de silício pode estar relacionado com a presença de algum ligante no adsorvente. Uma análise de espectroscopia de infra vermelho possibilitaria a obtenção do valor da razão silício/alumínio presente somente na estrutura da zeólita A.

Também foram realizadas as isotermas de adsorção de frutose nas zeólitas Y antes de serem submetidas à troca iônica. Os valores das constantes de Langmuir ( $q_m$  e  $K_d$ ) obtidos são mostrados na Tabela 09.

TABELA 09: Constantes de Langmuir para as zeólitas de partida.

Zeólita	$q_m^*$	$K_d^*$
Y1	55	47
Y2	62	49

\* valores de  $q_m$  em mg de frutose /g de zeólita e de  $K_d$  em g de frutose/L

Os diâmetros médios das partículas foram determinados por PSD e verificou-se que a troca iônica não alterou significativamente seus valores em nenhuma das zeólitas, por esta razão não foi realizada a análise estatística desta resposta. Os valores dos diâmetros médios das partículas das zeólitas Y1, Y2 e A foram 10  $\mu\text{m}$ , 4,3  $\mu\text{m}$  e 13,6 $\mu\text{m}$ , respectivamente.

## 4.2 - Planejamento experimental

Para a análise dos resultados os ensaios foram agrupados em três planejamentos experimentais de 3 variáveis com 2 níveis cada variável, ou seja, cada planejamento experimental apresentou  $2^3$  ensaios. Para melhor compreensão e discussão dos resultados, estes serão apresentados separadamente para cada planejamento experimental. Cada planejamento apresenta tabelas contendo os valores das respostas, os valores dos efeitos dos parâmetros e os valores da análise da variância (teste F).

As respostas utilizadas neste trabalho foram as seguintes: constantes da isoterma de Langmuir ( $q_m$  e  $K_d$ ), área superficial (Sg) e porcentagem de cátions sódio trocados (PST). Os valores de  $q_m$  e  $K_d$  foram obtidos por regressão não-linear realizada pelo software "Statistica". A porcentagem de sódio trocada (PST) foi calculada pela equação 14.

$$\text{PST} = \frac{\text{concentração inicial de sódio} - \text{concentração final de sódio}}{\text{concentração de sódio inicial}} \times 100 \quad (14)$$

Os efeitos de cada variável e suas interações foram calculados pelo software "Statistica", versão 5.0 for Windows . Com o mesmo software foi feita a análise de regressão, ou ajuste por mínimos quadrados dos modelos lineares aos resultados obtidos a partir do planejamento experimental. A partir destes cálculos, foram obtidos os coeficientes dos polinômios ajustados.

Os parâmetros destes modelos foram calculados de forma a minimizar os resíduos, que são diferenças entre valores observados e os valores estimados pelo modelo. Para que uma regressão seja estatisticamente significativa, ou seja, também útil para fins preditivos, o valor da razão Média Quadrática da Regressão/Média Quadrática dos Resíduos deve ser no mínimo de 4 a 5 vezes o valor tabelado de  $F_{p-1, n-p}$  onde  $p-1$  é o grau de liberdade da regressão e  $n-p$  é o grau de liberdade dos resíduos. Com base nos graus de liberdade das regressões e dos resíduos obtém-se o valor tabelado de  $F$ .

Os graus de liberdade da regressão e dos resíduos para todas as respostas foram respectivamente 6 e 1. A partir destes valores é possível obter os valores de  $F_{6,1}$  tabelados para diferentes graus de confiança, que são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10: Pontos da porcentagem da distribuição F (BRUNS e outros, 1995).

Porcentagem de confiança	$F_{6,1}$
75 %	8,98
90 %	58,20
95 %	234,0
99 %	585,9

#### 4.2.1 - Planejamento experimental I

Os valores obtidos para as respostas  $q_m$ ,  $K_d$ ,  $S_g$  e PST (quantidade máxima de frutose adsorvida, constante de adsorção, área superficial e

porcentagem de sódio trocado, respectivamente) do planejamento experimental I são apresentados na Tabela 11 e seus efeitos Tabela 12.

Observou-se com a mudança de nível da variável X1, que representa a mudança do cálcio para o bário, uma diminuição no valor de  $q_m$  em -177,0. O mesmo ocorreu na mudança da zeólita Y2 para A, variável X3.

TABELA 11: Valores das respostas  $q_m$ ,  $K_d$ , Sg e PST para o planejamento experimental I.

Ensaio	X1	X2	X3	$q_m^*$	$K_d^*$	Sg <sup>*</sup>	PST
01	Ca	5 min	Y2	207	131	650,0	70,92
02	Ba	5 min	Y2	84	41	645,0	68,10
03	Ca	24 h	Y2	810	481	861,0	73,28
04	Ba	24 h	Y2	404	187	704,0	69,58
05	Ca	5 min	A	158	157	421,5	71,61
06	Ba	5 min	A	135	137	16,0	81,00
07	Ca	24 h	A	329	336	430,6	77,43
08	Ba	24 h	A	173	168	57,4	86,40

\* valores de  $q_m$  em mg de frutose/g de zeólita; de  $K_d$  em g de frutose/L e de Sg em  $m^2/g$

TABELA 12: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental I.

Efeito	$q_m$	$K_d$	Sg	PST
Médio	287,500	204,750	473,187	74,790
X1	-177,000	-143,000	-235,175	2,960
X2	283,000	176,500	80,125	3,765
X3	-177,500	-10,500	-483,125	8,640
X1X2	-104,000	-88,000	-29,925	-0,325
X1X3	87,500	49,000	-154,175	6,220
X2X3	-178,500	-71,500	-54,875	1,845

O tempo de troca iônica, variável X2, apresenta um efeito positivo sobre a constante  $q_m$ , desta forma, as zeólitas que foram submetidas a trocas de 24 horas apresentaram maiores valores de  $q_m$  com relação às trocadas durante 5 minutos. Outro efeito importante a ser considerado é a interação das variáveis X2 e X3. Neste caso notamos um melhor valor de  $q_m$  para a zeólita Y2 trocada durante 24 horas. Para as amostras de zeólita A observamos uma menor influência da variável X2, tempo de troca, porém, novamente os maiores valores de  $q_m$  foram obtidos para as zeólitas trocadas durante 24 horas.

A constante  $K_d$  apresentou comportamento semelhante à constante  $q_m$ , porém somente os efeitos das variáveis X1 e X2 devem ser considerados importantes, bem como suas interações. A variável X3, o tipo de zeólita, apresentou um maior efeito sobre a área superficial, seguida pelos efeitos da variável X1, cátion trocado, e das interações entre as variáveis X1 e X3, cátion trocado e tipo de zeólita.

A partir dos efeitos foram calculados os coeficientes dos polinômios lineares para cada resposta (Equações 15 a 18):

$$q_{m, i} = 287,50 - 88,50X1 + 141,50X2 - 88,75X3 + 43,75X1X3 - 89,25X2X3 \quad (15)$$

$$K_{d, i} = 204,75 - 71,50 X1 + 88,25 X2 - 44,00 X1X2 \quad (16)$$

$$Sg_i = 473,187 - 117,588 X1 - 241,812 X3 \quad (17)$$

$$PST_i = 74,790 + 1,480 X1 + 1,883 X2 + 4,320 X3 + 3,110 X1X3 \quad (18)$$

Para verificar a significância estatística do modelo foram feitas as análises das variâncias (testes F's) das respostas através do "Statistica". A análise da variância das respostas  $q_m$  e  $K_d$  são apresentadas na Tabela 13 e das respostas Sg e PST na Tabela 14.

TABELA 13: Análise da variância para a resposta das constantes  $q_m$  e  $K_d$  do planejamento experimental I.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de Liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	$q_m$	$K_d$		$q_m$	$K_d$	$q_m$	$K_d$
Resposta							
Regressão	386 518	133 938	6	64 420	22 322		
Resíduos	2 813	392	1	2 813	392	23	57
Total	389 331	134 330	7	67 233	22 714		
% de variância explicada = 99,28 % ( $q_m$ ) e 99,71 % ( $K_d$ )							

Pelo teste F observa-se que somente o modelo da resposta PST apresenta significância estatística pois o valor de F calculado (igual a 1 765) é cerca de 7,5 vezes maior que o valor de F tabelado (igual a 234) para uma confiança de cerca de 95 %. Para esta resposta foram representadas as superfícies de resposta (Figuras 9 e 10) em função dos pares de variáveis ( $X_1, X_3$ ) e ( $X_2, X_3$ ).

TABELA 14: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental I.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	Sg	PST		Sg	PST	Sg	PST
Resposta							
Regressão	646 594	279,569	6	107 766	46,5948		
Resíduos	4 246	0,0264	1	4 246	0,0264	25,4	1 765
Total	650 480	279,595	7	112 012	46,6212		
% de variância explicada = 99,34 % (Sg) e 99,99 % (PST)							

O modelo de  $K_d$  apresenta um grau de confiança de cerca de 75 % se comparado com o valor calculado de F ao valor tabelado mostrado na Tabela 10.

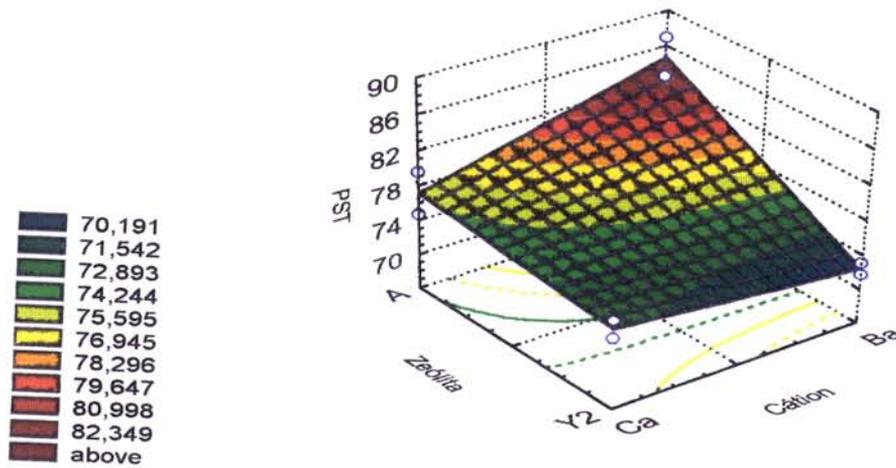


FIGURA 09: Superfície de reposta da porcentagem de sódio trocado (PST) em função das variáveis X1 e X3.

Verificou-se, pela Figura 09, que o maior valor de PST foi obtido para a zeólita trocada A com o cátion bário. Para a zeólita Y2, independentemente do cátion introduzido, o valor de PST permaneceu praticamente inalterado.

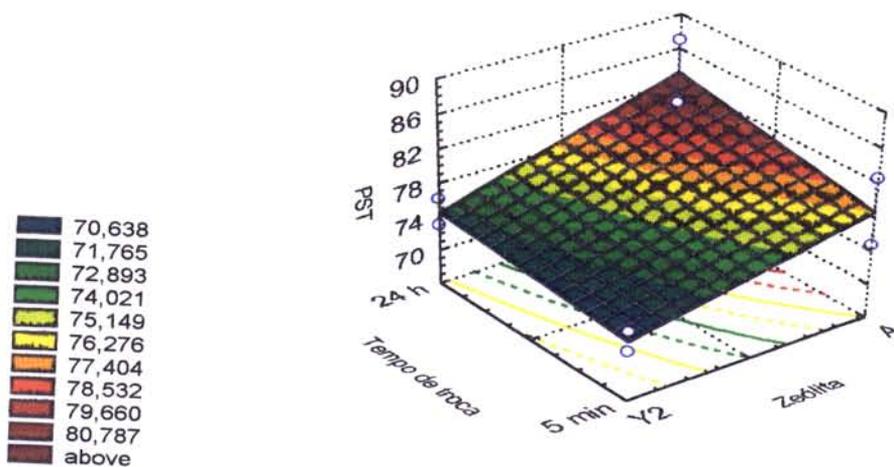


FIGURA 10: Superfície de resposta da porcentagem de sódio trocado (PST) em função das variáveis X2 e X3.

Analisando a superfície da Figura 10, verificou-se que o maior valor de PST foi obtido para a zeólita A trocada durante 24 horas.

Portanto, baseado nas superfícies das Figuras 09 e 10, o maior valor de PST foi obtido para a zeólita A trocada 24 horas com o bário.

#### 4.2.2 - Planejamento experimental II

Observou-se que o comportamento das respostas foram semelhantes ao comportamento do planejamento experimental I com relação às variáveis estudadas. Os valores das respostas  $q_m$ ,  $K_d$ ,  $S_g$  e PST para o planejamento experimental II são apresentados na Tabela 15.

TABELA 15: Valores das respostas  $q_m$ ,  $K_d$ ,  $S_g$  e PST para o planejamento experimental II.

Ensaio	X1	X2	X3	$q_m^*$	$K_d^*$	$S_g^*$	PST
01	Ca	5 min	A	158	157	421,5	71,61
02	Ba	5 min	A	135	137	16,0	81,00
03	Ca	24 h	A	329	336	430,6	77,43
04	Ba	24 h	A	173	168	57,4	86,40
05	Ca	5 min	Y1	162	184	654	82,24
06	Ba	5 min	Y1	101	55	512	75,78
07	Ca	24 h	Y1	199	188	700	83,27
08	Ba	24 h	Y1	110	62	617	78,38

\* valores de  $q_m$  em mg de frutose/g de zeólita; de  $K_d$  em g de frutose/L e de  $S_g$  em  $m^2/g$

Os efeitos das variáveis calculados pelo "Statistica" para todas as respostas são apresentados na Tabela 16.

TABELA 16: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental II.

Efeitos	$q_m$	$K_d$	Sg	PST
Médio	170,875	160,875	426,025	79,514
X1	-82,25	-110,750	-250,850	1,753
X2	63,75	55,250	50,300	3,713
X3	-55,75	-77,250	389,450	0,808
X1X2	-40,25	-36,250	22,900	0,288
X1X3	7,25	-16,750	138,350	-7,428
X2X3	-40,75	-49,750	25,200	-1,898

Observa-se que o cátion trocado, variável X1, apresenta um maior efeito sobre o valor de  $q_m$ , sendo este negativo. Desta forma uma mudança de cátion do cálcio para o bário resulta num decréscimo de -82,25 no valor de  $q_m$ . Comportamento semelhante é observado para a resposta  $K_d$ , porém este decréscimo é de -110,75 no valor de  $K_d$ . Ambas as respostas não apresentam efeitos significativos de interações entre as variáveis.

O maior efeito observado para a área superficial foi o efeito do tipo da zeólita, com a mudança de zeólita de A para Y1 tem-se um grande aumento na área superficial. O segundo maior efeito sobre a área superficial está relacionado ao cátion introduzido na zeólita. A área superficial sofre uma redução, ou seja um efeito negativo com a mudança de cátion de cálcio para bário. O efeito das interações entre as duas variáveis também deve ser considerado.

A interação das variáveis X1 e X3, cátion de troca e zeólita, resultou no maior efeito sobre a PST, porém desconsiderando-se as interações, o tempo de troca apresenta o maior efeito como variável.

Com base nos efeitos foram calculados os coeficientes dos polinômios lineares para cada resposta (Equações 19 a 22).

$$q_{m, II} = 170,875 - 41,125 X1 \quad (19)$$

$$K_{d, II} = 160,875 - 55,375 X1 \quad (20)$$

$$Sg_{II} = 426,025 - 125,425 X1 + 194,725 X3 + 69,175 X1X3 \quad (21)$$

$$PST_{II} = 79,514 + 1,856 X2 - 3,714 X1X3 \quad (22)$$

A verificação da significância estatística, análise da variância, dos modelos apresentados acima foi realizada pelo Teste F mostrado nas Tabelas 17 e 18.

TABELA 17: Análise da variância para a resposta das constantes  $q_m$  e  $K_d$  do planejamento experimental II.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de Liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	$q_m$	$K_d$		$q_m$	$K_d$	$q_m$	$K_d$
Resposta			$q_m$ e $K_d$				
Regressão	34 541	50 711	6	5 757	8 452		
Resíduos	1 378	2 850	1	1 378	2 850	4,18	2,97
Total	35 919	53 561	7	7 135	11 302		

% de variância explicada = 96,16 % ( $q_m$ ) e 94,68 % ( $K_d$ )

TABELA 18: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental II.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	Sg	PST		Sg	PST	Sg	PST
Resposta			Sg e PST				
Regressão	474 855	152,71	6	79 143	25,45		
Resíduos	87	0,50	1	87	0,50	910	51
Total	474 942	153,21	7	79 230	25,95		

% de variância explicada = 99,98 % (Sg) e 99,68 % (PST)

O teste **F** para os modelos das respostas demonstram que somente o modelo proposto para a área superficial apresenta significância estatística, com 95% de confiança, por isto foi obtida a superfície de resposta para a área superficial em função das variáveis com maior efeito sobre a área superficial (Figura 11).

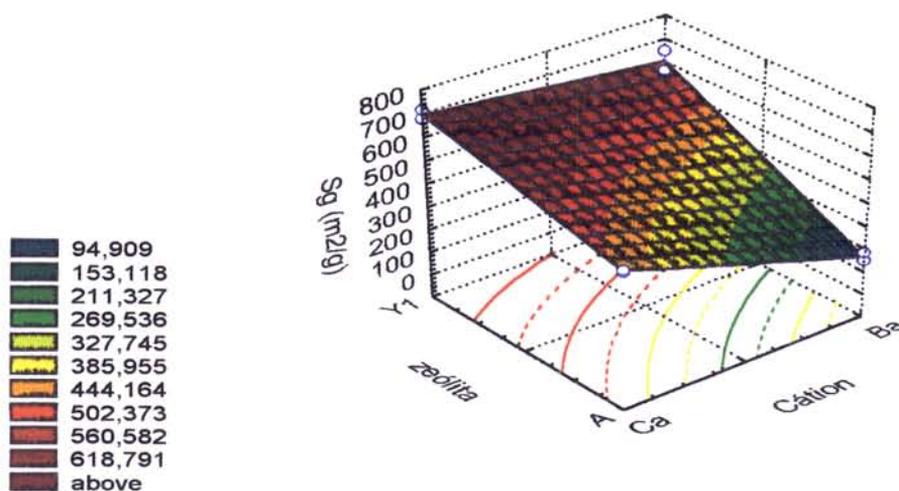


FIGURA 11: Superfície de Resposta da área superficial ( $S_g$ ) em função das variáveis  $X_1$  e  $X_3$ .

Pela Figura 11, observa-se que a maior área superficial foi obtida para a zeólita Y1 trocada com cálcio, porém a menor foi obtida para a zeólita A trocada com bário.

#### 4.2.3 - Planejamento experimental III

Os valores das respostas  $q_m$ ,  $K_d$ ,  $S_g$  e PST para o planejamento experimental III são apresentados na Tabela 19.

Observa-se pela Tabela 19 que a mudança de cátion de cálcio para bário provoca uma queda na resposta  $q_m$ , sendo esta mais acentuada para a zeólita

Y2 do que para zeólita Y1 e com 24 horas de tempo de troca o valor de  $q_m$  é muito mais elevado do que em 5 minutos de troca.

TABELA 19: Valores das respostas  $q_m$ ,  $K_d$ ,  $S_g$  e PST para o planejamento experimental III.

Ensaio	X1	X2	X3	$q_m^*$	$K_d^*$	$S_g^*$	PST
01	Ca	5 min	Y2	207	131	650,0	70,92
02	Ba	5 min	Y2	84	41	645,0	68,10
03	Ca	24 h	Y2	810	481	861,0	73,28
04	Ba	24 h	Y2	404	187	704,0	69,58
05	Ca	5 min	Y1	162	184	654,0	82,24
06	Ba	5 min	Y1	101	55	512,0	75,78
07	Ca	24 h	Y1	199	188	700,0	83,27
08	Ba	24 h	Y1	110	62	617,0	78,38

\* valores de  $q_m$  em mg de frutose/g de zeólita; de  $K_d$  em g de frutose/L e de  $S_g$  em  $m^2/g$

TABELA 20: Efeitos das variáveis sobre as respostas para o planejamento experimental III.

Efeito	$q_m$	$K_d$	$S_g$	PST
Médio	259,625	166,125	667,875	75,194
X1	-169,750	-159,750	-96,750	-4,468
X2	242,250	126,750	105,250	1,868
X3	-233,250	-87,750	-94,250	9,448
X1X2	-77,750	-50,250	-23,250	0,173
X1X3	94,750	32,250	-15,750	-1,208
X2X3	-219,250	-121,250	-29,750	-0,053

O comportamento das zeólitas com relação às respostas foram os mesmos mencionados anteriormente nos planejamentos I e II, uma vez que este planejamento é “derivado” dos planejamentos I e II. Os efeitos para todas as respostas são apresentados na Tabela 20.

As variáveis X2 e X3, tempo de troca iônica e tipo de zeólita, apresentaram efeitos opostos sobre a resposta  $q_m$ , porém efeitos de mesma ordem de grandeza. Sendo o efeito da variável X2 positivo e de X3 negativo, ou seja, a mudança do tempo de troca de 5 minutos para 24 horas provoca um aumento de 242,25 no valor de  $q_m$  e a mudança da zeólita Y1 para Y2 provoca uma redução de -233,25. E a interação entre estas variáveis apresentou um efeito negativo da mesma ordem de grandeza. Para a resposta  $K_d$  os principais efeitos foram das variáveis X1 e X2, porém efeitos contrários. A interação que produziu maior efeito corresponde a interação das variáveis X2 e X3. Todas as variáveis apresentaram efeitos aproximados sobre a área superficial, porém o efeito da variável X2, tempo de troca, ao contrário das demais foi positivo e da ordem de 105,25 m<sup>2</sup>/g. Os efeitos das interações podem ser desconsiderados para a área superficial. O maior efeito sobre a porcentagem de sódio trocado coube à variável X3, ou seja, a zeólita, seguido pelo efeito do cátion. Com base nos efeitos, são propostos os modelos polinomiais para as respostas (equações 23 a 26).

$$q_{m, III} = 259,625 + 121,125 X2 - 116,625 X3 - 109,625 X2X3 \quad (23)$$

$$K_{d, III} = 166,125 - 79,875 X1 \quad (24)$$

$$Sg_{III} = 667,875 \quad (25)$$

$$PST_{III} = 75,194 + 4,724 X3 \quad (26)$$

A análise da variância das respostas  $q_m$  e  $K_d$  é apresentada na Tabela 21 e das respostas Sg e PST na Tabela 22.

A partir dos resultados dos testes F observa-se que os modelos não apresentam significância estatística e por isto não podem ser usados para fins preditivos.

TABELA 21: Análise da variância para a resposta das constantes  $q_m$  e  $K_d$  do planejamento experimental III.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de Liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	$q_m$	$K_d$		$q_m$	$K_d$	$q_m$	$K_d$
Resposta							
Regressão	409 998	135 105	6	68 333	22 518		
Resíduos	8 128	5 356	1	8 128	5 356	8,41	4,20
Total	418 126	140 461	7	76 461	27 874		

% de variância explicada = 98,06% ( $q_m$ ) e 96,19% ( $K_d$ )

TABELA 22: Análise da variância para as respostas Sg e PST do planejamento experimental III.

Fonte de Variação	Soma Quadrática		Graus de liberdade	Média Quadrática		Teste F	
	Sg	PST		Sg	PST	Sg	PST
Resposta							
Regressão	61 990	228,389	6	10 332	38,065		
Resíduos	5 565	0,750	1	5 565	0,750	1,86	50,75
Total	67 555	229,134	7	15 897	38,815		

% de variância explicada = 91,76 % (Sg) e 99,67 % (PST)

### 4.3 - Teste cinético de adsorção da frutose

A saturação da zeólita ocorre em um tempo extremamente pequeno o que dificulta a realização do teste cinético. Este tempo necessário para a saturação é de cerca de 4 minutos. Durante este tempo, antes da saturação, são obtidos os valores das concentrações de frutose. Os resultados do teste cinético são mais confiáveis quando se têm muitos valores da concentração antes da saturação. A dificuldade em se obter os valores de concentração encontra-se durante a filtração da amostra logo após a retirada da alíquota do reator. A filtração é feita através de um pequeno filtro acoplado à uma seringa, e logo após a filtração o filtro deve ser lavado e trocada sua membrana. Este processo

todo dificulta a retirada de muitas amostras em um intervalo de tempo muito pequeno. Um sistema ideal para se realizar a cinética da adsorção da frutose seria um processo com a medida da concentração de frutose “on-line”, que é o método mais recomendado para cinéticas muito rápidas. Por todos estes motivos não foram realizados os testes cinéticos para todas as zeólitas. O gráfico de decaimento das concentrações de frutose em função do tempo é apresentado na Figuras 12.

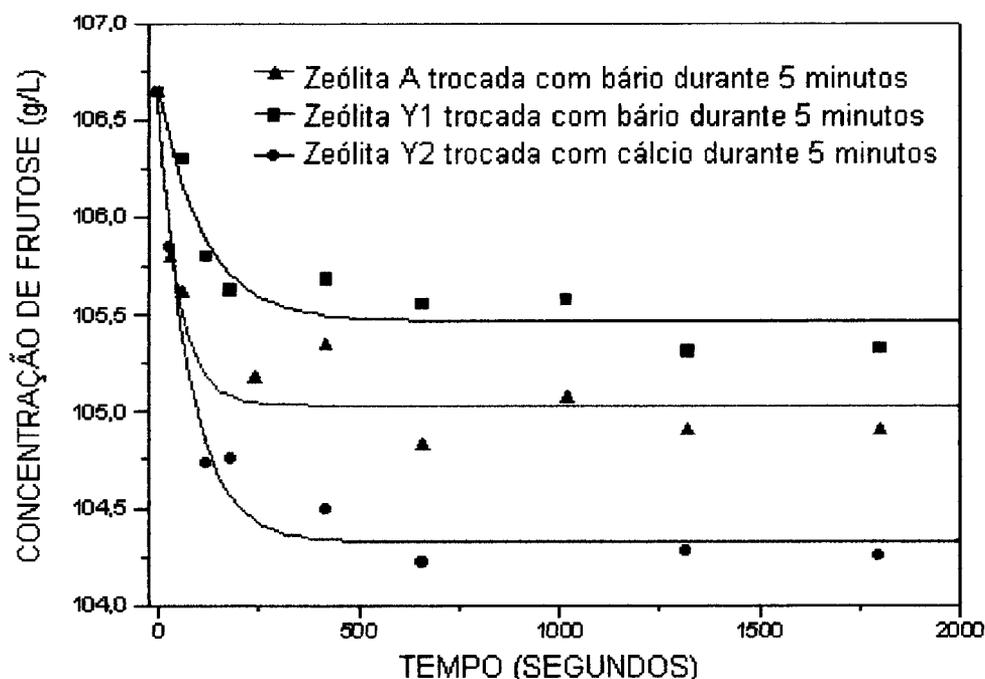


FIGURA 12: Teste cinético - Variação da concentração de frutose pelo tempo.

Observa-se pela Figura 12 que inicialmente há um decaimento acentuado da concentração de frutose na solução. Neste período, onde o decaimento da concentração é acentuado, é possível obter uma equação linear da concentração de frutose em função do tempo, o que indica uma cinética de ordem zero, onde a equação da concentração de frutose em função do tempo é uma reta cuja a inclinação é igual a  $k$  (constante da reação) e o coeficiente angular é igual à concentração inicial de frutose. Neste caso a taxa da reação pode ser escrita pela equação 27.

$$(-r_A) = -\frac{dC_A}{dt} = k \quad (27)$$

Considerando-se apenas os valores de  $C_A \times t$  do trecho linear (tempo de reação menor que 250 segundos), pode-se determinar a constante de velocidade. Na Tabela 23 encontram-se os valores obtidos para  $k$ , bem como o coeficiente de regressão linear.

TABELA 23: Constantes da reação de ordem zero para a adsorção de frutose.

Zeólita	k	r
Zeólita A trocada com bário durante 5 minutos	0,005885	0,98
Zeólita Y1 trocada com bário durante 24 horas	0,017170	0,93
Zeólita Y2 trocada com cálcio durante 5 minutos	0,015150	0,98

Nota-se que os coeficientes de correlação são bons, mostrando que nos valores iniciais de teste a cinética pode ser considerada de ordem zero, ou seja, independente da concentração de frutose.

Depois deste decaimento linear, a função da concentração pelo tempo é modificada, e desta forma, a ordem da reação também é modificada, podemos então aplicar um outro modelo na tentativa de englobar todos os pontos. Segundo LEVENSPIEL (1974) na cinética de uma reação pode haver a mudança da ordem da reação com a variação da concentração do reagente, ou seja, para altas concentrações a reação pode apresentar ordem  $m$  e para baixas concentrações é possível obter uma outra ordem de reação,  $n$ . Em uma reação de conversão de A em B, se a concentração de A em função do tempo se comporta inicialmente como uma reta pode-se afirmar que nesta fase a reação apresenta ordem zero ( $m = 0$ ). Com a diminuição da concentração de A, seu comportamento com relação ao tempo torna-se não linear e portanto há uma mudança na ordem da reação para  $n$ . Se esta nova ordem,  $n$ , corresponder à primeira ordem então a taxa da reação pode ser escrita pela equação 28.

$$r_A = -\frac{dC_A}{dt} = \frac{k_1 C_A}{1 + k_2 C_A} \quad (28)$$

Onde  $k_1/k_2$  é a constante de velocidade da reação de ordem zero e  $k_1$  é a constante de velocidade da reação de primeira ordem. Separando as variáveis e integrando a equação 28 obtém-se a equação 29.

$$\ln \frac{C_{Ao}}{C_A} + k_2(C_{Ao} - C_A) = k_1 t \quad (29)$$

Rearranjando a equação 29 obtemos a equação 30:

$$\frac{\ln\left(\frac{C_{Ao}}{C_A}\right)}{C_{Ao} - C_A} = -k_2 + \frac{k_1 t}{C_{Ao} - C_A} \quad (30)$$

A equação 30 é uma equação linear, onde

$$Y = \frac{\ln \frac{C_{Ao}}{C_A}}{C_{Ao} - C_A} \quad (31)$$

e

$$X = \frac{t}{C_{Ao} - C_A} \quad (32)$$

Os coeficientes angular e linear da regressão linear dos valores calculados pelas equações 31 e 32 são iguais aos valores  $k_1$  e  $(-k_2)$ , respectivamente. Com base nos valores plotados na Figura 12 obtém-se os valores de  $k_1$  e  $k_2$  para as amostras (Tabela 24).

TABELA 24: Constantes da reação de adsorção da frutose.

Zeólita	$k_1$	$k_2$	r
Zeólita A trocada com bário durante 5 minutos	$-9,41 \times 10^{-3}$	$1,60 \times 10^{-8}$	0,97
Zeólita Y1 trocada com bário durante 24 horas	$-9,42 \times 10^{-3}$	$4,91 \times 10^{-8}$	0,98
Zeólita Y2 trocada com cálcio durante 5 minutos	$-9,46 \times 10^{-3}$	$2,95 \times 10^{-8}$	0,94

Os valores encontrados para  $k_2$  e  $k_1$ , apesar do bom coeficiente de correlação, têm o inconveniente de  $k_2$ , que para as três curvas apresentaram-se negativos. Isto pode ser devido à pequena variação da concentração de frutose no intervalo de estudo, apenas 2 %. Numa análise com uma variação maior de frutose provavelmente a ligeira inclinação seria alterada, tornando  $k_2$  positivo. Ou então, pode ser que a segunda parte da curva obedeça a uma ordem diferente de um, como proposto no modelo aplicado.

Dos dois modelos utilizados, notamos que para valores iniciais ( $t < 250$  s) os dados ajustam-se perfeitamente à cinética de ordem zero, isto para as três zeólitas testadas, inclusive os valores de  $k$  para as zeólitas Y são muito parecidos. Para a zeólita A encontrou-se um valor de cerca de uma ordem de grandeza menor. Já a tentativa de ajuste a um modelo com todos os pontos não foi satisfatória. Apesar do bom coeficiente de correlação, ocorre o inconveniente dos valores negativos para  $k_2$ .

## 4.4 - Síntese da dextrana

### 4.4.1 - Preparo do inóculo

Foram realizadas cinco pré-fermentações para ativar o microrganismo, sendo suas condições apresentadas no item 3.5.2. Após cada pré-fermentação foi medida a atividade enzimática do caldo. Os valores das atividades enzimáticas do caldo, após cada pré-fermentação, são apresentados na Tabela 25.

TABELA 25: Atividade total (UDS) nas etapas de pré-fermentação.

Pré-fermentação	1	2	3	4	5
Atividade do caldo (UDS/mL)	0,19	49,20	39,50	58,2	50,38

#### 4.4.2 - Fermentação

A fermentação foi realizada utilizando o inóculo obtido na última pré-fermentação. As condições utilizadas estão descritas no ítem 3.5.4: pH inicial 6,7, temperatura 27°C, aeração de 0,5 L/min, controle de pH por 8 horas e processo em batelada alimentada com solução de sacarose e NaOH (solução combinada). A solução combinada teve a finalidade de manutenção do pH pelo NaOH e a concentração ótima de sacarose para a produção da enzima dextrana-sacarase, condições estas que foram determinadas por BAZÁN (1993) com vista à obtenção de uma enzima dextrana-sacarase com maior atividade enzimática e menor quantidade de açúcares redutores totais (ART). A produção de grandes quantidades de açúcares redutores totais no meio de fermentação acarreta a produção de dextrana de alto peso molecular, juntamente com a dextrana-sacarase, produzindo um caldo fermentado de alta viscosidade que dificulta o processo de separação da enzima. O processo de purificação da enzima foi realizado segundo as condições descritas no ítem 3.5.5. Após a recuperação final de enzima no processo de purificação, obteve-se uma enzima com atividade de 1 796 UDS/mL.

#### 4.4.3 - Reação enzimática

A reação de polimerização foi realizada a 20°C, utilizando uma solução de 100 g de sacarose/L e 40 UDS/mL de dextrana-sacarase. Durante a reação foram retiradas amostras em intervalos de tempo regulares para o acompanhamento da extensão da reação. Determinava-se a concentração de açúcares redutores (neste caso considera-se que seja somente frutose) das

amostras pelo métodos do DNS. A reação foi interrompida quando pelo menos dois valores iguais de concentração de frutose foram obtidos. Isso ocorreu por volta de 6 a 7 horas de reação e a concentração de frutose foi de aproximadamente 50 g/L.

Uma amostra de dextrana obtida na síntese foi preparada para a injeção no HPLC segundo as condições descritas no item 3.7.3.3. A distribuição de pesos moleculares foi feita utilizando a curva de calibração com o software "Millenium". A curva de calibração foi obtida com a integração dos picos dos padrões relacionando os pesos moleculares médios ( $M_w$ ) e os tempos de retenção ( $T_R$ ). A curva de calibração obtida foi representada pela equação 33.

$$\log M_w = 1,46.10 - 7,99.10^{-1} T_R + 2,68.10^{-2} T_R^2 - 4,32.10^{-4} T_R^4 \quad (33)$$

$$r = 0,9989$$

A distribuição de peso molecular foi dividida em três faixas:

Dextranas de alto peso molecular: dextranas com peso molecular superior a 100 000 daltons

Dextrana Clínica ou de peso molecular intermediário: com peso molecular entre 20 000 e 100 000 daltons.

Dextrana de baixo peso molecular: dextranas com peso molecular entre 10 000 e 20 000 daltons.

A distribuição de pesos moleculares obtido para a síntese encontra-se na Tabela 26 e o cromatograma da síntese é mostrado na Figura 13. Pelo cromatograma não se observa a formação de oligossacarídeos em grandes proporções.

TABELA 26: Distribuição do peso molecular para a amostra da síntese.

Faixa de peso molecular	% Dextrana
maior que 100 000 daltons	21,70
20 000 a 100 000 daltons	0,87
10 000 a 20 000 daltons	0,31
Frutose, oligossacarídeos e dextrana com peso molecular menor que 10 000 daltons	77,08

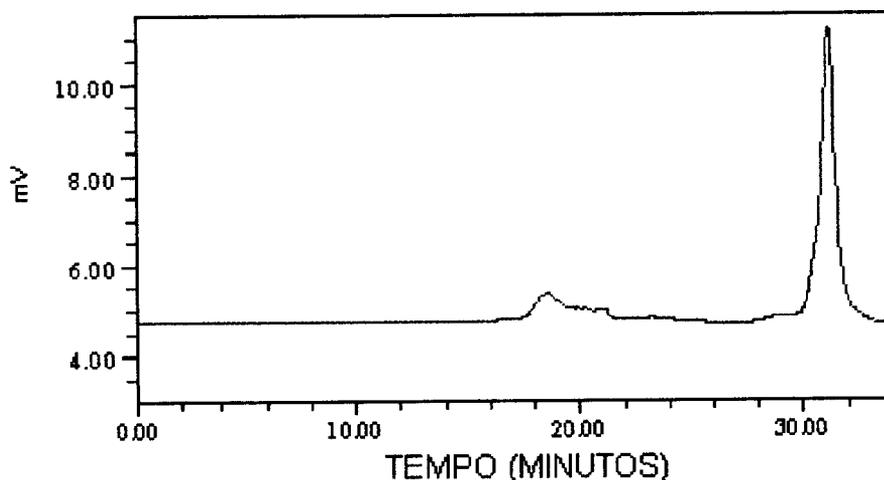


FIGURA 13: Cromatograma da síntese da dextrana.

Os picos correspondentes aos produtos da síntese da dextrana são observados pelo cromatograma da Figura 13. As primeiras frações de dextrana, com maiores pesos moleculares, começaram a serem eluídas em torno de 16 minutos. A partir deste tempo, até aproximadamente 30 minutos, são eluídas frações de dextrana dos maiores para os menores pesos moleculares. O maior pico do cromatograma, em torno de 31 minutos, corresponde ao pico de eluição da frutose. Pelo cromatograma não se observa a formação de oligossacarídeos em grandes proporções, uma vez que o pico destes encontra-se entre 28 e 30 minutos de eluição.

#### 4.5 - Teste de adsorção da frutose em meio contendo dextrana

Tendo em vista a questão da viscosidade das soluções de dextrana, na qual uma variação na concentração de dextrana altera a viscosidade, a metodologia de variação da quantidade relativa frutose-zeólita foi alterada. Procedeu-se o teste a partir da variação da concentração de sólidos no meio, ou seja, da concentração de zeólitas.

O critério de seleção da zeólita para realização deste teste foi o valor da quantidade máxima de frutose adsorvida ( $q_m$ ), portanto utilizou-se a zeólita Y2 trocada com cálcio durante 24 horas.

As amostras também foram analisadas por HPLC para quantificar a dextrana e observou-se que não houve variação nas concentrações da mesma, uma vez que a área do "pico" correspondente à dextrana permaneceu praticamente constante para todas as amostras. A análise por cromatografia de permeação em gel não possibilitou a obtenção da concentração exata de frutose, uma vez que o software "Millenium" apresenta os resultados da análise em uma tabela de distribuição acumulativa das faixas de pesos moleculares e não o valor exato da concentração de frutose. Não se optou pela análise cromatográfica de frutose com a coluna de determinação de açúcares porque seria necessário fazer a precipitação total da dextrana antes da análise uma vez que esta poderia danificar a coluna, assim escolheu-se o método DNS.

Foi feita a determinação de açúcares redutores por DNS das amostras obtidas neste teste para a determinação da concentração de frutose após a adsorção. Plotou-se na Figura 14 os valores da concentração de frutose em função da concentração de zeólita, sendo que a concentração inicial de frutose era de 50,35 g/L de solução de síntese.

Verificou-se que na concentração de 50,35 g de frutose/L de solução a quantidade média de frutose adsorvida foi de 30 mg de frutose/g de zeólita. Pela

isoterma de adsorção da frutose na zeólita testada, observa-se que para a concentração de 50,35 g de frutose/L de solução obtém-se uma concentração de aproximadamente 75 mg de frutose/g de zeólita. Portanto há uma redução da capacidade de adsorção da frutose na zeólita em 60 % em um meio contendo a dextrana. Isto já era esperado uma vez que a adsorção de um composto de uma mistura é dificultada por diversos fatores, como a presença de outros componentes que competem com a adsorção, ou simplesmente dificulta a migração da frutose por bloqueio dos poros. Neste caso, também a viscosidade influi porque a grande variação de viscosidade entre um meio contendo somente frutose e outro com frutose e dextrana modifica parâmetros de transferência de massa, diminuindo a adsorção da frutose. Como não foi observada a variação na concentração de dextrana no meio, fica evidente que a separação de frutose em um meio contendo dextrana é viável ao se utilizar zeólitas Y trocadas com cálcio como adsorvente.

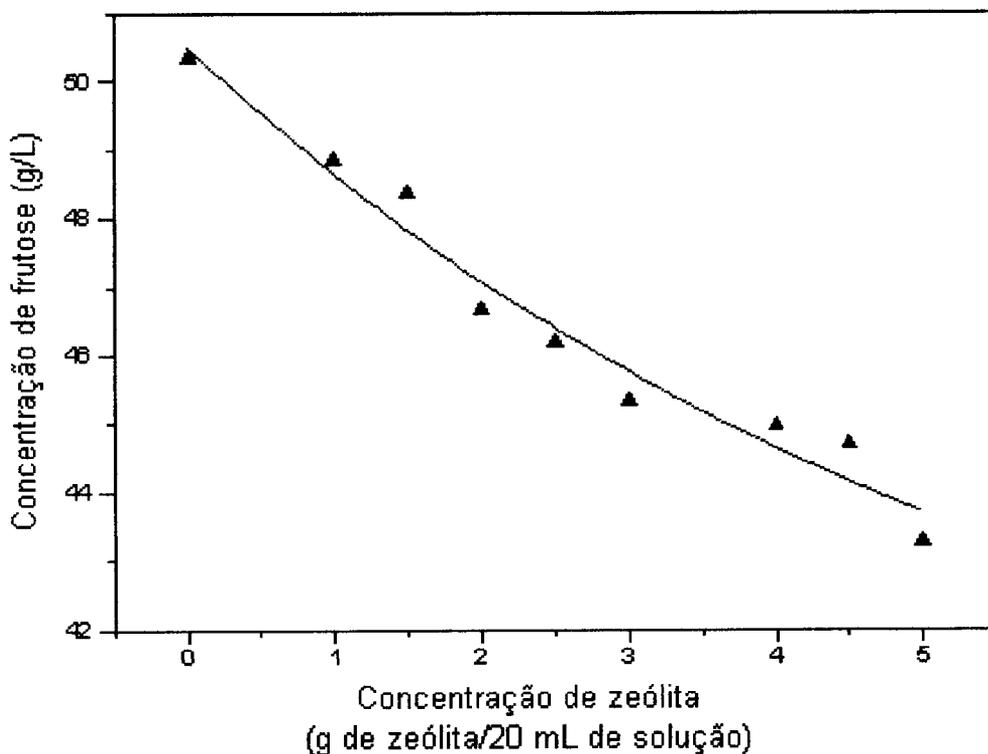


FIGURA 14: Teste de adsorção de frutose em meio contendo dextrana.

## 4.6 - Comportamento geral das isotermas

As isotermas de adsorção se comportaram da mesma forma para todas as zeólitas e são apresentadas no Apêndice. Observa-se a ocorrência da formação de um patamar onde a concentração de frutose é praticamente constante e depois, em torno da concentração de 150 g/L, começa novamente a aumentar a quantidade adsorvida de frutose. Porém para o ajuste do modelo de Langmuir considerou-se somente a região onde ela apresenta este patamar de adsorção. O ajuste do modelo de Langmuir apresentou valores satisfatórios para os coeficientes de regressão ( $r$ ), isto é, valores entre 0,98 e 0,99, portanto bem próximos de 1. No Apêndice, o modelo de Langmuir também foi plotado nos intervalos de concentração em que este é válido, ou seja antes do aumento no patamar.

Não foi possível determinar a isoterma de adsorção de frutose para a zeólita A de partida, isto porque durante as análises cromatográficas da frutose observou-se no cromatograma o aparecimento de novos compostos. Através de comparações deste com cromatogramas de açúcares conhecidos pode-se afirmar que um dos picos que surgiu corresponde ao pico da glicose. Desta forma ocorreu a isomerização da frutose para glicose. Este tipo de isomerização ocorre normalmente em meios ácidos o que evidencia a presença de acidez na zeólita. No entanto sabe-se que as demais zeólitas também apresentam mesmo grau de acidez, já que as três estão na forma sódica, e desta maneira estas também deveriam converter a frutose em glicose. Porém tal conversão ocorreu apenas com a zeólita A provavelmente devido a fatores geométricos de sua estrutura já que ela apresenta menor abertura de poros. Existe na catálise em zeólita uma explicação para o que foi observado, seria a isomerização por seletividade de forma. Neste caso uma molécula ao forçar sua entrada em um poro de dimensões pequenas pode sofrer isomerização para poder se acomodar melhor na estrutura. Ao se observar as estruturas cíclicas de furanos e piranos, verifica-se que as moléculas de pirano (6 membros) são menos rígidas que as moléculas de furano. As conformações de cadeira e barco de anéis de 6

membros exemplifica muito bem esta “maleabilidade” da molécula de pirano, porém, a estrutura do furano é mais rígida. Provavelmente a zeólita A de partida provocou a conversão das moléculas de  $\alpha$  e  $\beta$ -frutofuranose (presentes na mistura de tautômeros de frutose em equilíbrio) em moléculas de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicopiranoose, por meio de um mecanismo de isomerização por seletividade de forma. Neste mecanismo, a entrada forçada das moléculas de frutofuranose na estrutura da zeólita A promoveu a isomerização da molécula a glicopiranoose. Também, por não possuir radicais ligados ao anel pirano, as moléculas de  $\alpha$  e  $\beta$ -glicopiranoose saem mais facilmente do interior da estrutura zeolítica, ao contrário das moléculas de  $\alpha$  e  $\beta$ -frutofuranose que possuem estes radicais. Um cromatograma que evidencia a presença da glicose é apresentado na Figura 15.

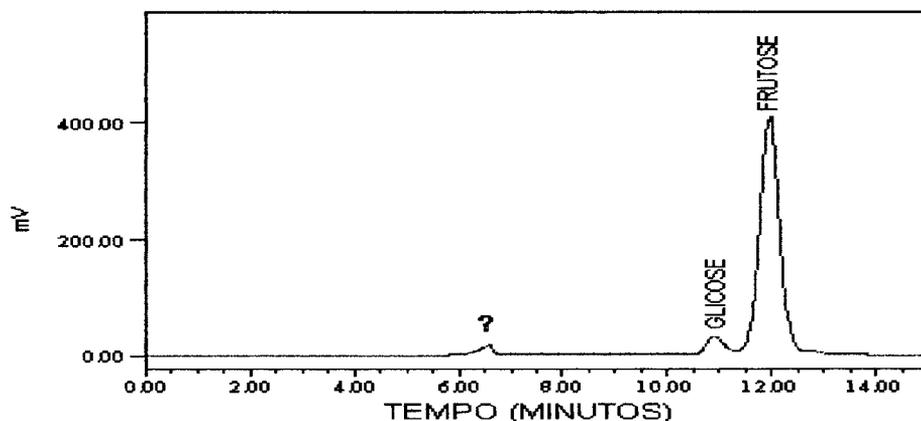


FIGURA 15: Cromatograma obtido para uma amostra de 20 g de frutose/L após a adsorção na zeólita A de partida.

Há ainda a formação de um outro composto, em proporções bem menores que a glicose, com peso molecular maior do que de outros açúcares como a rafinose, maltose e lactose. Isto é observado pela comparação com cromatogramas destes açúcares puros. O pico associado a este composto desconhecido, apesar de bastante pequeno, não pode ser considerado um ruído do sistema uma vez que este pico aparece em todas as concentrações de

frutose da isoterma e não aparece no cromatograma das soluções de frutose utilizadas para se obter as isotermas.

#### 4.7 - Comportamento geral das zeólitas em relação às respostas

De uma forma geral as zeólitas se comportaram de forma semelhante em todos os planejamentos experimentais. As zeólitas trocadas com cálcio apresentaram sempre valores maiores de  $S_g$ ,  $q_m$ ,  $K_d$  e PST se comparada com a mesma zeólita trocada com bário durante um mesmo tempo. O aumento do tempo de troca iônica também possibilita um aumento nestas respostas.

Observou-se que a troca iônica do sódio pelo cálcio ou bário provoca modificações na área das zeólitas. O comportamento das zeólitas Y1 e Y2 com relação às variações da área superficial, foi muito semelhante já que suas estruturas são iguais. Porém a zeólita A apresentou um comportamento bem diferente. Com a troca de 5 minutos, de ambos os cátions, havia uma redução da área superficial para as zeólitas Y. Porém com a troca de 24 horas, para ambos os cátions, as zeólitas Y1 e Y2 apresentam um aumento na área superficial. O efeito do bário neste aumento de área superficial é menor que o do cálcio. O cálcio possibilitou que a zeólita atingisse aproximadamente a mesma área anterior à troca iônica após 24 horas. Este fato é explicado pela acomodação dos cátions nas cavidades da estrutura zeolítica. Com a troca iônica de 24 horas os cátions se “acomodam” de uma forma organizada fazendo com que não haja redução na área. A troca iônica de 5 minutos não possibilita esta “acomodação” organizada dos cátions, que desta forma impedem o acesso a alguns canais da zeólita diminuindo a área superficial.

A troca iônica na zeólita A apresentou um comportamento *sui generis* com relação à área superficial. A troca do sódio pelo cálcio provocou um aumento na área superficial, da ordem de seis vezes o valor da área inicial. Já a troca do sódio pelo bário provocou uma redução na área superficial da mesma forma que as zeólitas Y1 e Y2. Este grande aumento da área superficial obtido

com a troca do cálcio pode estar associado a alguma substância misturada à zeólita como ligante uma vez que ela foi fornecida pela Bayer na forma de pequenas esferas. Esta substância poderia reagir ou dissolver-se no meio reacional provocando um aumento da área superficial. As especificações do fabricante não indicam a presença de qualquer ligante nas esferas das zeólitas o que dificulta o entendimento do fenômeno.

As trocas iônicas do sódio removeram cerca de 75 % dos cátions. Observou-se que o processo de troca iônica é extremamente rápido uma vez que a porcentagem de cátions sódio trocados foi aproximadamente igual para ambos os tempo de troca iônica. Mas esse aumento no tempo de troca significou um grande aumento no valor de  $q_m$ , conforme já discutido, devido à acomodação dos cátions nos canais zeolíticos.

A troca iônica do sódio pelo cálcio nas zeólitas Y1 e Y2 é maior do que a troca iônica do sódio pelo bário. Isso provavelmente deve-se ao tamanho do cátion, uma vez que o bário é muito maior que o cálcio tornando sua entrada no poro dificultada em relação à entrada do cálcio. No entanto essa diferença não é muito grande. Com a zeólita A ocorre o contrário, nesse caso o diâmetro do poro é menor, a diferença entre os tamanhos dos cátions não deve influir, prevalecendo a maior afinidade do cátion. A zeólita A apresentou maior capacidade de troca iônica, seguida pelas zeólitas Y1 e Y2. Provavelmente devido ao melhor posicionamento dos íons sódio no interior da zeólita.

## 5 - Conclusões

A partir dos resultados obtidos pode-se chegar às seguintes conclusões:

- A troca iônica da zeólita aumenta a capacidade de adsorção de frutose, isto é observado pelo aumento dos valores de  $q_m$  das zeólitas trocadas em relação à zeólita de partida. Este aumento pode ser da ordem de 1300 % do valor de  $q_m$  da zeólita de partida. Os maiores valores de  $q_m$  foram obtidos para a zeólita Y2, seguida respectivamente pelas zeólitas A e Y1.
- Observou-se que as zeólitas trocadas com cálcio apresentaram os maiores valores de  $q_m$ , evidenciando a melhor afinidade da frutose com este cátion.
- Um tempo de troca maior possibilita a obtenção de zeólitas com maiores  $q_m$ , mostrando que o fenômeno de adsorção está ligado diretamente à quantidade de cátions trocados e sua disposição na estrutura.
- O tempo de troca iônica pouco alterou a quantidade de cátions trocados, ou seja, as zeólitas trocadas durante 5 minutos ou 24 horas apresentaram pouca diferença no valor da porcentagem de cátions sódio trocados, porém o aumento do tempo possibilitou um aumento no valor de  $q_m$ . Este aumento pode ser explicado pela acomodação dos cátions na estrutura da zeólita. A realização da troca iônica em 24 horas possibilita uma melhor acomodação dos cátions na estrutura, o que favorece a adsorção. Com a troca iônica de 5 minutos a acomodação dos cátions é muito rápida e menos organizada.
- A troca iônica aumentou o valor da constante  $K_d$  da isoterma de Langmuir, sendo que este aumento foi maior para a zeólita Y2 (zeólita com maior razão silício/alumínio), seguida pelas zeólitas A e Y1 (zeólita com menor razão silício/alumínio), respectivamente. Esta constante é a razão entre a constante da reação de dessorção e a constante da reação de adsorção. Portanto, um

aumento no valor de  $K_d$  representa um aumento na constante da reação de dessorção ou uma redução na constante da reação de adsorção, que contribui para uma diminuição efetiva na adsorção.

- O aumento nos valores de  $K_d$  é maior para as zeólitas trocadas com cálcio. Sendo que com as zeólitas Y1 trocadas com bário apresentaram um aumento muito pequeno (da ordem de 20 % do valor das zeólitas de partida) se comparada com as demais.
- Comparando as zeólitas trocadas, observou-se que o cátion bário influenciou principalmente no valor de  $K_d$ . Estas zeólitas apresentaram menores valores de  $K_d$ , ou seja, a cinética da reação é favorecida pela constante da reação de adsorção. Assim, é importante estabelecer na seleção de uma zeólita, se a cinética da reação é importante ou se a capacidade de adsorção é mais importante.
- A área superficial é influenciada pela troca iônica. Com relação às zeólitas Y1 e Y2, observou-se que a troca iônica provocou uma redução na área superficial se comparada com a área das zeólitas de partida. Porém, esta redução é menor para as zeólitas trocadas com cálcio e para zeólitas trocadas durante 24 horas. A zeólita A se comportou diferente, a troca pelo cálcio provocou um grande aumento na área superficial. A troca iônica pelo bário em zeólita A também reduziu a área superficial como observado com as zeólitas Y1 e Y2.
- Os planejamentos experimentais não possibilitaram a obtenção de muitas superfícies de resposta em virtude da análise dos valores obtidos pelos testes F, que na maioria das vezes não possibilitaram a validação de modelos lineares. Sugerindo que sejam realizados mais experimentos para a obtenção de outros modelos não lineares.

- As isotermas se comportaram segundo o modelo de Langmuir, porém com o aumento da concentração de frutose há um desvio do modelo, fazendo com que estes valores de concentração sejam desprezados no ajuste do modelo. Este desvio é verificado pelo aumento da concentração acima do patamar atingido pelo modelo de Langmuir.
- Há uma redução de cerca de 60 % na capacidade de adsorção da frutose no meio contendo dextrana com relação a capacidade de adsorção de frutose numa solução pura nas mesmas concentrações de frutose. Isto já era esperado, uma vez que o meio contendo dextrana oferece algumas dificuldades à adsorção pela zeólita, tais como, a presença de outros açúcares que competem na adsorção e a viscosidade do meio que altera as propriedades de transferência de massa entre a zeólita e o meio. É importante mencionar que a zeólita não reagiu nem adsorveu a dextrana.
- O teste cinético não ofereceu resultados muito satisfatório em virtude das dificuldades experimentais e da concentração utilizada no teste. Na concentração de frutose a qual foi realizada o teste a variação da concentração de frutose é muito pequena, o que leva a crer numa cinética de ordem zero.
- A zeólita A promoveu a isomerização da frutose em glicose devido à seletividade de forma.

## 6 - Sugestões para trabalhos futuros

- Estudar a troca iônica em zeólitas utilizando outros cátions como magnésio, potássio, céσιο e rubídio, que possuem propriedades químicas semelhantes aos estudados.
- Verificar a influência do tempo de troca iônica, abrangendo diversos períodos de troca iônica, na adsorção da frutose.
- Estudar a adsorção de outros açúcares como a glicose.
- Realizar o teste cinético de adsorção monitorando a adsorção da frutose “on line” assim como utilizando valores de concentrações iniciais menores.
- Obter as isotermas de adsorção da frutose em temperaturas superiores a 30°C, o que provavelmente aumentaria a capacidade de adsorção.

## 7 - Bibliografia

01. ALSOP, L., Industrial production of dextrans, Progress in Industrial Microbiology, 18: 1- 44, 1983.
02. BAZÁN, J. H. V., Produção de dextrana clínica por via enzimática, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 123 p., 1993.
03. BARKER, P. E.; AJONGWEN, N., The production of the enzyme dextransucrase using nonaerated fermentations techniques, Biotechnol. Bioeng., 37: 703-707, 1991.
04. BARKER, P. E.; GANETSOS, G., Production of high purity fructose from barley syrups using semi-continuous chromatography, J. Chem. Tech. Biotechnol., 35B: 217-228, 1985.
05. BARKER, P. E.; ZAFAR, I., A novel method for production of dextran and fructose, International Conference on Bioreactors and Biotransformations, Glasgow, Scotland, UK, 9-12, 1987.
06. BRECK, D. W., Zeolite Molecular Sieves, New York John Wiley & Sons Inc., cap. 2 e 7, 1974.
07. BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S.; NETO, B. B., Planejamento e otimização de experimentos, Editora da Unicamp, Campinas, 61-177, 1995.
08. CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M., Alimentos para fins especiais: dietéticos, Livraria Varela, São Paulo, 137-144, 1996.

09. CHENG, Y. L.; LEE, T. Y., Separation of fructose and glucose mixture by zeolite Y, Biotechnology and Bioengineering, 40: 498-504, 1992.
10. CHING, C. B.; HO, C.; HIDAJAT, K; RUTHVEN, D. M., Experimental study of a simulated counter-current adsorption system - V. Comparison of resin and zeolite absorbents at high concentration, Chemical Engineering Science, 42 (11) : 2547-2555, 1987.
11. CURRALERO, I. C. B., Estudo da produção de dextrana de baixo peso molecular por via enzimática, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 164 p., 1993.
12. DE BELDER, A. N., Dextran, In: Ulman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim, W. Gerhart, vol. A8, 449-454, 1987.
13. FIGUEIREDO, J. L.; RIBEIRO, F. R., Catálise heterogênea, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal, cap. 4, 1987.
14. GIANNETTO, G. P., Zeolitas: Características, Propriedades y Aplicaciones Industriales, Ed. Innovación Tecnológica, Caracas, cap. 2 e 3, 1990.
15. HANOVER, L. M.; WHITE, J. S., Manufacturing, composition, and applications of fructose, American Journal of Clinical Nutrition, 58, 724S-732S, 1993.
16. HASHIMOTO, K.; ADACHI, S.; NOUJIMA, H.; MARUYAMA, H., Models for the separation of glucose/fructose mixture using a simulated moving-bed adsorber, Journal of Chemical Engineering of Japan, 16 (5): 400-406, 1983.
17. JEANES, A., Dextran, In: Encyclopedia of Polymer Science and Technology, John Wiley and Sons Inc., vol.4, 805-824, 1966.

18. LEVENSPIEL, O., Engenharia das reações químicas, Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo, vol. 1, cap. 3, 1974.
19. MATHIAS, B.; JÖRDENING, H. J.; BUCHHOLZ, K., Kinetics of leucrose formation from sucrose by dextransucrase, Biotechnology and Bioengineering, 43: 856-864, 1994.
20. MILLER, G. L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, Anal. Chem., 31: 426-428, 1959.
21. NEELY, W. B. J., Dextran structure and synthesis, Adv. Carbohydr. Chem, 15: 34-369, 1960.
22. O'DELL, B. L, Fructose and mineral metabolism, American Journal of Clinical Nutrition, 58, 771S-778S, 1993.
23. PAWAN, G. L. S., Fructose, In: Molecular Structure and Function of Food Carbohydrate, G. G. Birch e L. F. Green, 65-80, 1973.
24. RIBY, J. E.; FUJISAWA, T.; KRETCHMER, N., Fructose absorption, American Journal of Clinical Nutrition, 58, 748S-753S, 1993.
25. SABATIE, J.; CHOPLIN, L.; PAUL, F.; MONSAN, P., The effects of synthesis temperature on the rheological properties of native dextran, Biotechnol. Letters, 8 (6), 425-430, 1986.
26. SANTOS, V. M., Estudo das condições de hidrólise ácida para obtenção de dextrana clínica, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 108 p., 1996.

27. SCHNEIDER, A. L. S., Estudo da produção de Inulinase por *Kluyveromyces marxianus* ATCC 36907, Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 137p., 1996.
28. SHERRY, H. S., The ion-exchange properties of zeolites. IV. alkaline earth ion-exchange in the synthetic zeolite linde X and Y, J. Phys. Chem., 72(12): 4086-4094, 1968.
29. SILVA, C. F.; MACHADO, N. R. C. F., Estudo da troca iônica em zeólita Y, Revista UNIMAR, 16(3): 463-479, 1994.
30. VIARD, V.; LAMELOISE, M. L., Modelling glucose-fructose separation by adsorption chromatography on ion exchange resins, Journal of Food Engineering, 17: 29-48, 1992.
31. VUILLEUMIER, S., Prospects for HFS and high intensity sweeteners, International Sugar Journal, n.o 1186, vol.99, 504-512, 1997.
32. VUILLEUMIER, S., Worldwide production of high-fructose syrup and crystalline fructose, American Journal of Clinical Nutrition, 58, 733S-736S, 1993.

## **APÉNDICE**

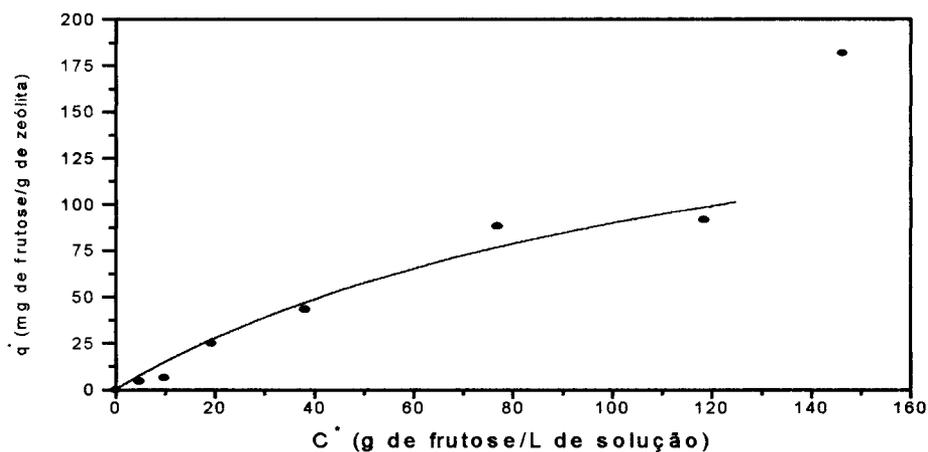


FIGURA 16: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 207$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 131$  g de frutose/L de solução).

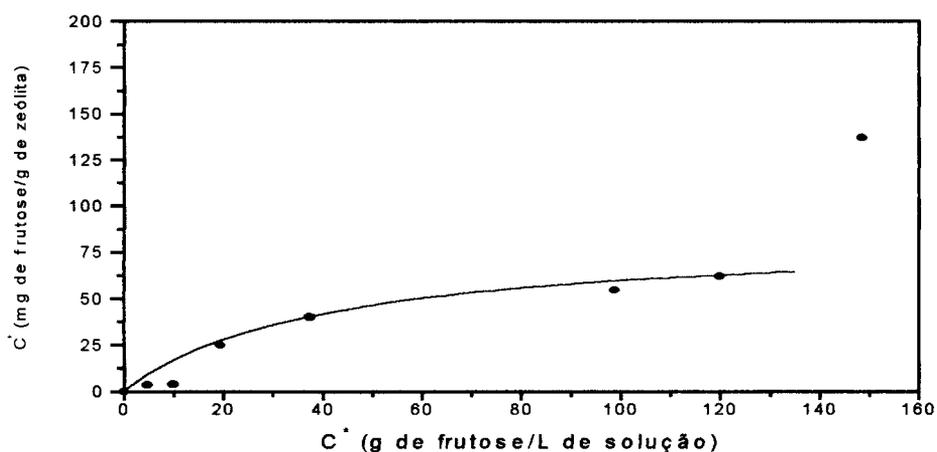


FIGURA 17: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 84$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 41$  g de frutose/L de solução).

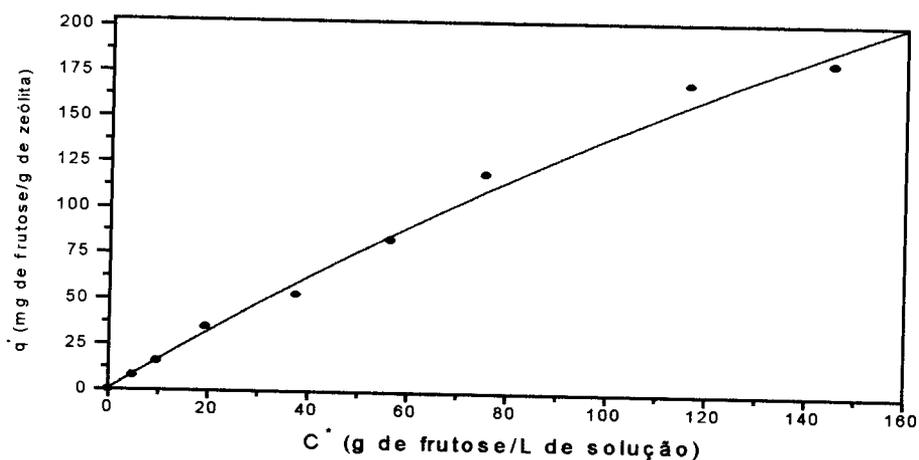


FIGURA 18: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 810$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 481$  g de frutose/L de solução).

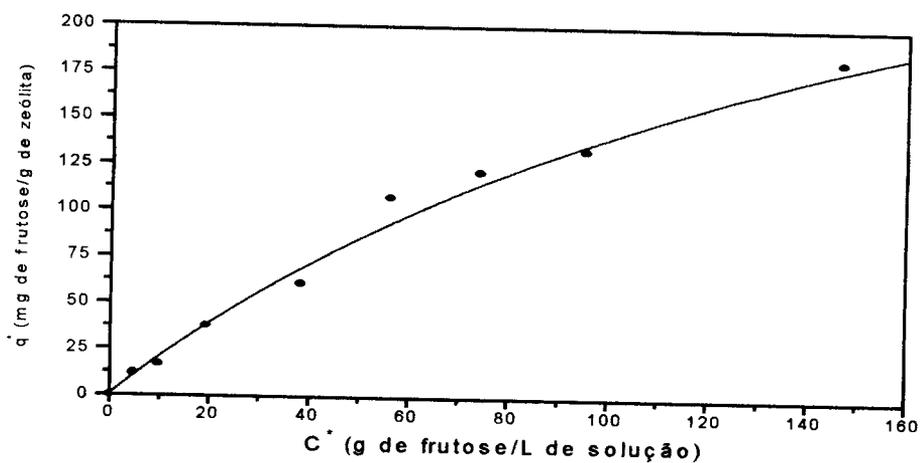


FIGURA 19: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 404$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 187$  g de frutose/L de solução).

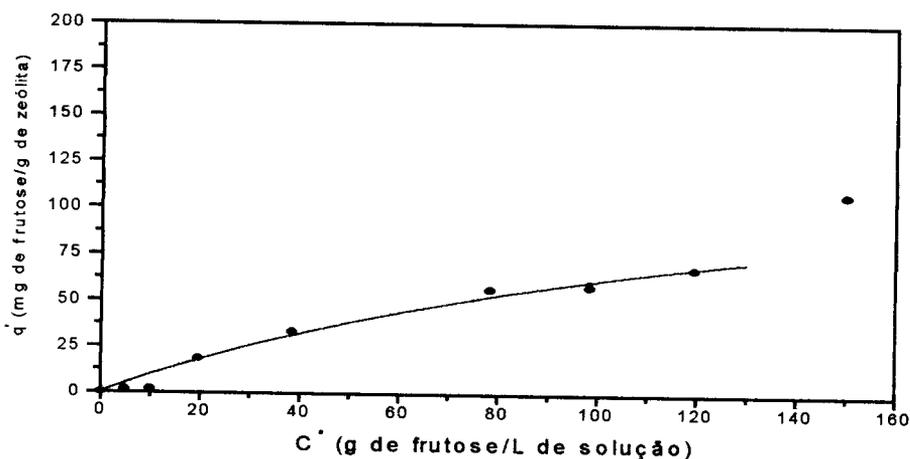


FIGURA 20: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 158$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 157$  g de frutose/L de solução).

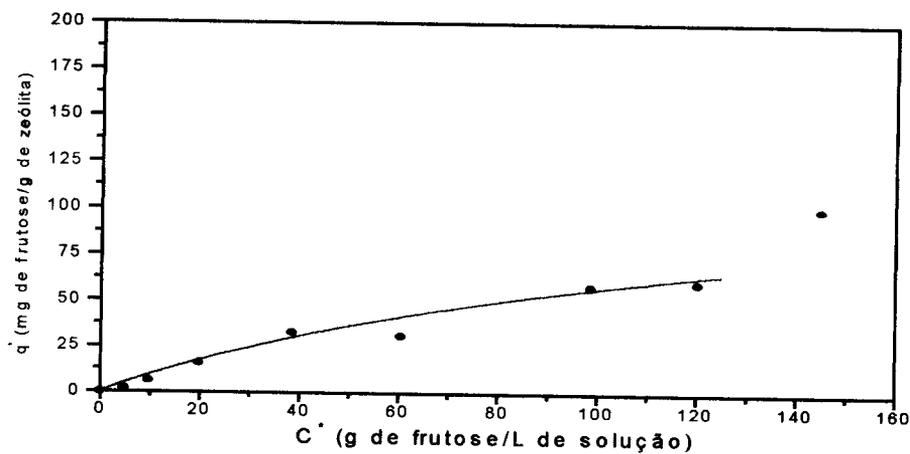


FIGURA 21: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 135$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 137$  g de frutose/L de solução).

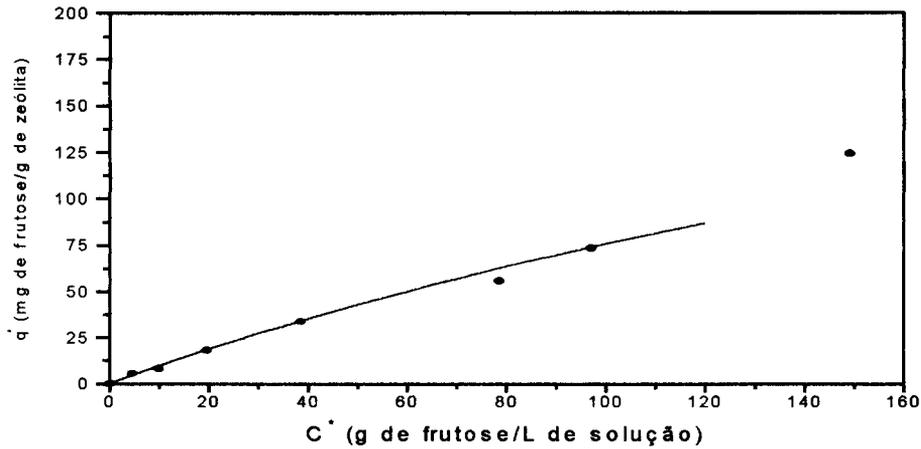


FIGURA 22: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 329$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 336$  g de frutose/L de solução).

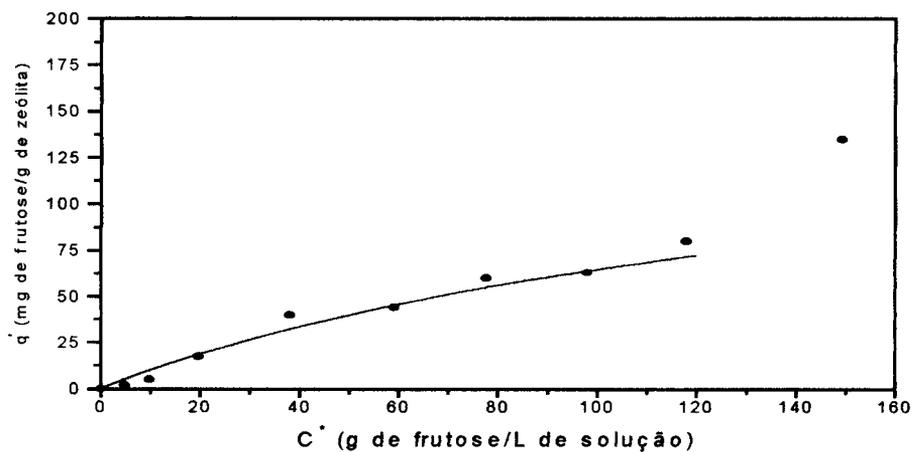


FIGURA 23: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita A trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 173$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 168$  g de frutose/L de solução).

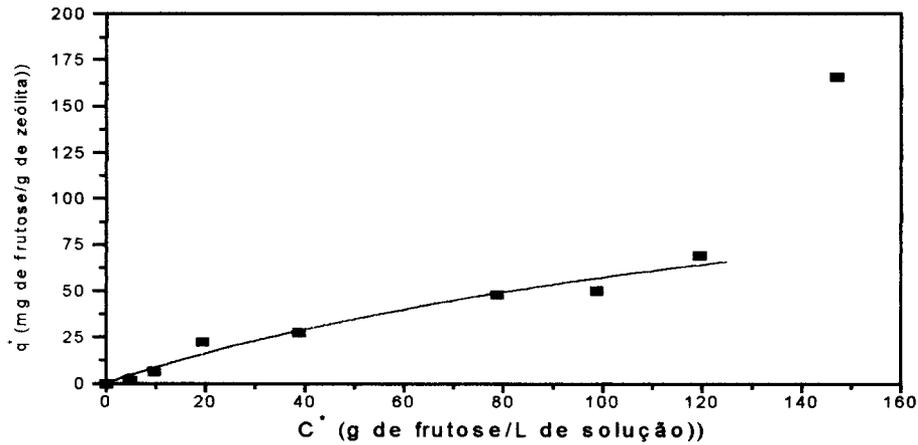


FIGURA 24: Isotherma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com cálcio durante 5 minutos ( $q_m = 162$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 184$  g de frutose/L de solução).

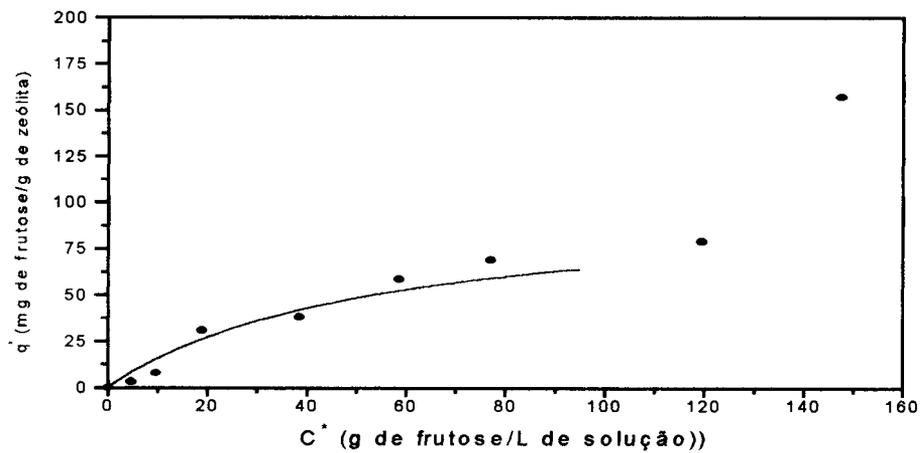


FIGURA 25: Isotherma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com bário durante 5 minutos ( $q_m = 101$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 55$  g de frutose/L de solução).

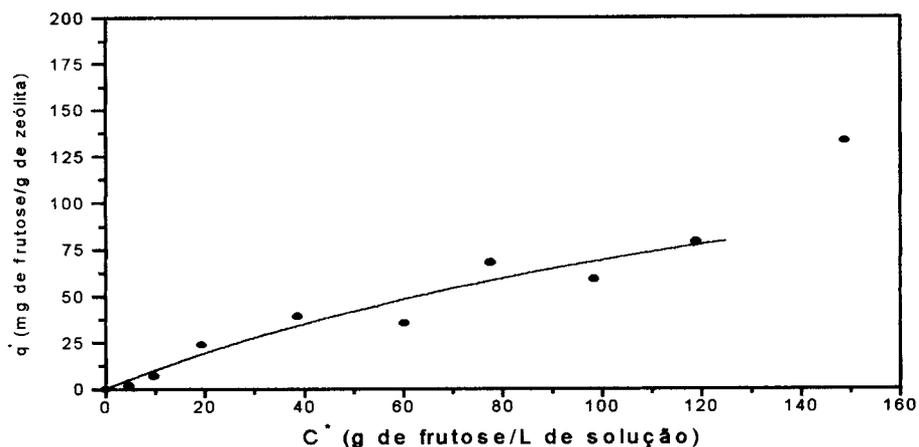


FIGURA 26: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com cálcio durante 24 horas ( $q_m = 199$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 188$  g de frutose/L de solução).

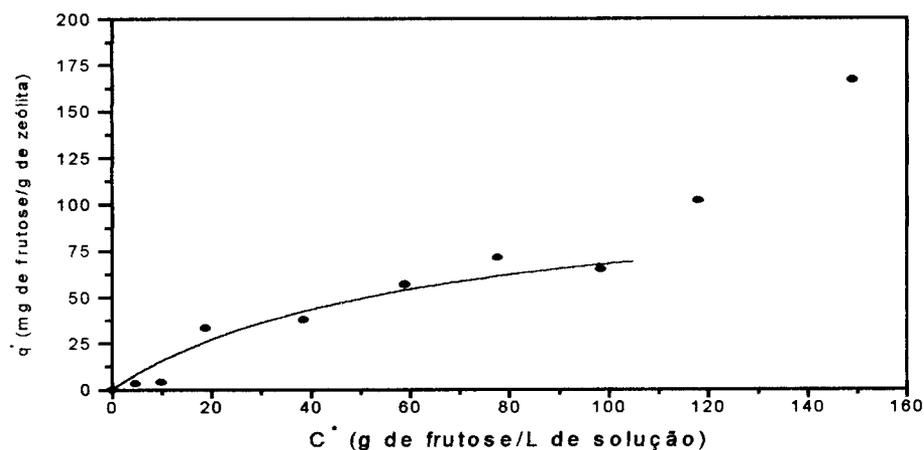


FIGURA 27: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 trocada com bário durante 24 horas ( $q_m = 110$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 62$  g de frutose/L de solução).

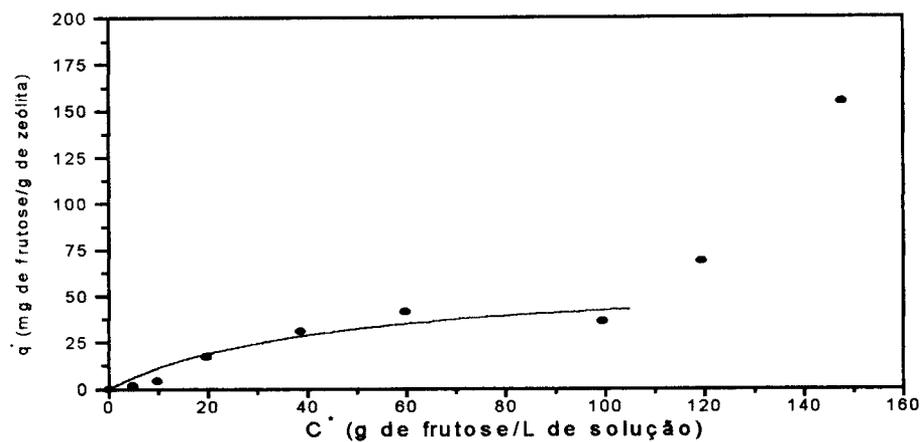


FIGURA 28: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y2 de partida ( $q_m = 62$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 47$  g de frutose/L de solução).

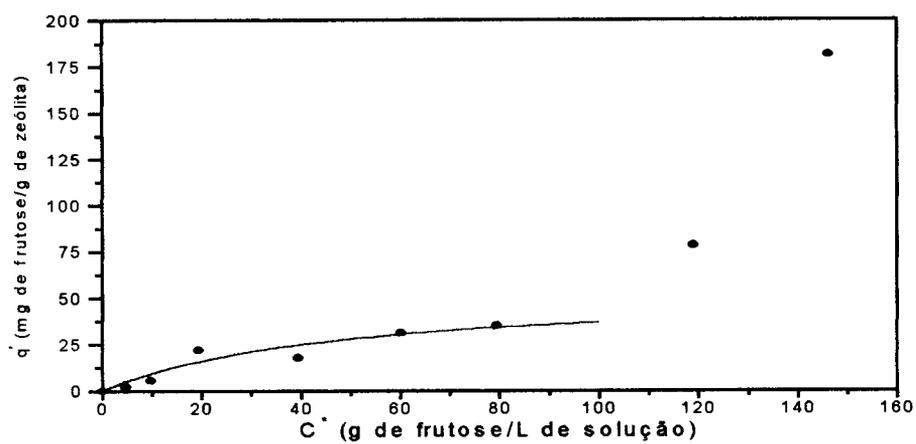


FIGURA 29: Isoterma de adsorção de frutose pela zeólita Y1 de partida ( $q_m = 55$  mg de frutose/g de zeólita,  $K_d = 49$  g de frutose/L de solução).