

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

FERNANDA THAÍS VIEIRA RUBIO

**ESTUDO DA BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE
JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*) EM RESÍDUO DE
INDÚSTRIA DE CERVEJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2014

FERNANDA THAÍS VIEIRA RUBIO

**ESTUDO DA BIOSSORÇÃO DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE
JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*) EM RESÍDUO DE
INDÚSTRIA DE CERVEJA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *Câmpus* Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk

Coorientador: Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior

CAMPO MOURÃO

2014



TERMO DE APROVAÇÃO

ESTUDO DA BIODISPONIBILIDADE DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE JABUTICABA
(*MYRCIARIA CAULIFLORA*) EM RESÍDUO DE INDÚSTRIA DE CERVEJA

POR

FERNANDA THAÍS VIEIRA RUBIO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 12 de dezembro de 2014, às 16 horas, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Charles Windson Isidoro Haminiuk
Orientador

Profa. Dr^a. Ailey Aparecida Coelho Tanamati
Membro da banca

Profa. Dr^a. Marianne Ayumi Shirai
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Câmpus* Campo Mourão.

Fátima, meu exemplo de bondade, determinação e altruísmo. A pessoa que mais amo nessa vida, minha melhor amiga, meu amor incondicional. Obrigada pela compreensão e pelas inúmeras vezes que me ajudou. O meu sucesso também é uma conquista sua. A você, a quem tenho a honra de chamar de mãe.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Se não fosse minha fé em Deus, eu até poderia alcançar todos os objetivos que sempre almejei, mas o caminho seria, com certeza, mais doloroso. Agradeço a Deus por ter me guiado para o melhor lugar possível, onde fui acolhida, aprendi a ser adulta, conheci pessoas inesquecíveis e vivi os melhores cinco anos de toda a minha vida. Se, em algum momento, fraquejei, só consegui levantar e olhar em frente por acreditar que tudo o que Ele prepara para os meus caminhos é sempre o melhor.

Agradeço aos meus pais, que sempre foram meu apoio, meu porto seguro e acreditaram em mim até mesmo quando eu mais duvidava. Sei que parti dois corações ao meio quando saí de casa e decidi viver a quilômetros de distância, mas prometi para mim mesma que não sairia daqui sem vê-los orgulhosos. Tenho por vocês o maior amor do mundo.

Ao meu avô Nelson, meu herói, pelo amor e orgulho que tem por mim. A minha felicidade é ver a sua felicidade, ver o brilho dos seus olhos.

Agradeço às minhas duas meninas, Mariana e Amanda, pelo companheirismo e pelas diversas vezes que sentamos naquele sofá marrom, seja para chorar, gargalhar ou desabafar. O sofá marrom e os momentos que passamos juntas nunca serão esquecidos. Guardo vocês num pedaço muito especial do meu coração.

A meu namorado, Guilherme, por ter o dom de me fazer esquecer de qualquer dia ruim com apenas um abraço apertado no fim do dia. Obrigada por ter me acompanhado carinhosamente nas fases mais decisivas da minha vida e por ser minha alegria, por despertar em mim o meu lado mais bonito.

Agradeço ao professor Dr. Charles, meu orientador de monitoria, iniciação científica e trabalho de conclusão de curso, por ter me concedido as melhores oportunidades no âmbito acadêmico, por confiar no meu trabalho e por ter escolhido me orientar em todas as fases da minha vida acadêmica. Obrigada pelos conselhos profissionais e para a vida. Sou extremamente grata.

Ao Marcos, técnico do laboratório e excelente profissional, por quem tenho grande admiração. Obrigada por ser sempre tão atencioso e por me dar o direcionamento necessário em meus experimentos. Ao meu coorientador, Bogdan, pessoa e profissional incrível, pela paciência e disposição para me ajudar sempre que precisei. Obrigada pela parceria em minha pesquisa.

À amiga Alini, por todos os estudos via celular na madrugada, por me permitir depositar tamanha confiança e por ter me acompanhado em minha fase mais crítica. À Jéssica: amizade tarda, mas não falha. Sou grata por você ter surgido em minha vida para adoçá-la (literalmente).

Aos colegas de sala: Tânia, Gustavo, Matheus, Rayssa, Marília, Eduardo, Rodrigo, André, Mateus, Juliana e Ana Gabriela. Toda sala tem seus defeitos e qualidades, mas, se eu tivesse que escolher, escolheria vocês de novo e de novo. Obrigada pelos laços de amizade e muitos momentos felizes que me proporcionaram.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, por sua excelência em ensino.

Agradeço à Fundação Araucária pelo apoio financeiro e interesse em minha pesquisa.

Enfim, a todos que contribuíram de algum modo para a minha formação, meu muito obrigada!

RESUMO

RUBIO, F. T. V. **Estudo da Biossorção de Antocianinas da Casca de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) em Resíduo de Indústria de Cerveja**. 2014. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

A biossorção é uma acumulação passiva e puramente físico-química de um soluto em uma interface e pode ser realizada por material biológico vivo ou morto. O processo surge como uma alternativa para o reaproveitamento de dois resíduos industriais que são despejados em abundância: as leveduras esgotadas da produção cervejeira e as cascas de jabuticaba, descarte majoritário da produção de geleias e licores. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de biossorção do composto antioxidante por um material biológico, buscando a produção de um concentrado proteico, a partir de leveduras, com características antioxidantes. A extração das antocianinas da casca de jabuticaba foi otimizada através de um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, testando três variáveis: porcentagem de álcool etílico, razão soluto/solvente e velocidade de agitação. A quantificação das antocianinas totais foi realizada pelo método de pH diferencial. As amostras destinadas ao experimento de biossorção foram preparadas com 0,05 g de levedura seca e 12,5 mL de extrato puro; agitadas em velocidade de 150 rpm, a 25 °C e em proteção da luz; retiradas em tempos regulares e centrifugadas a 5000 rpm. A quantidade de antocianinas biossorvidas foi determinada por balanço de massa e a cinética de biossorção foi modelada por equações de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem. O experimento das isotermas de biossorção foi realizado numa proporção de 50 mg de levedura seca para 12,5 mL de extrato, em agitação a 140 rpm, 25 °C e 120 minutos. A otimização da extração obteve resultados significativos, com coeficiente de determinação maior que 0,98, e sugeriu-se as seguintes condições ótimas: razão de soluto/solvente de 20 mL, concentração de etanol de 50% e velocidade de agitação de 110 rpm. O modelo de pseudo-segunda ordem foi o que melhor descreveu a sorção do processo, apresentando coeficiente de determinação também maior que 0,98. Pelo experimento das isotermas, concluiu-se que a biossorção das antocianinas da casca de jabuticaba em leveduras é um processo favorável, de natureza química, ocorre em monocamada e a superfície do sólido é uniforme e constituída de sítios idênticos e independentes entre si. A biomassa de leveduras enriquecida com o grupo antocianínico é uma alternativa interessante e promissora tanto para a indústria alimentícia e farmacêutica quanto para o reaproveitamento de resíduos industriais.

Palavras-chave: biossorção, antocianinas, leveduras, jabuticaba

ABSTRACT

RUBIO, F. T. V. **Study of Biosorption of Anthocyanins from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Shell in Brewing Industry Waste**. 2014. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

The biosorption is a purely passive and physicochemical accumulation of a solute in an interface and it can be performed by living or dead biological material. The process is an alternative to the reuse of two industrial waste discharged in abundance: the exhausted yeast of beer production and jabuticaba shells, majority disposal of the production of jams and liqueurs. The objective of this work was to study the biosorption process of anthocyanins in a biological material, trying to produce a protein concentrate, from yeast, with antioxidant properties. The extraction of anthocyanins of jabuticaba peel was optimized through an experimental design of the Box-Behnken type, testing three variables: percentage of ethanol, solute/solvent ratio and stirring speed. The quantification of anthocyanins was carried out by the pH differential method. Sampling for the biosorption experiment were prepared with 0.05 g of dry yeast and 12.5 ml of pure extract; stirred at a speed of 150 rpm at 25 ° C and in protection from light; the samples were removed at regular intervals and were centrifuged at 5000 rpm. The adsorbed quantity of anthocyanins was determined by mass balance, and the biosorption kinetics was modeled by pseudo-first order and pseudo-second order equations. The experiment of biosorption isotherms was carried out in a proportion of 50 mg to 12.5 ml dry yeast extract, stirring at 140 rpm, 25 ° C and 120 minutes. The optimization of the extraction obtained significant results, with a coefficient of determination higher than 0.98, and it was suggested the following conditions: ratio of solute/solvent of 20 ml, ethanol concentration of 50% and agitation speed of 110 rpm. The model of pseudo-second order was the best model to describe the sorption process, with a coefficient of determination also greater than 0.98. Through the isotherms experiments, it was concluded that the biosorption of the anthocyanins from the jabuticaba peels in yeast is a favorable process, chemical, and occur in monolayer and the solid surface is uniform and composed of identical and independent sites. The biomass of yeast enriched with anthocyanins is an interesting and promising alternative for the food and pharmaceutical industries and for the reuse of industrial waste.

Keywords: biosorption, anthocyanins, yeast, jabuticaba

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Foto Ilustrativa da Jabuticaba (Casca, Polpa e Sementes)	14
Figura 2. Estrutura Básica das Antocianinas	16
Figura 3. Estrutura Geral das Antocianidinas mais Comuns	16
Figura 4. Características Espectrais de Antocianinas de Rabanete Purificadas em pH 1,0 e pH 4,5	18
Figura 5. Transformações estruturais das antocianinas com as mudanças de pH...	19
Figura 6. Diagrama de Pareto da Otimização da Extração de Antocianinas das Cascas de Jabuticaba	34
Figura 7. Superfície de Contorno da Extração de Antocianinas	35
Figura 8. Gráfico do modelo de pseudo-primeira ordem ajustado ao processo	36
Figura 9. Gráfico do modelo de pseudo-segunda ordem ajustado ao processo	37
Figura 10. Gráfico do Modelo da Isotherma de Langmuir	39
Figura 11. Gráfico do Modelo da Isotherma de Freundlich.....	40
Figura 12. Gráfico do Modelo da Isotherma de Temkin.....	41
Figura 13. Gráfico do modelo da Isotherma de Dubinin-Radushkevich.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Domínio Experimental do Delineamento Box-Behnken	25
Tabela 2. Variações não codificadas das amostras preparadas.....	26
Tabela 3. Modelos de Isotermas	29
Tabela 4. Concentrações de Antocianinas em mg.L^{-1} e $\text{mg}/100 \text{ g}$, obtidas na otimização da extração de antocianinas	31
Tabela 5. Efeitos Estimados e Probabilidades.....	33
Tabela 6. Tabela de ANOVA dos dados da otimização da extração de antocianinas	33
Tabela 7. Parâmetros dos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem.	36
Tabela 8. Parâmetros das Isotermas de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin- Radushkevich para a Biossorção de Antocianinas das Cascas de Jabuticaba em Leveduras.....	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Jabuticaba (<i>Myrciaria cauliflora</i>).....	14
2.2. Antocianinas.....	15
2.2.1. Extração de Antocianinas	17
2.2.2. Quantificação de Antocianinas.....	18
2.3. Leveduras	19
2.4. Adsorção ou Biossorção	20
2.4.1. Cinética de Biossorção	21
2.4.2. Isotermas de Biossorção.....	22
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo Geral	24
3.2. Objetivos Específicos.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1. Amostras de jabuticaba.....	25
4.2. Extração de antocianinas.....	25
4.3. Quantificação das antocianinas totais.....	26
4.4. Preparo do material biossorvente e do experimento de biossorção.....	27
4.5. Determinação da quantidade de antocianinas biossorvidas	27
4.6. Cinética de Biossorção e Adequação do modelo cinético.....	28
4.7. Isotermas de Biossorção.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1. Otimização da extração de antocianinas	31
5.2. Biossorção de Antocianinas pela Biomassa de Levedura.....	35
5.3. Isotermas de Biossorção.....	37
6. CONCLUSÕES.....	43
7. REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, no contexto mundial, está entre os quatro maiores produtores de cerveja, contando com uma produção anual de, aproximadamente, 10 bilhões de litros, segundo o SINDICERV (Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja). Inevitavelmente, a indústria cervejeira também produz uma grande quantidade de resíduos ao final de seu processo (SANTOS, RIBEIRO, 2005). O principal rejeito, representando 85% dos subprodutos, é o bagaço de malte; o segundo é a levedura (REINOLD, 1997).

Além de retratarem perdas econômicas no processo produtivo (BROCHIER, 2007), os resíduos podem gerar impactos ambientais, uma vez que apresentam alta carga de material orgânico. Por isso, quando não são destinados adequadamente, poluem águas e contaminam solos afetando diretamente ao meio ambiente e a saúde humana (BROCHIER, CARVALHO, 2009; LORA, 2000).

A busca por novas tecnologias, a redução nas perdas e o reaproveitamento destes rejeitos industriais surge como uma solução para os problemas econômicos e ambientais causados pelos mesmos, de maneira a tornar sua disposição final menos impactante (MARQUES, 1995; VALLE, 2002). Pesquisas foram, então, impulsionadas com o objetivo de descobrir os potenciais nutricionais dos subprodutos cervejeiros de forma a incorporá-los na suplementação humana ou animal (COSTA, 2004; PINTO et al., 2013; SOUZA, 2010).

Segundo Araújo et al. (2009), alguns autores têm estudado a utilização de levedura como um complemento em potencial, não só devido ao seu alto teor de proteínas, mas também por se tratar de uma fonte natural de vitaminas do complexo B. As leveduras possuem um conteúdo de proteína bruta em torno de 30 a 70%, são ricas em minerais, em macro e microelementos, especialmente selênio e fibra dietética, e aminoácidos essenciais (YAMADA et al., 2003).

O excedente de levedura descartada na fermentação alcoólica está sendo empregado na alimentação humana, tanto de forma integral (célula ativa ou inativa), quanto em apenas alguns de seus componentes, como, por exemplo, polissacarídeos da parede celular e nucleotídeos (COSTA, 2004; HISANO et al., 2007).

Toda matéria orgânica de origem vegetal, animal ou microbiana pode ser classificada como biomassa. Esta pode ser produzida na natureza, sem intervenção humana; cultivada com o propósito de se obter um produto comercializável; ou gerada como subproduto de atividades antropogênicas (NOGUEIRA, NASCIMENTO, 2007). Assim que pesquisadores perceberam o potencial de biomassas como material bioissorvente, surgiu a biorremediação por microrganismos, a qual consiste na modificação ou decomposição de poluentes alvos (BENTO et al., 2003; WAIHUNG et al., 1999). Leveduras, fungos e bactérias são materiais biológicos utilizados na retenção, remoção ou recuperação de metais pesados ou qualquer outro composto, de solução aquosa, num processo denominado bioissorção (VEGLIO, BEOLCHINI, 1997; VOLESKY, 2001).

A bioissorção pode ser realizada por biomassa viva ou morta de forma rápida e reversível (GOMES et al., 1998) através da adsorção, ou seja, se trata da acumulação passiva e puramente físico-química de um soluto em uma interface, independente dos mecanismos metabólicos do microrganismo (GADD, 1990; RARAZ, 1995).

A possibilidade de, através do processo, agregar valor a um produto que já vem sendo comercializado, ao inserir na biomassa uma substância antioxidante, a antocianina, extraída das cascas de jabuticaba, torna os estudos de bioissorção atrativos.

Nativa da Mata Atlântica e pertencente à família Myrtaceae (FAVARO, 2008), a jabuticaba apresenta teores elevados de vitamina C (GIACOMETTI, LLERAS, 1994), taninos e possui alta aplicabilidade alimentícia, seja na produção de doces ou de bebidas e vinagre. Em consequência da alta produtividade e baixa vida útil da fruta, grande parte da produção é perdida. Além disso, na fabricação de seus produtos, há um descarte majoritário das cascas e sementes. Porém, principalmente na casca, a jabuticaba apresenta altos teores de antocianinas, com um valor médio de 314 mg/100g de fruta (CAVALCANTI, 2013; TERCI, 2004), que acabam sendo dispensados se não houver a opção de um aproveitamento.

Compostos antioxidantes, como as antocianinas, são empregados em alimentos com a finalidade de inibir ou retardar a ação do oxigênio atmosférico, que é o principal agente responsável pela deterioração de materiais orgânicos, inclusive das proteínas (OLIVEIRA et al., 1999; RAMALHO, JORGE, 2006). No organismo humano, as antocianinas protegem células e tecidos de agressões causadas pelos radicais

livres e espécies reativas do oxigênio, o qual pode ser produzido durante o metabolismo normal do oxigênio ou induzido por danos exógenos (VOLP, 2008).

Além das propriedades antioxidantes, as antocianinas também podem prevenir doenças cardiovasculares, reduzindo os teores elevados de colesterol e triacilgliceróis, e evitam doenças degenerativas (RIBEIRO et al., 2004). Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o processo de biossorção das antocianinas das cascas de jabuticaba por um material biológico, buscando a produção de um concentrado proteico, a partir de leveduras, com características antioxidantes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)

A jabuticaba (Figura 1), fruta nativa do Brasil e presente em grande faixa do país, do Pará ao Rio Grande do Sul (PEREIRA, 2003), é reconhecida por sua forma arredondada. Foi chamada pelos tupis de “iapoti’kaba” ou “fruta em botão” (MELETTI, 2000; GEÖCZE, 2007). Tem casca fina, lisa, muito frágil, de cor roxo-escura, polpa esbranquiçada e adocicada e pode possuir diâmetro de 1,6 a 2,2 cm (WHALEN et al., 1997; MELETTI, 2000).



Figura 1. Foto Ilustrativa da Jabuticaba (Casca, Polpa e Sementes)

Os frutos da jabuticabeira, além de serem consumidos *in natura*, podem ser aproveitados para diversas finalidades, tais como a produção de vinagre, licores, geleias, chás medicinais e sucos (MAGALHÃES et al., 1996; DONADIO, 2000; PEREIRA, 2003). A jabuticaba *in natura*, depois de colhida, deve ser imediatamente consumida ou processada, pois dispõe de uma curta vida útil: começa a ser fermentada praticamente no mesmo dia da sua extração (LOPES, 2005) e, após dois dias, apresenta alterações significativas em sua aparência e sabor, devido à perda intensa de água, fermentação da polpa e deterioração (BARROS et al., 1996; MAGALHÃES et al., 1996).

Os problemas de conservação do fruto pós colheita, associados às altas produções (cerca de 454 kg de jabuticaba por árvore), geram elevadas perdas na

época da safra. O aproveitamento destas frações desperdiçadas não só traz benefícios ecológicos e socioeconômicos como também insere nas indústrias alimentícias ou farmacêuticas uma fonte alternativa para novos produtos (CAVALCANTI, 2013).

2.2. Antocianinas

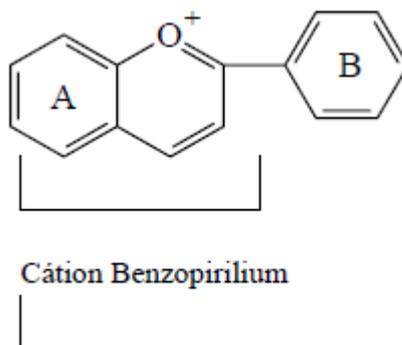
Os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático em sua estrutura química e têm estrutura variável, conferindo a eles características multifuncionais. O grupo dos fenólicos é composto por moléculas simples e moléculas com alto grau de polimerização, as quais podem estar ligadas nos vegetais em sua forma livre ou associadas a açúcares e proteínas. Dentre os fenóis distintos presentes na natureza, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (ANGELO, JORGE, 2007). A síntese dessas substâncias ocorre durante o desenvolvimento normal de plantas, em resposta a diferentes situações, tais como stress e radiações ultravioleta (HAMINIUK et al., 2012).

As antocianinas se encaixam na família dos flavonoides, agentes antioxidantes bastante presentes na dieta humana, como, por exemplo, em frutas, vegetais, flores, caules e raízes de plantas. (TAPIERO et al., 2002; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

Em 1835, Marquat utilizou, pela primeira vez, o termo antocianina como designação para pigmentos azuis encontrados em flores. A palavra “Antho”, do grego, significa flor e “Kiano”, azul (JACKMAN et al., 1987). O espectro de cor desse composto natural varia do vermelho ao azul, podendo apresentar-se como a mistura de ambas as cores, numa tonalidade púrpura (VOLP et al., 2008). Como exemplo, as cascas de jabuticaba possuem intensa coloração arroxeada devido à presença de antocianinas, dentre elas a cianidina-3-glicosídeo (ARTS, HOLLMAN, 2005; SILVA et al., 2010; EINBOND et al., 2004). Os pigmentos localizam-se, majoritariamente, em células próximas à superfície de forma a atuarem como filtro de radiações ultravioleta (TEIXEIRA et al., 2008).

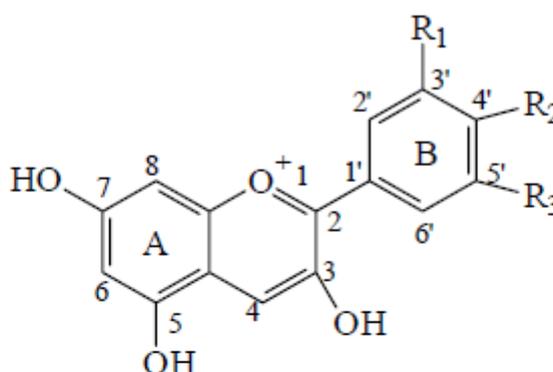
O cátion 2-fenilbenzopirillium (Figura 2), também denominado de cátion flavilium, é a estrutura básica das antocianinas. Estas apresentam-se, na maior parte das vezes, associadas a açúcares, ligados geralmente na posição 3 (Figura 3), o que auxilia na estabilização da molécula. A hidrólise destes açúcares é facilmente obtida

pelo aquecimento em meio ácido e este processo tem como produtos componentes glicídicos e as agliconas, às quais se dá o nome de antocianidinas (SILVA, 2011; KONCZAK, ZHANG, 2004; CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).



Cátion 2-fenilbenzopirilium (*flavilium*)

Figura 2. Estrutura Básica das Antocianinas
Fonte: Silva (2011)



Antocianidinas	R ₁	R ₂	R ₃
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Pelargonidina	H	OH	H
Petunidina	OMe	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe	OMe
Peonidina	OMe	OH	H

Figura 3. Estrutura Geral das Antocianidinas mais Comuns
Fonte: Silva (2011)

As antocianinas são frequentemente relacionadas com benefícios à saúde (HAMINIUK et al., 2012). Têm a atividade antioxidante como sua propriedade mais importante, uma vez que atuam na prevenção de doenças cardiovasculares, neurológicas, câncer e diabetes (KONCZAK, ZHANG, 2004). O composto antociânico evita a peroxidação de lipídeos, a agregação de plaquetas, reduz teores elevados de colesterol e triacilgliceróis. As antocianinas podem, também, ser usadas como anti-

inflamatórios (RIBEIRO et al., 2004). Além das propriedades químicas desejáveis, as suas propriedades funcionais agregam valor à imagem final do produto, atendendo às necessidades de um público que exige, cada vez mais, consumir alimentos livres de produtos químicos sintéticos (FALCÃO et al, 2007).

2.2.1. Extração de Antocianinas

O método de extração das antocianinas é definido principalmente pelo propósito da aplicação e pela natureza das mesmas. Em escala industrial, se considera, também, fatores como o custo, a praticidade e agilidade em processos (EMBRAPA, 2012; GARCIA-VIGUERA et al., 1998).

Em relação às condições de extração, as antocianinas são instáveis a alterações bruscas de temperatura. Sendo assim, não é aconselhável a extração em temperaturas acima de 60 °C, pois, acima disso, ocorre degradação térmica do composto e, conseqüentemente, há redução da sua estabilidade e da concentração das antocianinas no extrato. Além da temperatura, a exposição à luz, as variações de pH, tipo de solvente e presença de substâncias que possam reagir também podem culminar em diminuição da estabilidade (EMBRAPA, 2012).

Devido à presença dos grupos substituintes, como as hidroxilas, carboxilas, metoxilas e também das glicosilas ligadas aos seus anéis aromáticos, as antocianinas são classificadas como moléculas polares. Por isso, são mais facilmente extraídas com solventes polares (XAVIER, 2004).

Lopes et al. (2000) elucida que os métodos convencionais de extração de pigmentos geralmente empregam ácido clorídrico diluído em metanol. Entretanto, o HCl é corrosivo e o metanol apresenta alta toxicidade para o ser humano. Por isso, são preferíveis outros métodos mais simples de extração. O uso do etanol, por exemplo, é mais vantajoso se comparado com o metanol acidificado, pelo menor custo e por sua não-toxicidade. Este solvente é recomendado, principalmente, quando o composto tem propósitos alimentícios (LAPORNIK et al., 2005; FULEKI, FRANCIS, 1968). Relata-se extração eficiente de antocianinas até mesmo com água pura (JING, GIUSTI, 2007).

2.2.2. Quantificação de Antocianinas

Segundo Favaro (2008), há diversos métodos existentes para a quantificação de antocianinas, dentre os quais destacam-se aqueles que envolvem: polarografia, colorimetria, espectrofotometria UV-VIS, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrometria de massas. A quantidade de antocianinas presentes em extratos é determinada principalmente pela espectrofotometria UV-VIS.

Os métodos espectrofotométricos baseiam-se, fundamentalmente, nas transformações estruturais que as antocianinas sofrem em função das mudanças de pH a que são submetidas. O método oficial internacional para a quantificação de antocianinas é baseado no método do pH diferencial (LEE et al., 2005).

O método do pH diferencial permite resultados precisos e uma medição rápida das antocianinas totais. Estas apresentam coloração predominante e maior absorvância em pH 1,0 e coloração menos intensa e menor absorvância em pH 4,5, como pode ser verificado na Figura 4. A mudança de coloração a que as antocianinas estão sujeitas ocorre devido à formação da estrutura hemiacetal incolor em pH próximo a 5, segundo as reações mostradas na Figura 5 (GIUSTI, WROLSTAD, 2001). Em pH 1, as antocianinas estão na forma do íon flavilium, com forte coloração vermelha, e, em pH 4,5, na forma de carbinol, incolor (WROLSTAD, 1993).

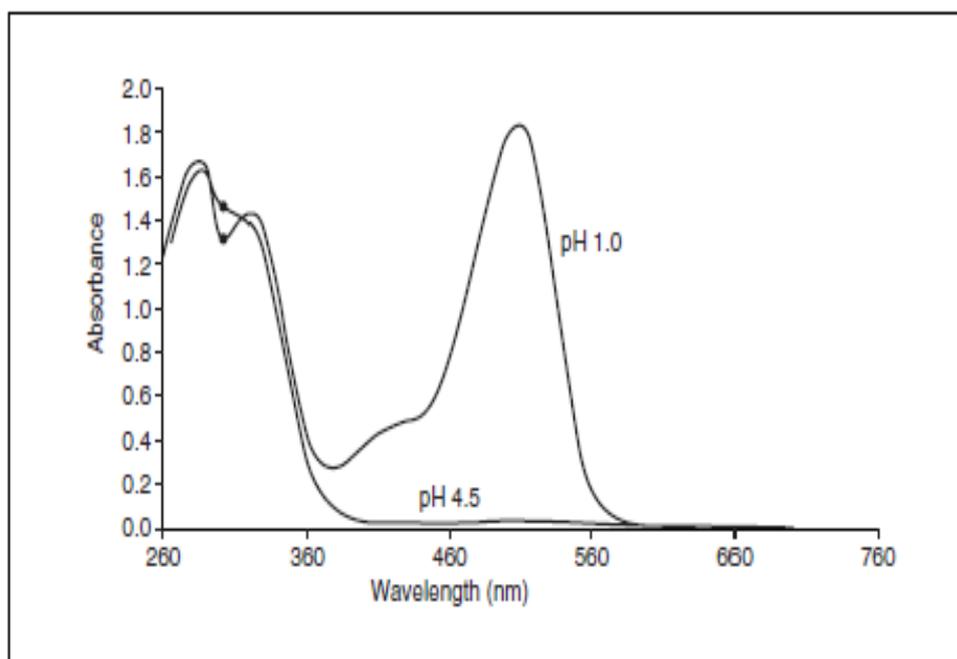


Figura 4. Características Espectrais de Antocianinas de Rabanete Purificadas em pH 1,0 e pH 4,5

Fonte: GIUSTI, WROLSTAD (2001)

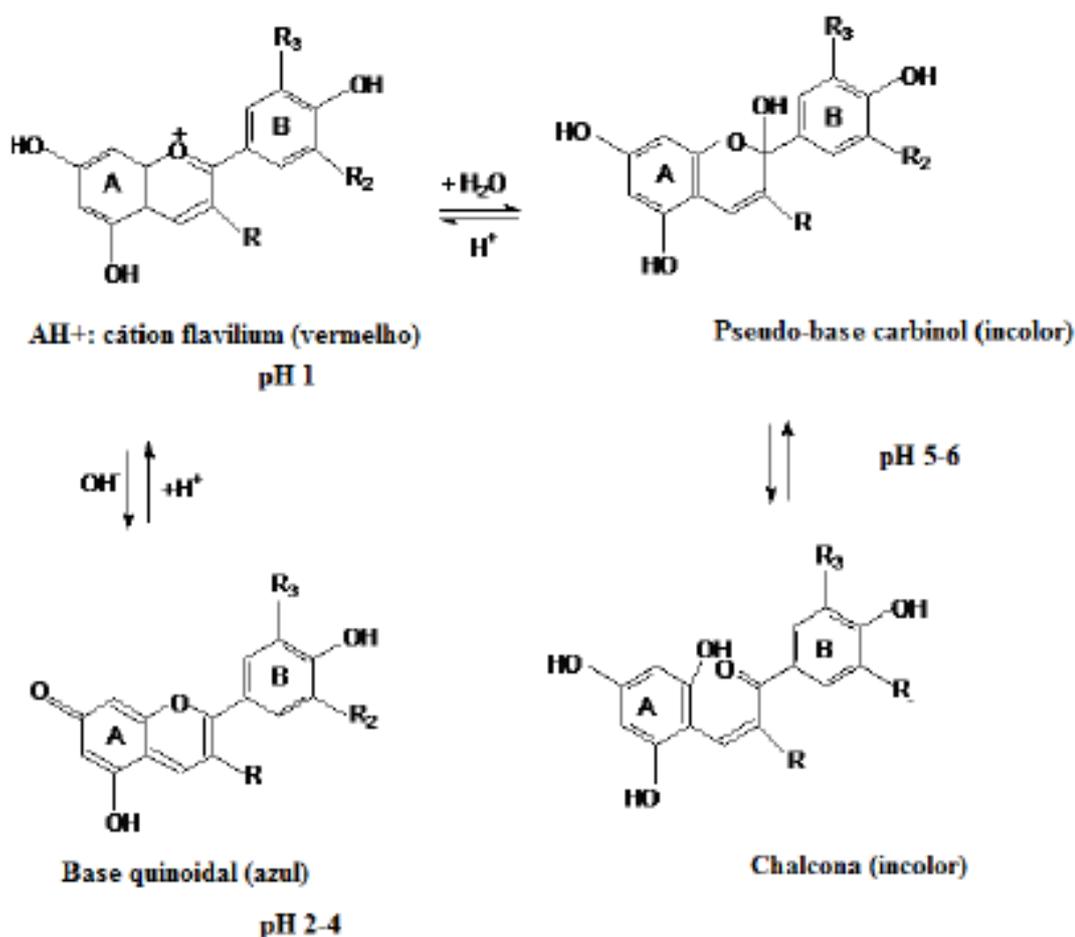


Figura 5. Transformações estruturais das antocianinas com as mudanças de pH
 Adaptado: Constant (2003)

A medição de absorvância de extratos brutos é possível porque as antocianinas possuem absorção típica numa faixa de 490 a 550 nm, diferente de outros materiais fenólicos, cuja faixa de absorção se encontra abaixo de 360 nm (GIUSTI, WROLSTAD, 2001).

2.3. Leveduras

Leveduras são seres eucariontes, predominantemente unicelulares e pertencentes ao reino Fungi. Esse tipo de microrganismo é utilizado na produção de cerveja e é responsável pela conversão de açúcares em etanol, gás carbônico e compostos aromáticos, sob condições anaeróbicas. Após o processamento da cerveja, as leveduras precipitam, são filtradas e removidas (CARVALHO et al., 2006; VENTURINI, 2005; CARVALHO et al., 2007).

A crescente produção de cerveja gera excedentes de levedura. A cada cem litros da bebida, são descartados 2,8 litros de biomassa (SHOTIPRUK et al., 2005; MARTINS, 2008). A maior parte dos resíduos de leveduras é utilizada como suplemento alimentar e uma grande quantidade é considerada lixo industrial (CHAE et al., 2001; SHOTIPRUK et al., 2005).

As leveduras apresentam um teor de proteína bruta de 30 a 70% e de 20 a 30% de carboidratos, sendo, na maioria, polissacarídeos localizados na parede celular e, em menor proporção, carboidratos de reserva energética (glicogênio e trealose) (CARVALHO, 2001). São fonte, também, de lipídeos, RNA, vitaminas, principalmente do complexo B, e minerais, além de serem uma fonte barata de nitrogênio (YAMADA et al., 2003; CHAE et al., 2001).

As leveduras recebem pouca atenção e sua disposição acarreta em problemas ambientais. No entanto, pode ser utilizada em diversos processos biotecnológicos, processos fermentativos para a produção de compostos com valor agregado ou simplesmente como matéria-prima para a extração de compostos (FERREIRA et al., 2010), de forma a reaproveitar um resíduo industrial e suas características.

2.4. Adsorção ou Biossorção

O termo biossorção pode ser definido como um processo em que se utiliza biomassa vegetal ou microbiana para reter, remover ou recuperar metais pesados ou outros compostos em soluções aquosas. Trata-se de uma adsorção com base biológica. Neste processo, os microrganismos sequestram o metal ou composto por meio de ligações de superfície, diferente da absorção, que engloba não só reações de superfície, como precipitações, e formação de complexos intra e extracelulares (VOLESKY, 2001).

A biossorção é um processo rápido, passivo, reversível, independente de energia metabólica e pode ser realizado por matéria orgânica viva ou morta. Depende de parâmetros como pH, tipo do metal a ser removido, concentração do íon, concentração de biomassa, volume de solução e temperatura (GADD, 1993; GOMES et al., 1998, KAPOOR, VIRARAGHAVAN, 1995).

Dentre os materiais biossorventes, estão os microrganismos (bactérias, microalgas, fungos, leveduras) e vegetais macroscópicos (algas, gramíneas, plantas

aquáticas). Partes ou tecidos específicos de vegetais (casca, bagaço, sementes) também apresentam a capacidade de acumulação por adsorção (COSTA et al., 2011).

Segundo Borba et al. (2012), os mecanismos de transferência de massa presentes no processo de adsorção são os seguintes: 1) difusão do soluto do seio da fase fluida para a superfície do adsorvente; 2) adsorção do soluto na superfície do adsorvente; 3) difusão do soluto nos poros do adsorvente.

A adsorção pode ser de natureza química ou física. Na adsorção química, a energia de ligação envolvida é da mesma ordem de grandeza das ligações químicas de formação das substâncias. Por isso, a quimiossorção é, na maioria das vezes, irreversível. Já na adsorção física, são envolvidas forças de Van der Waals (repulsão e dispersão) e interações eletrostáticas compreendendo as interações de polarização e dipolo (RUTHVEN, 1984; YOUSSEF et al., 2004)

Os estudos de biossorção têm sido realizados principalmente com o intuito de remover ou reter metais pesados ou poluentes de soluções aquosas (SEKHAR et al., 1998; VOLESKY, HOLAN, 1995; MACIEL et al., 2013). Quanto à adsorção de antocianinas, existem estudos apenas utilizando adsorventes sintéticos (SCORDINO et al., 2004; LIU et al., 2007; CHANG et al., 2012; KOHNO et al., 2014). Não há relatos sobre a utilização de leveduras para essa finalidade.

2.4.1. Cinética de Biossorção

Os modelos cinéticos têm como finalidade relacionar a concentração do adsorvato (material a ser adsorvido) com o tempo de agitação. Essa concentração, em solução, decresce com o tempo, até atingir um valor constante, ou seja, até que seja alcançado o equilíbrio dinâmico entre a quantidade do adsorvato com a quantidade que está sendo desorvida. O tempo necessário para alcançar este estágio é chamado tempo de equilíbrio e a quantidade do material adsorvido retido neste tempo reflete a capacidade de adsorção no equilíbrio em condições estabelecidas (DABROWSKI, 2001).

2.4.2. Isotermas de Biossorção

As isotermas são uma relação de termodinâmica de equilíbrio entre as fases fluida e sólida do sistema. Elas mostram a capacidade de adsorção de um adsorvente, Dessa forma, o processo de adsorção pode ser avaliado quantitativamente por meio das isotermas (SCHNEIDER, 2006).

Quando uma massa de material biossorvente é agitada com um volume de solução com concentração conhecida de soluto, em uma determinada temperatura, essa amostra terá o seu equilíbrio atingido após um período de tempo. Nesta situação, o soluto terá uma distribuição definida entre as fases sólida e líquida. Ao realizar esse procedimento para soluções com concentrações crescentes de soluto, é possível construir isotermas de adsorção, as quais relacionam a capacidade de sorção do sólido com a concentração residual do soluto a uma dada temperatura (SCHNEIDER, 1995).

Alguns dos modelos mais aplicados para isotermas são as Isotermas de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich. A isoterma de Langmuir é o modelo de isoterma de adsorção mais simples e utilizado. A teoria de Langmuir considera que as moléculas são adsorvidas e aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados (SCHNEIDER, 2006). Cada sítio pode acomodar uma, e somente uma, entidade adsorvida, satisfazendo a regra da monocamada. A energia da entidade adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e não depende da presença ou ausência de outras entidades adsorvidas nos sítios vizinhos (FERNANDES, 2005).

Segundo SCHNEIDER (2006), a isoterma de Freundlich corresponde a uma distribuição exponencial de calores de adsorção e não prevê a saturação do adsorvente. Este modelo admite uma distribuição logarítmica de sítios ativos, que constitui um tratamento válido quando não existe interação apreciável entre as moléculas de adsorvato.

As isotermas de Temkin propõem um modelo que considera os efeitos das interações indiretas entre as moléculas de adsorvato. Este modelo segue o princípio de que o processo de adsorção é caracterizado por uma distribuição uniforme da energia de ligação, até um máximo e o calor de adsorção de todas as moléculas da camada diminui linearmente com o grau de cobertura, devido às interações adsorvente-adsorvato (TEMKIN, PYZHEV, 1940).

Já a isoterma de Dubinin-Radushkevich, é aplicada para distinguir se o processo de adsorção é de natureza física ou química. Neste modelo, a vizinhança da superfície do sólido é caracterizada por uma série de equipotenciais superficiais, ou seja, todos os pontos apresentam o mesmo potencial de sorção (DUBININ, RADUSHKEVICH, 1947).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Estudar a biossorção de antocianinas extraídas de cascas da jabuticaba em leveduras que se tornam inviabilizadas na produção de cerveja.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a concentração de antocianinas totais da casca de jabuticaba;
- Otimizar a extração de antocianinas das cascas de jabuticaba;
- Determinar a quantidade de antocianinas biossorvidas pelas leveduras;
- Adequar os modelos cinéticos para descrever a sorção do processo;
- Ajustar modelos de isoterma aos dados experimentais para avaliar o processo de biossorção.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Amostras de jabuticaba

As jabuticabas foram obtidas na CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo), localizada na cidade de São Paulo, SP, da safra de janeiro de 2014. As frutas foram selecionadas, imersas em solução de água e hipoclorito de sódio a 1% e lavadas com água corrente em abundância. Foi realizada, então, a separação manual de casca e polpa. A polpa de jabuticaba foi armazenada em ultrafreezer a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e as cascas foram submetidas à secagem em estufa a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, até massa constante, e posterior moagem em moinho de facas.

4.2. Extração de antocianinas

A extração das antocianinas foi otimizada segundo um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, cujas três variáveis foram: porcentagem de álcool etílico, razão soluto/solvente e a velocidade de agitação (rpm) a que as amostras foram submetidas. Os três níveis de variação do delineamento estão apresentados na Tabela 1, e, na Tabela 2, estão expressas em valores não codificados as variáveis para cada uma das quinze amostras que foram preparadas.

Tabela 1. Domínio Experimental do Delineamento Box-Behnken

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Concentração de Etanol (%)	30	40	50
Razão soluto/solvente (g.mL^{-1})	1:20	1:30	1:40
Velocidade de Agitação (rpm)	100	110	120

O tempo de extração foi fixo em quatro horas. Passado este tempo, as amostras foram submetidas à centrifugação a 5000 rpm por 10 minutos, de forma que a parte sólida fosse separada da parte líquida. O sobrenadante era o extrato que foi utilizado para análises posteriores.

Tabela 2. Variações não codificadas das amostras preparadas

Amostras	Concentração de Etanol (%)	Razão Solute/Solvente (g.mL⁻¹)	Velocidade de Agitação (rpm)
1	30	(1:20)	110
2	50	(1:20)	110
3	30	(1:40)	110
4	50	(1:40)	110
5	30	(1:30)	100
6	50	(1:30)	100
7	30	(1:30)	120
8	50	(1:30)	120
9	40	(1:20)	100
10	40	(1:40)	100
11	40	(1:20)	120
12	40	(1:40)	120
13	40	(1:30)	110
14	40	(1:30)	110
15	40	(1:30)	110

4.3. Quantificação das antocianinas totais

A quantificação de antocianinas foi feita segundo o método de pH diferencial, proposto por Giusti e Wrolstad (2001). Tal método se baseia na medição espectrofotométrica (em 520 nm e 700 nm) das absorbâncias das amostras de extrato puro de antocianinas em duas faixas de pH, 1 e 4,5, através das soluções de cloreto de potássio (KCl) a 0,025 mol.L⁻¹ e de acetato de sódio (CH₃COONa) a 0,4 mol.L⁻¹, respectivamente. Os cálculos dos teores de antocianinas totais (g.mL⁻¹ e g/ 100g) foram feitos através da Equação 1 e da Equação 2, propostas por Giusti e Wrolstad (2001).

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad (1)$$

$$MA = \frac{A \times M \times DF \times 1000}{\lambda \times \epsilon} \quad (2)$$

Onde: A_{520} = Absorbância medida em 520 nm e A_{700} = Absorbância medida em 700 nm; MA é a concentração do pigmento de antocianina monomérica (mg.L⁻¹); M é a massa molar das antocianinas (g.mol⁻¹); DF é o fator de diluição da amostra; ϵ é o coeficiente de extinção molar (L⁻¹mol⁻¹) e λ é o comprimento do caminho óptico da

cubeta (1 cm). Segundo Giusti e Wrolstad (2001), quando não se tem conhecimento do tipo de antocianina majoritário na amostra, calcula-se o teor de pigmento como cianidina-3-glicosídeo, que possui valores de $M = 449,2 \text{ g.mol}^{-1}$ e $\epsilon = 26900 \text{ L}^{-1}\text{mol}^{-1}$.

4.4. Preparo do material bioissorvente e do experimento de bioissorção

As leveduras foram obtidas na Cervejaria Araucária, situada na cidade de Maringá (PR), no mês de julho de 2014. O material orgânico foi lavado com água destilada para que fossem retirados resíduos de cerveja. As leveduras foram, então, armazenadas em ultrafreezer, a -80°C , por 24 horas para serem congeladas e, posteriormente, submetidas à liofilização por 48 horas. Terminada a liofilização, o material foi armazenado em embalagens fechadas a vácuo.

As oito amostras destinadas ao experimento de bioissorção foram preparadas na proporção de 0,05 g de levedura seca para cada 12,5 mL de extrato puro (extraído na faixa otimizada). As condições experimentais definidas conforme Maciel et al. (2013), foram: agitação em velocidade de 150 rpm, a 25°C e em proteção da luz. As amostras foram agitadas por períodos de 4 horas, 2 horas, 1 hora, 30 minutos, 15 minutos, 10 minutos, 5 minutos e 1 minuto, respectivamente, e foram retiradas juntas. Cada amostra retirada seguia para a centrifugação a 5000 rpm por 10 minutos, de forma a separar a solução aquosa da parte sólida.

O extrato, após centrifugação, foi utilizado para quantificar as concentrações finais de antocianinas, através da metodologia do pH diferencial (GIUSTI, WROLSTAD, 2001).

4.5. Determinação da quantidade de antocianinas bioisorvidas

A quantidade de antocianinas bioisorvidas pela biomassa de leveduras (mg.g^{-1} de biomassa seca) foi obtida por balanço de massa, através da Equação 3 a seguir, segundo Maciel et al., (2013).

$$q = \frac{C_o - C_f}{M} \cdot V \quad (3)$$

Onde: q = capacidade de sorção (mg.g^{-1}); C_0 = concentração inicial de antocianina no extrato, antes da biossorção (mg.L^{-1}); C_f = concentração final de antocianina no extrato (mg.L^{-1}); V = volume da fase aquosa (L); M = quantidade de biomassa (g).

4.6. Cinética de Biossorção e Adequação do modelo cinético

Duas equações, de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem, respectivamente, foram utilizadas para modelar a cinética de biossorção das antocianinas, segundo Maciel et al., (2013).

$$\frac{1}{q} = \frac{K_1}{(q_e t)} + \frac{1}{q_e} \quad (4)$$

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (5)$$

Onde: q = capacidade de sorção (mg.g^{-1}) no tempo t ; q_e = capacidade de sorção (mg.g^{-1}) no equilíbrio; e K_1 e K_2 são as constantes de velocidade das Equações 4 e 5, respectivamente.

Entretanto, para comparar a adequação dos modelos cinéticos, a fim de descrever a sorção do processo, foi calculado o desvio padrão normalizado, Δq (%), a partir da Equação 6 (MACIEL et al., 2013). Quanto menor o seu valor, melhor o ajuste para os dados.

$$\Delta q(\%) = 100 \cdot \sqrt{\frac{\sum[(q_{exp} - q_{cal})/q_{exp}]^2}{n - 1}} \quad (6)$$

Onde: q_{exp} e q_{cal} representam o valor experimental e o calculado de q , respectivamente, e n é o número de dados.

4.7. Isotermas de Biossorção

Para realizar o experimento de biossorção, primeiramente, foi feita a extração, em condições ótimas, das antocianinas da casca de jabuticaba. As antocianinas foram quantificadas pelo método do pH diferencial. Uma vez encontrada a concentração de antocianinas, diluiu-se cinco vezes o extrato, diminuindo a concentração de dez em dez. Como nos experimentos a concentração inicial de antocianinas foi de 77,7 mg.L⁻¹, diluiu-se esse extrato com etanol 50% obtendo-se as seguintes concentrações: 67,7, 57,7, 47,7, 37,7 e 27,7 mg.L⁻¹. Então, em seis erlenmeyers, foram misturados os seis extratos, nas diferentes concentrações, com 50 mg de levedura seca. As amostras foram agitadas a 25 °C, a 140 rpm e por 120 minutos (tempo de equilíbrio obtido a partir da cinética de adsorção). Foram utilizados os modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich (Tabela 3) para descrever e avaliar o comportamento do processo de adsorção das antocianinas em material biológico.

Tabela 3. Modelos de Isotermas

Isoterma	Equação
Langmuir	$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_0 K_L} + \frac{C_e}{q_0} \quad (7)$
Freundlich	$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (8)$
Temkin	$q_e = B \ln A + B \ln C_e \quad (9)$
Dubinin-Radushkevich	$\ln q_e = \ln q_s - \beta \varepsilon^2 \quad (10)$

Fonte: MACIEL et al. (2013)

Onde: q_e = capacidade máxima de sorção em equilíbrio (mg.g⁻¹); C_e = concentração de equilíbrio na solução (mg.L⁻¹); q_0 = capacidade de cobertura máxima em monocamada (mg.g⁻¹); K_L = constante da isoterma de Langmuir (L.mg⁻¹); A = constante da isoterma de ligação de equilíbrio (L.g⁻¹); B = constante da isoterma de Temkin (J.mol⁻¹); K_F = constante da isoterma de Freundlich (L.g⁻¹); n = intensidade de adsorção; q_s = capacidade de saturação teórica (mg.g⁻¹); β = constante da isoterma de Dubinin-Radushkevich [mol².(KJ²)⁻¹]; ε = potencial de Polanyi.

A constante adimensional “ R_L ”, do modelo de Langmuir, também chamada de fator de separação ou parâmetro de equilíbrio, pôde ser calculada através da Equação 11, retirada de Langmuir (1918).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (11)$$

Na qual C_0 (mg.L^{-1}) expressa concentração inicial adsorvida em solução aquosa; K_L (L.mg^{-1}) é a constante de Langmuir.

No modelo da isoterma de Temkin, o parâmetro B foi determinado utilizando-se a Equação 12 (FARAH et al., 2007).

$$B = \frac{RT}{b} \quad (12)$$

Onde T é a temperatura absoluta (K); R se trata da constante universal dos gases ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$); e b é o coeficiente angular obtido através gráfico da isoterma de Temkin.

Para o cálculo do Potencial de Polanyi, do modelo de Dubinin-Radushkevich, foi utilizada a Equação 13 (ABDELWAHAB, AMIN, 2013).

$$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (13)$$

Onde R é a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$); T é a temperatura absoluta (K); e C_e é a concentração de equilíbrio na solução (mg.L^{-1}).

A energia livre de adsorção (E) foi calculada utilizando a Equação 14 (HAMAYUN et al., 2014).

$$E = \frac{1}{\sqrt{-2\beta}} \quad (14)$$

Onde β é a constante da isoterma de Dubinin-Radushkevich [$\text{mol}^2. (\text{KJ}^2)^{-1}$].

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Otimização da extração de antocianinas

A eficiência de extração das antocianinas depende de diversos fatores, tais como a concentração do solvente empregado na extração, a temperatura de extração, polaridade do solvente, a exposição à luz, tempo de extração, variações de pH (EMBRAPA, 2012) e, por isso, se torna necessário encontrar uma faixa em que a extração do composto seja ótima, ou seja, tenha os melhores resultados, dadas determinadas condições. Através do planejamento experimental, torna-se possível avaliar simultaneamente o efeito de variáveis que influenciam nas respostas, por meio de um número reduzido de ensaios experimentais, descartando técnicas de tentativa e erro.

Seguindo o delineamento experimental proposto para a otimização da extração de antocianinas, a concentração de antocianinas em mg de cianidina-3-glicosídeo por litro de extrato e a concentração de antocianinas em mg de cianidina-3-glicosídeo em 100 g de casca de jabuticaba estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Concentrações de Antocianinas em mg.L⁻¹ e mg/100 g, obtidas na otimização da extração de antocianinas

Amostra	Concentração de Antocianinas (mg.L⁻¹)	Concentração de Antocianinas (mg/100 g)
1	65,46	130,92
2	86,95	173,89
3	19,15	76,59
4	48,09	192,37
5	32,95	98,86
6	55,99	167,99
7	32,17	96,52
8	63,79	191,37
9	61,23	122,46
10	45,09	180,35
11	35,73	71,47
12	34,84	139,38
13	44,86	134,59
14	41,75	125,24
15	46,20	138,60

O ensaio 4, cujas condições de extração foram: 40 mL de etanol 50% para 1 g de casca de jabuticaba e velocidade de agitação de 110 rpm, obteve a concentração mais alta, de 192,37 mg/100 g. Ao extrair antocianinas de 1 g de casca da fruta com 20 mL de etanol 40%, em agitação de 120 rpm, obteve-se a menor concentração, de 71,47 mg/100 g. Em estudos realizados por Silva (2011), quantificou-se o teor de antocianinas totais de um extrato preparado a partir de 10 g da casca de jabuticaba e uma solução extratora de dióxido de enxofre. O teor do composto nos diferentes ensaios da autora variou de 111,01 a 239,27 mg/100 g de casca de jabuticaba. Moura et. al. (2009) determinaram o valor de 432,08 mg/100 g em 1 kg de casca de jabuticaba fresca macerado em 2,5 L de etanol 70% acidificado com HCl a pH 2. Nestas mesmas condições, Kukoski (2006), observou valores médios que variavam de 111,2 mg/100 g a 420,09 mg/100 g.

A quantidade e composição de antocianinas presentes em frutas diferem dependendo de sua espécie, cultivo, maturidade, condições climáticas (VALDUGA, 2008) e das condições de extração. Por isso, a comparação de teores de antocianinas dentre diferentes culturas de uma mesma fruta ou dentre culturas sob iguais condições de cultivo, crescimento e fertilização pode resultar em variações de quantidade (FAVARO, 2008).

Através do delineamento Box-Behnken, foram obtidos os efeitos estimados, a tabela de ANOVA (análise de variância) e as superfícies de resposta para a otimização da extração de antocianinas.

Na Tabela 5, são apresentados os efeitos lineares (L) e quadráticos (Q) de cada variável e suas respectivas significâncias. Os valores do coeficiente de determinação, coeficiente de determinação ajustado e do erro médio quadrático foram, respectivamente, 0,99683, 0,98521 e 4,22686. O efeito primário mais importante foi a razão de soluto/solvente (linear). O sinal negativo indica que há uma diminuição média de 31,23 mg.L⁻¹ na concentração de antocianinas quando a razão de soluto e solvente é aumentada de um nível inferior para um nível superior. Com isso, infere-se que o nível mais baixo, de 1/20 (g.mL⁻¹), é o mais adequado para a extração dos compostos antioxidantes.

Tabela 5. Efeitos Estimados e Probabilidades

Fator	Efeito	p
(1) Etanol (L)	26,27	0,000370
(1) Etanol (Q)	-6,32	0,009679
(2) Razão Soluto/Solvente (L)	-31,23	0,000258
(2) Razão Soluto/Solvente (Q)	-4,32	0,027355
(3) Velocidade de Agitação (L)	-3,62	0,099304
(3) Velocidade de Agitação (Q)	4,37	0,026598
1L por 2L	3,73	0,167324
1Q por 2L	17,03	0,001336
1L por 3L	4,29	0,128422
1Q por 3L	-10,69	0,005202
2L por 3L	7,62	0,034061

Observa-se que as probabilidades da variável 1 (L) em interação com as variáveis 2 (L) e 3 (L) não foram significativas. Essas interações não foram removidas porque esta operação alteraria o modelo de forma indesejada, diminuindo o coeficiente de determinação ajustado e aumentando o erro médio quadrático. É possível observar, também, que o efeito da velocidade de agitação (L) não é significativo, uma vez que $p > 0,05$, entretanto, sua interação com 1 (Q) e 2 (L) é significativa. Portanto, respeitando a hierarquia, o efeito inferior, 3 (L), não foi removido. Assim, a combinação das três variáveis escolhidas foi significativa para a extração das antocianinas da jabuticaba.

Tabela 6. Tabela de ANOVA dos dados da otimização da extração de antocianinas

Fator	SQ	GL	MQ	F	p
(1) Etanol L+Q	1528,12	2	764,06	180,76	0,000747
(2) Razão Soluto/Solvente L+Q	1824,08	2	912,04	215,77	0,000574
(3) Velocidade de Agitação L+Q	93,91	2	46,96	11,11	0,041033
1*2	594,14	2	297,07	70,28	0,003021
1*3	246,81	2	123,40	29,20	0,010803
2*3	58,15	1	58,15	13,76	0,034061
Erro	12,68	3	4,23		
Total SQ	4001,16	14			

Na Tabela 6, observa-se que as variáveis apresentadas foram todas significativas a nível de 5%. No gráfico de pareto apresentado na Figura 6, observa-se que os efeitos mais importantes são todos que se encontram à direita da reta dos 5%. Quanto mais à direita, mais significativo é o efeito. A razão soluto/solvente apresenta-se como o efeito mais importante, seguido da concentração de etanol. A

velocidade de agitação (L), a interação entre 1 (L) e 2 (L) e 1 (L) e 3 (L), não apresentaram significância a nível de 5%, como já discutido anteriormente.

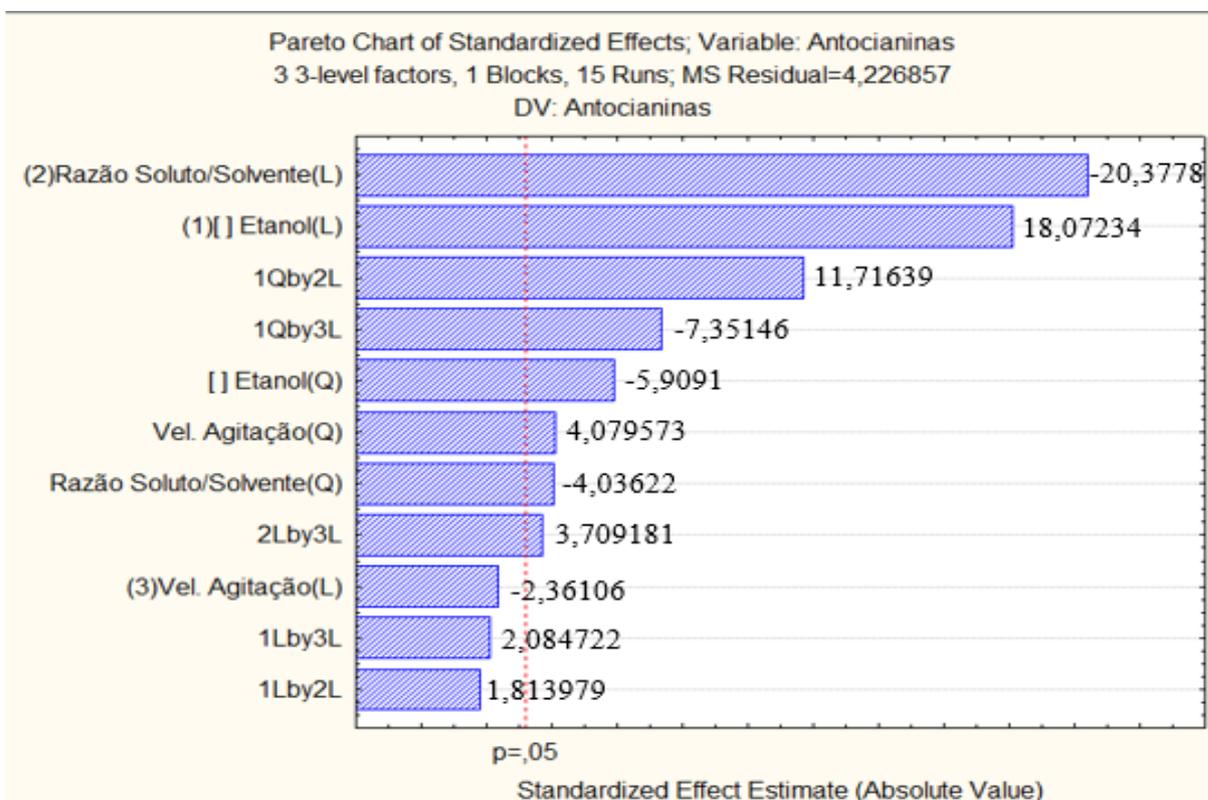


Figura 6. Diagrama de Pareto da Otimização da Extração de Antocianinas das Cascas de Jabuticaba

Posteriormente à obtenção de um modelo matemático significativo, foi possível determinar uma faixa ótima de extração de antocianinas. A partir da Figura 7, observa-se que a cor vermelha fica mais intensa quando o nível da concentração de etanol é superior e o nível da razão de soluto/solvente é inferior, com a velocidade de agitação fixada no nível 0. A cor mais acentuada indica a faixa onde as variáveis fornecem uma extração ótima.

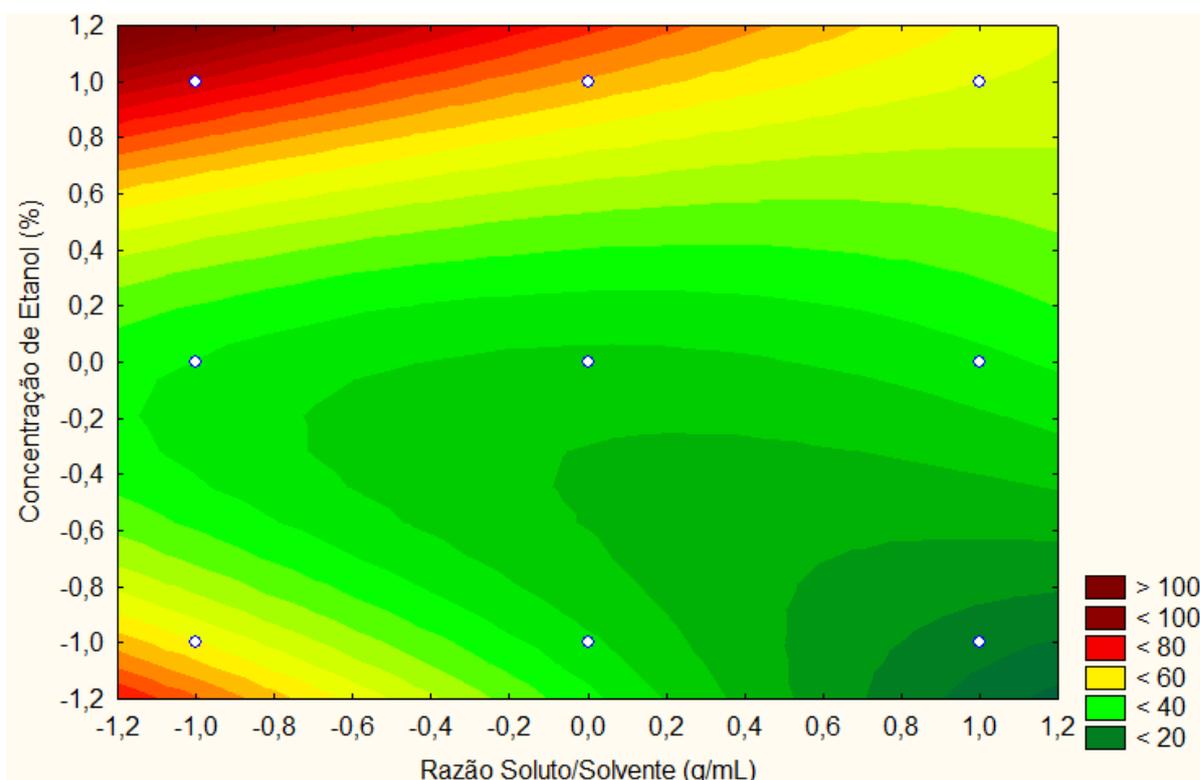


Figura 7. Superfície de Contorno da Extração de Antocianinas

De acordo com a análise de superfície de resposta, as condições sugeridas para a extração de antocianinas são: razão de soluto/solvente de 20 mL, que corresponde ao nível inferior; concentração de etanol de 50%, correspondente ao nível superior; e velocidade de agitação de 110 rpm, nível intermediário. O extrato obtido nestas condições de extração foi utilizado nos ensaios cinéticos de bioadsorção.

5.2. Bioadsorção de Antocianinas pela Biomassa de Levedura

As leveduras representam uma boa fonte de material adsorvente devido à presença de algumas macromoléculas específicas em sua parede celular, tais como as manoproteínas e beta-glucanas, que permitem a adsorção de biomoléculas (YIANNIKOURIS et al., 2003; AKSU, 2005). Além disso, o microrganismo oferece alta eficácia de adsorção e baixo custo, por ser proveniente do descarte industrial (AKSU, 2005).

Para a maioria dos sistemas de adsorvente-adsorbato, as cinéticas de adsorção são, frequentemente, descritas por modelos de pseudo-primeira ordem (LAGERGREN, 1998) e de pseudo-segunda ordem (HO et al., 1996).

Através da análise dos resultados apresentados na Tabela 7, infere-se que o modelo de pseudo-segunda ordem descreveu melhor a sorção do processo, fornecendo um alto valor de coeficiente de determinação (R^2): 0,9828, mediante a 0,0963 obtido pelo modelo de pseudo-primeira ordem. Ademais, os valores da capacidade de sorção no equilíbrio (q_e) experimental e do modelo são mais próximos quando descritos pelo modelo de pseudo-segunda ordem, com diferença de 0,0755.

Tabela 7. Parâmetros dos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem

Modelo	q_e exp (mg.g^{-1})	q_e (mg.g^{-1})	K ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	R^2
Pseudo-Primeira Ordem	6,2899	5,0531	0,45	0,0963
Pseudo-Segunda Ordem	6,2899	6,3654	76,29	0,9828

Em relação à concentração antes do experimento, 26,56 % das antocianinas foram bio-sorvidas pela levedura. A Figura 8 e a Figura 9 representam, respectivamente, o gráfico de $1/q$ em função de $1/t$ do modelo de pseudo-primeira ordem e o gráfico de t/q em função de t do modelo de pseudo-segunda ordem. Ambos fornecem uma relação linear através da qual as capacidades de sorção (q_e) e as constantes de velocidade (K) foram determinadas.

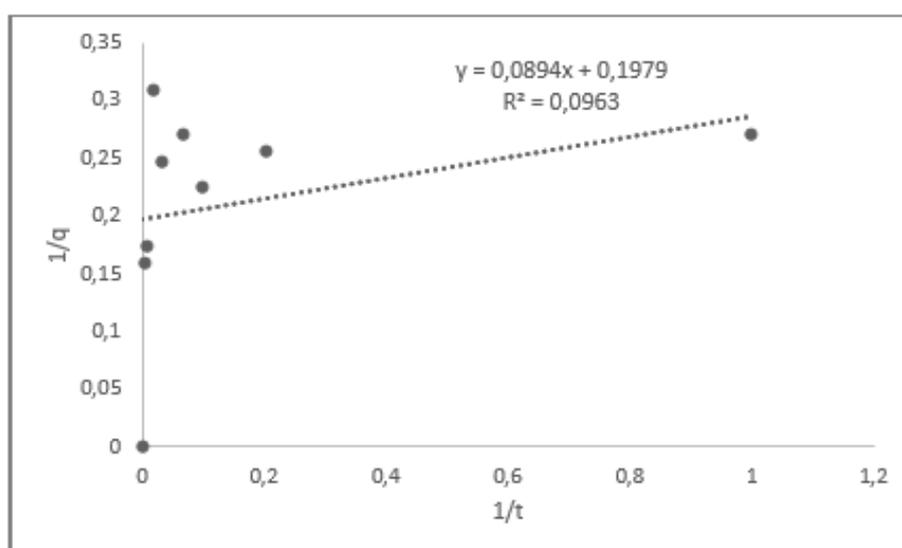


Figura 8. Gráfico do modelo de pseudo-primeira ordem ajustado ao processo

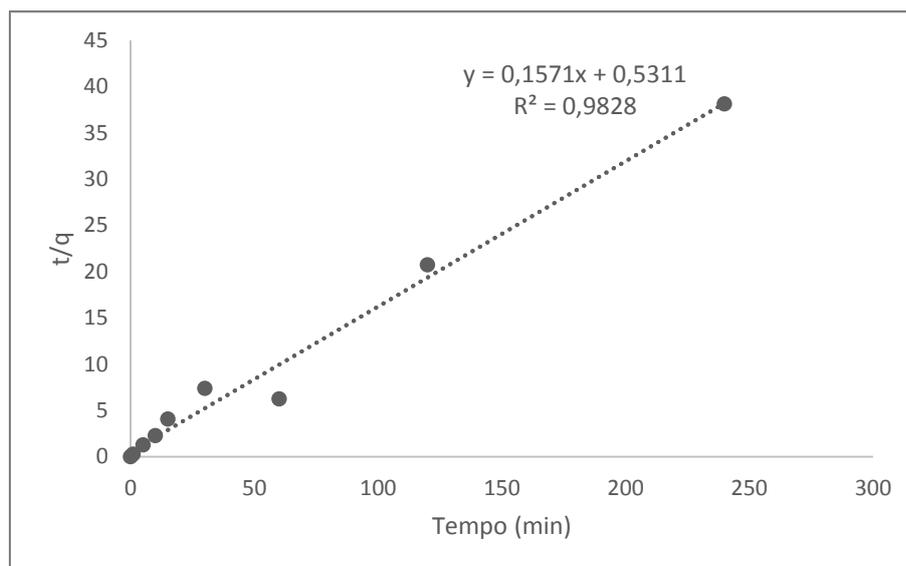


Figura 9. Gráfico do modelo de pseudo-segunda ordem ajustado ao processo

O desvio padrão normalizado, Δq (%), foi calculado para ambos os modelos e obteve-se os seguintes valores: 6,95 para o modelo de pseudo-primeira ordem e 0,424 para o modelo de pseudo-segunda ordem, confirmando, novamente, que o segundo modelo é o que melhor representa os dados do processo de sorção, por ter menor desvio padrão normalizado.

5.3. Isotermas de Biossorção

As isotermas de adsorção são essenciais para a otimização da utilização de adsorventes, pois, em geral, descrevem como adsorvatos interagem com adsorventes (ANIRUDHAN, RACHAKRISHNAN, 2008). Através da utilização de modelos, consegue-se estimar a quantidade de biossorvente que será necessária para captar uma determinada concentração de soluto a partir da solução (MACIEL et al., 2013).

Na Tabela 8, estão apresentados os parâmetros e o coeficiente de determinação (R^2) obtidos através dos modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich, os quais foram ajustados com o intuito de verificar as interações entre as antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba e a levedura esgotada do processamento da cerveja.

Tabela 8. Parâmetros das Isotermas de Langmuir, Freundlich, Temkin e Dubinin-Radushkevich para a Bioissorção de Antocianinas das Cascas de Jabuticaba em Leveduras

Modelos de Isotermas	Constantes			
Langmuir	q_0 (mg.g⁻¹)	K_L(L.mg⁻¹)	R²	
	9,174	0,066	0,985	
Temkin	A (L.g⁻¹)	B (J.mol⁻¹)		
	1,360	6026,791	0,941	
Freundlich	K_F (L.g⁻¹)	n	1/n	
	2,617	4,032	0,248	0,961
D - R	q_s (mg.g⁻¹)	E (KJ.mol⁻¹)	β	
	20,768	15,076	0,002	0,956

Onde: q_0 = capacidade de cobertura máxima em monocamada (mg.g⁻¹); K_L = constante da isoterma de Langmuir (L.mg⁻¹); A = constante da isoterma de ligação de equilíbrio (L.g⁻¹); B = constante da isoterma de Temkin (J.mol⁻¹); K_F = constante da isoterma de Freundlich (L.g⁻¹); n = intensidade de adsorção; q_s = capacidade de saturação teórica (mg.g⁻¹); E = energia livre (KJ.mol⁻¹) β = constante da isoterma de Dubinin-Radushkevich [mol². (KJ²)⁻¹];

De acordo com a Tabela 8, o modelo que expressou maior coeficiente de determinação (R²) foi o modelo de Langmuir, sendo, portanto, o melhor ajuste para os dados experimentais de bioissorção das antocianinas da casca de jabuticaba em leveduras. Através da relação linear entre C_e/q_e e C_e , foi possível obter o gráfico apresentado na Figura 10 e as constantes q_0 (capacidade de cobertura máxima em monocamada (mg.g⁻¹)) e K_L (constante da isoterma de Langmuir (L.mg⁻¹)), as quais são obtidas, respectivamente, a partir do coeficiente angular e coeficiente linear do gráfico C_e versus C_e/q_e .

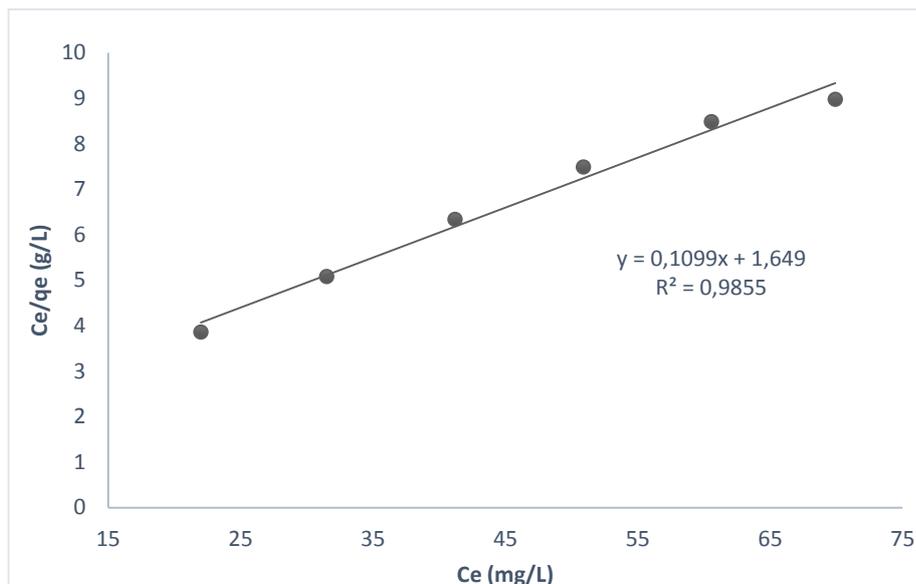


Figura 10. Gráfico do Modelo da Isotherma de Langmuir

A isoterma de Langmuir, originalmente desenvolvida para descrever a adsorção de sólido em fase gasosa sobre carvão ativado, é utilizada tradicionalmente para quantificar e contrastar o desempenho de diferentes biossorbentes (LANGMUIR, 1916). Como o ajuste por este modelo teve o melhor coeficiente de determinação, assume-se que a adsorção ocorre em uma única camada molecular (monocamada), admitindo que a superfície do sólido é uniforme e constituída de sítios idênticos e independentes entre si, de forma que a capacidade de adsorção de um sítio não depende da proximidade de outros sítios já ocupados (SCHNEIDER, 1995).

Segundo Mohan et al. (2002), a constante de separação (R_L) expressa informações relevantes acerca da isoterma de adsorção, uma vez que seu valor indica se o tipo de isoterma é irreversível ($R_L = 0$), favorável ($0 < R_L < 1$), linear ($R_L = 1$) ou desfavorável ($R_L > 1$). O valor obtido da constante foi de 0,178, sugerindo que a biossorção de antocianinas pelas leveduras ocorre de maneira favorável.

O segundo maior coeficiente de determinação foi obtido através da Isotherma de Freundlich, apresentando $R^2 = 0,961$. Tal modelo considera que a adsorção ocorre em multicamadas e descreve a adsorção em superfícies altamente heterogêneas (FREUNDLICH, 1906). O gráfico do modelo de Freundlich, $\ln C_e$ versus $\ln q_e$, está representado através da Figura 11. As constantes K_F e n foram encontradas após plotar o gráfico, utilizando-se do coeficiente linear e do coeficiente angular, respectivamente. K_F (constante de Freundlich) indica a capacidade de biossorção do

biossorvente e a constante n , o estado de afinidade do biossorvente com o sorbato (GOHARI et al., 2013).

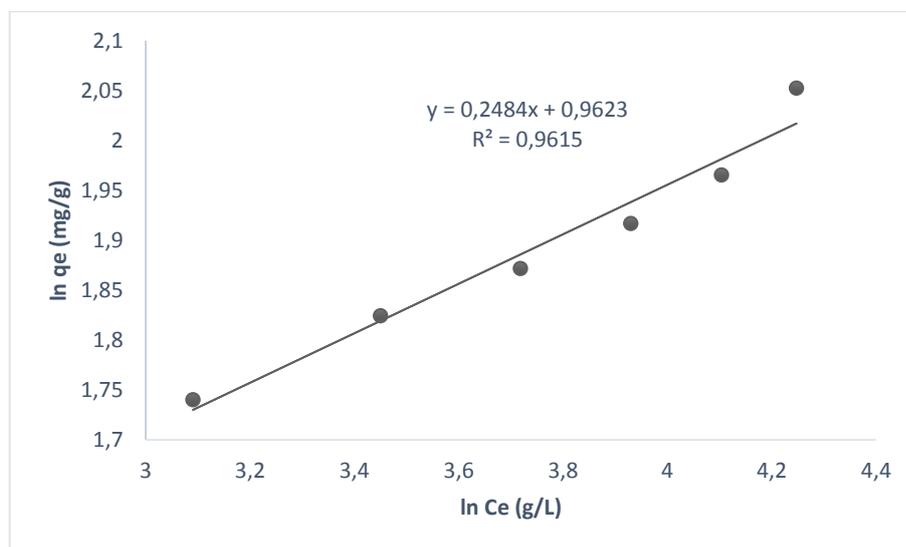


Figura 11. Gráfico do Modelo da Isoterma de Freundlich

Quando o valor de n se encontra dentro da faixa de $0 < n < 10$, a adsorção é um processo favorável e, se $1/n$ se encontra na faixa de $0 < 1/n < 1$, a superfície é, de fato, heterogênea (JAMPANI et al., 2014; YOUSEF et al., 2011). No caso, n é igual a 4,032 e $1/n$ é igual a 0,248. Com isto, conclui-se que, para este modelo, a adsorção de antocianinas pelas leveduras foi favorável e que a superfície biossorvente se demonstrou heterogênea.

Segundo Kumar et al. (2010), as isotermas de Temkin indicam que o calor de adsorção das moléculas diminui linearmente com a cobertura da superfície do adsorvente devido às interações existentes. O gráfico representado pela Figura 12 expressa a relação linear entre $\ln C_e$ e q_e , a partir da qual foi possível calcular as constantes A (constante isotérmica de ligação de equilíbrio ($L \cdot g^{-1}$)) e B (constante isotérmica de Temkin ($J \cdot mol^{-1}$)). O modelo de Temkin, dentre todos, exibiu o menor coeficiente de determinação, $R^2 = 0,941$.

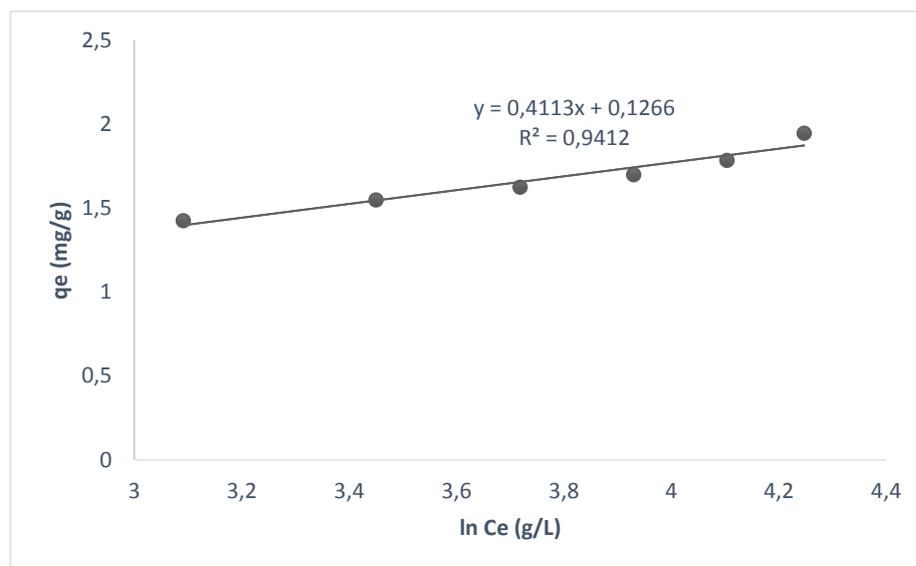


Figura 12. Gráfico do Modelo da Isoterma de Temkin

Segundo Maciel et al. (2013), o modelo de isoterma de Dubinin-Radushkevich é aplicado com o intuito principal de avaliar o tipo de interação entre o sorbato e biossorvente. A representação do gráfico ϵ^2 versus $\ln q_e$ pode ser observada na Figura 13. A partir do coeficiente angular e linear do gráfico, respectivamente, foram determinadas as constantes β e q_s .

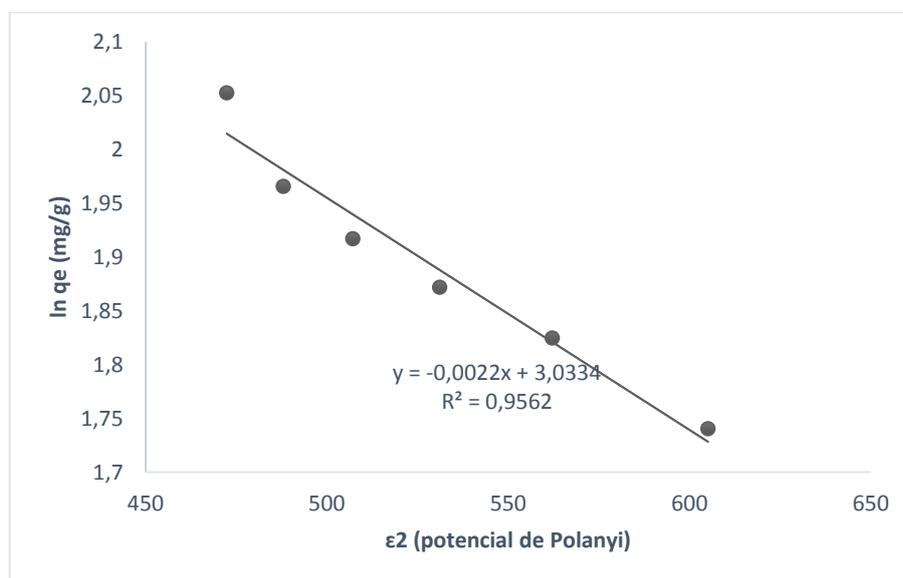


Figura 13. Gráfico do modelo da Isoterma de Dubinin-Radushkevich

A forma de avaliar se a adsorção tem natureza química ou física é através da constante E (KJ mol^{-1}) do modelo. Se os valores de E forem menores que 8 KJ mol^{-1} , predominam-se as forças físicas, baseadas em interações de Van der Waals, rápidas e reversíveis. Porém, quando os valores se situam entre 8 e 16 KJ mol^{-1} , afirma-se

que predominam as forças químicas, as quais ocorrem pela transferência de elétrons entre o sólido e a molécula adsorvida (RAFATULLAH et al., 2009; DABROWSKI, 2001). Como a constante E obtida foi de 15,076 KJ mol⁻¹, conclui-se que o processo de adsorção é regido por um mecanismo químico, cujas forças de interação são superiores quando comparadas às forças físicas.

6. CONCLUSÕES

A concentração de antocianinas obtida por meio dos experimentos realizados foi próxima às concentrações obtidas por outros pesquisadores. Através de métodos estatísticos, análise de efeitos estimados, análise de variância e de superfície de resposta, foi possível encontrar uma faixa ótima de extração do composto antioxidante, possibilitando sua extração máxima nas condições determinadas. A cinética de biossorção foi melhor descrita pelo modelo de pseudo-segunda ordem e apresentou resultados significativos, com coeficiente de determinação maior que 0,98. Através das isotermas de biossorção de Langmuir e D-R, inferiu-se que a biossorção das antocianinas da casca de jabuticaba em leveduras é um processo favorável, de natureza química, ocorre em monocamada e a superfície do sólido é uniforme e constituída de sítios idênticos e independentes entre si.

Sendo assim, conclui-se que a biomassa de leveduras enriquecida com o grupo antocianínico é uma alternativa interessante e promissora tanto para a indústria alimentícia e farmacêutica quanto para o reaproveitamento de despejos industriais.

7. REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, O.; AMIN, N. K. Adsorption of phenol from aqueous solutions by *Luffa cylindrica* fibers: kinetics, isotherm and thermodynamic studies. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 39, p. 215-223, 2013.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. **Process Biochem**, v. 40, p. 997–1026, 2005.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 232-240, 2007

ANIRUDHAN, T. S.; RADHAKRISHNAN, P. G. Thermodynamics and kinetics of adsorption of Cu (II) from aqueous solutions onto a new cation exchanger derived from tamarind fruit shell. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, p. 702-709, 2008.

ARAÚJO, L. F.; DIAS, M. V. C.; BRITO, E. A. de; JÚNIOR, S. O. Enriquecimento protéico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 3, p. 47-53, 2009.

ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 317S-325S, 2005.

BARROS, R. S.; Finger, F. L.; Magalhães, M. M. Changes in nonstructural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. **Scientia Horticulturae**, The Netherlands, v. 16, p. 209-215, 1996.

BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p. 65-68, 2003.

BORBA, C. E.; GUIRARDELLO, R.; SILVA, E. A.; VEIT, M. T.; TAVARES, C. R. G. Removal of nickel (II) ions from aqueous solution by biosorption in a fixed bed column:

Experimental and theoretical breakthrough curves. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, p. 184-191, 2006.

BROCHIER, M. A. **Aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros confinados em fase de terminação**. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado) – Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2007.

BROCHIER, M. A; CARVALHO, S. Efeito de diferentes proporções de resíduo úmido de cervejaria sobre as características da carcaça de cordeiros terminados em confinamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 1, p. 190-195, 2009.

CARVALHO, R. S. **Interações entre leveduras e bactérias durante a fermentação alcoólica**. Piracicaba, 2001. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2001.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª parte – as leveduras. **Revista Analytica**, n. 25, 2006.

CARVALHO, G. B. M.; ROSSI, A. A.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2ª parte – a fermentação. **Revista Analytica**, n. 26, 2007.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. L.; PÁEZ-HERNANDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical Studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859-871, 2009

CAVALCANTI, Rodrigo Nunes. **Extração de antocianinas de resíduo de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática**. 2013. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

CHAE, H. J.; JOO, H.; IN, M. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. **Bioresource Technology**, v. 76, p. 253-258, 2001.

CHANG, X-L.; WANG, D.; CHEN, B-Y.; FENG, Y-M.; WEN, S-H. Adsorption and desorption properties of macroporous resins for anthocyanins from the calyx extract of Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2368-2376, 2012.

CONSTANT, P. B. L. **Antocianinas de açaí (*Euterpis oleracea M.*): extração, caracterização, desenvolvimento de formulação e aplicação em alimentos.** Universidade Federal de Viçosa, 2003.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**. 2004. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/001V1N1P01_06_JUL2004.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2014.

DABROWSKI, A. Adsorption – from theory to practice. **Advances in Colloid and interface science**, v. 9, p. 135-224, 2001.

DONADIO, L. C. **Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg*).** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 55 p.

DUBININ, M. M.; RADUSHKEVICH, L. V. Equation of the characteristic curve of activated charcoal. **Proceedings of the Academy of Sciences, Physical Chemistry Section**, U. S. S. R., v. 148, p. 402-408, 2007.

EINBOND, I. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

EMBRAPA, **Tecnologias para inovação nas cadeias euterpe.** Pessoa, José Dalton Cruz; Teixeira, Gustavo Henrique de Almeida - editores. Brasília, DF, 2012.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M., FETT, R; FALCÃO D. L.; BORDIGNON-LUIZ, T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 637-642, 2007.

FARAH, J. Y.; EL-GENDY, N. S.; FARAHAT, L. A. Biosorption of Astrazone Blue basic dye from aqueous solution using dried biomass of baker's yeast. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, p. 402-408, 2007.

FAVARO, M. M. A. **Extração, Estabilidade e Quantificação de Antocianinas de Frutas Típicas Brasileiras para Aplicação Industrial como Corantes**. 2008. 105 f. Tese (Mestrado em Química na área de Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FERNANDES, R. **Adsorventes Alternativos para Remoção de Fenol em Solução Aquosa**. 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 77-84, 2010.

FREUNDLICH, H. Over the adsorption in the solution. **Journal Physical Chemistry**, v. 57, p. 384-410, 1906.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, p. 72-77, 1968.

GADD, G. M. Biosorption. **Chemistry & Industry**, n. 13, p. 421-426, 1990.

GARCIA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. **Phytochemical Analysis**, v. 9, p. 274-277, 1998.

GEÖCZE, A. C. **Influência da preparação do licor de jaboticaba (*Myrciaria jabotica* (Vell) Berg) no teor de compostos fenólicos**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GIACOMETTI, D.; LLERAS, E. In: J. E. H. Bermejo, J. Leon, (Org.). *Neglected Crops: 1492 from a Different Perspective*. Rome: FAO, 1994, p. 229-237.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV–visible spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001.

GOHARI, M.; HOSSEINI, S. N.; SHARIFNIA, S.; KHATAMI, M. Enhancement of metal ion adsorption capacity of *Saccharomyces cerevisiae*'s cells by using disruption method. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, p. 637-645, 2013.

GOMES, N. C. M.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. S.; SAVVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. **Revista de Microbiologia**, v. 29, p. 85-92, 1998.

HAMAYUN, M.; MAHMOOD, T.; NAEEM, A.; MUSKA, M.; DIN, S. U.; WASEEM, M. Equilibrium and kinetics studies of arsenate adsorption by FePO₄. **Chemosphere**, v. 99, p.207-215, 2014.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2023-2024, 2012.

HISANO, H.; NARVAÉZ-SOLARTE, W. V.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-nilo alimentados com levedura e

derivados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, vol. 42, n. 7, jul. 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2007000700017&script=sci_arttext>. Acesso em: 04 ago. 2014.

HO, Y. S, WASE, D. A. J., FORSTER, C. F. Kinetic studies of competitive heavy metal adsorption by sphagnum moss peat. **Environmental Technology**, v. 17, p. 71-77, 1996.

JACKMAN, R. L.; YADA, R. I.; TUNG, M. A. A review: Separation and chemical properties os anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. **Journal of Food and Biochemistry**, v. 11, p. 279-308, 1987.

JAMPANI, C.; NAIK, A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Purification of anthocyanins from jamun (*Syzygium cumini* L.) employing adsorption. **Separation and Purification Technology**, v. 125, p. 170-178, 2014.

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal Biosorption – an alternative treatment sorption for heavy metal bearing wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, v. 53, p. 195-206, 1995.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins – More Than Nature’s Colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 5, p. 239-240. 2004

KOHNO, Y.; HAGA, E.; YODA, K.; SHIBATA, M.; FUKUHARA, C.; TOMITA, Y.; MAEDA, Y.; KOBAYASHI, K. Adsorption behavior of natural anthocyanin dye on mesoporous silica. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 75, p. 48-51, 2014.

KUMAR, P. S.; RAMALINGAM, S.; SENTHAMARAI, C.; NIRANJANAA, M.; VIJAYALAKSHMI, P.; SIVANESAN, S. Adsorption of dye from aqueous solution by cashew nut shell: Studies on equilibrium isotherm, kinetics and thermodynamics of interactions. **Desalination**, v. 261, p. 52-60, 2010.

KUKOSKI, E. M. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283 – 1287, julho, 2006.

LAGERGREN, S., 1898. On the theory of so-called adsorption dissolved substances. **Handlingar Band**, v. 24, p. 1-39.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, p. 2221-2295, 1916.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, 214-222, 2005.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E.; Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of juices, beverages, natural colorants and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC**, v. 88, p. 1269, 2005.

LIU, X.; XU, Z.; GAO, Y.; YANG, B.; ZHAO, J.; WANG, L. Adsorption characteristics of anthocyanins from purple-fleshed potato (*Solanum tuberosum* *Jasim*) extract on macroporus resins. **International Journal of Food Engineering**, v.3, n. 5, art. 4, 2007.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J., et al. Flavonóides, **Biotechnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n.14, p.18-22, 2000.

LORA, E. S. **Prevenção e controle da poluição nos setores energéticos, industrial e de transporte**. Brasília: ANEEL, 2000.

MACIEL, G. M.; SOUZA, C. G. M.; ARAÚJO, C. A. V. de; BONA, E.; HAMINIUK, C. W. I.; CASTOLDI, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. **Chemical Engineering Journal**, Brasil, 15 jan.

2013. Disponível em
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894712014258>>. Acesso em:
20 jul. 2014.

MAGALHÃES, M. M.; Barros, R. S.; FINGER, F. F. Changes in nonstructural carbohydrates in developing fruit of *Myrciaria jaboticaba*. *Scientia Horticulturae*, **The Netherlands**, v. 16, p.209-215, 1996.

MARQUES, G. L. **A reengenharia de Processo de negócios in: Manufatura Integrada por computador: Sistemas integrados de Produção: Estratégia, Organização, Tecnologia e Recursos Humanos**. Rio de Janeiro: Campus, 1995.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.A.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v. 17, p. 271-278. 2002

MARTINS, C. D. C. **Desenvolvimento de maios de cultivo alternativos para produção de *Bacillus sphaericus* tóxicos contra larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)**. 2008, 129 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

MELETTI, L. M. M. **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2000, p. 145-153.

MOHAN, S. V.; RAO, N. C.; KARTHIKEYAN, J. Adsorptive removal of direct azo dye from aqueous phase onto coal based sorbents: a kinetic and mechanistic study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 90, p. 189-204, 2002.

MOURA, S. M.; SILVA, G. J. F.; CARDOSO, T. G.; SILVA, A. G.; CONSTANT, P. B. L; FIGUEIREDO, R. W. **Determinação de antocianinas, polifenóis e antioxidantes totais do extrato aquoso de jaboticaba**. xx CBED, VIII Encontro Latino-Americano de Economia Doméstica e I Encontro Intercontinental de Economia Doméstica. Fortaleza, 2009.

NOGUEIRA, M.; NASCIMENTO, R. 2007. **Adsorção de fenol e nitrofenóis em solução aquosa usando bagaço da casca de coco como adsorvente**. Anais do Congresso: II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa, PB.

OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; SILVA, M. C.; MIRANDA, C. G. M.; TEIXEIRA, M. A. Ação Antioxidante de Flavonóides Modificados. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 34, n.5, p.879-883, 1999.

PEREIRA, M. **Propagação via estacas apicais, caracterização morfológica e molecular de jabuticabeiras (*Myrciaria spp*)**. 2003. 206 f. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PINTO, L. C.; LOPES, M. V.; FILHO, C. D. C.; ALVES, L. V. A.; BENEVIDES, C. M. de J. Determinação do Valor Nutritivo de Derivados de Levedura de Cervejaria (*Saccharomyces spp.*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.15, n.1, p.7-17, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras E Alimentos Gordurosos**. São Paulo: Química Nova. 2006. vol.29, no.4.

RARAZ, A. G. Biological and biotechnological waste management in materials processing. **JOM**, v. 47, n. 2, p. 56-63, 1995.

REINOLD, M. R. **Manual prático de cervejaria**. São Paulo: Aden Editora e Comunicações Ltda, 1997.

RIBEIRO, J. N.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; FLORES, A. V. Avaliação da Toxicidade da Antocianina de Uva, Através da Quantificação Espectrofotométrica de Constituintes do Sangue, e Medida de Massa Corporal de Coelhos Saudáveis. **Revista Analytica**. Nº12. Agosto/Setembro. 2004.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and Adsorption Process**. New York: John Wiley & Sons, 1984.

SANTOS, M. S. dos; RIBEIRO, F. de M. **Cervejas e Refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 2005.

SCHNEIDER, I. A. H. **Biossorção de Metais Pesados com a Biomassa de Macrófitos Aquáticos**. 1995. 157 f. Tese (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais) – Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995

SCHNEIDER, R. S. **Adsorção de Cromo (III) em Carvão Ativado**. 2006. 5f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá. 2006.

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

SEKHAR, K. C.; SUBRAMANIAN, S.; MODAK, J. M.; NATARAJAN, K. A. Removal of metal ions using on industrial biomass with reference to environmental control. **International Journal of Mineral Processing**, v.53, p. 107-120, 1998.

SHOTIPRUK, A.; KITTIANONG, P.; SUPHANTHARIKA, M.; MUANGNAPOH, C. Application of rotary microfiltration in debittering process of spent brewer's yeast. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1851-1859, 2005.

SILVA, G. J. F. d, CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W. d & MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria ssp.*). **Alimentos e Nutrição**, 21, 429-436. 2010

SILVA, Pollyanna Ibrahim. **Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2011. 159 f. Tese

(Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

SINDICERV (Sindicato Nacional Da Indústria Da Cerveja). Disponível em: <<http://www.sindicerv.com.br/producao.php>>. Acesso em: 14 jul. 2014.

SOUZA, L. C. **Valor nutricional do resíduo úmido de cervejaria in natura conservado sob condições aeróbias ou anaeróbias**. 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2010.

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; BA, N.; MATHÉ, G. “Polyphenols: Do they play a role in the prevention of human pathologies?” **Biomed. Pharmacother**, 56, 200-207, 2002.

TEIXEIRA, L. N. STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**. 55, 297-304, 2008.

TEMKIN, M. J.; PYZHEV, V. Recent modifications to Langmuir isotherms. **Acta Physiochim**. U.S.S.R., v. 12, p. 217-222, 1940.

TERCI, D. B. L. **Aplicações Analíticas e Didáticas de Antocianinas Extraídas de Frutas**. 2004. 213 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química da UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

VALDUGA, E.; LIMA, L.; PRADO, R. do; PADILHA, F. F.; TREICHEL, H. Extração, secagem por atomização e microencapsulamento de antocianinas do bagaço da uva “Isabel”. **Ciênc. agrotec.**, vol. 32, n. 5, p. 1568-1574, set./out., 2008.

VALLE, C. E. do. **Qualidade Ambiental: ISO 14 000**. São Paulo: SENAC, 2002.

VEGLIO, F.; BEOLCHINI, F. Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 44, n. 3, p. 301 – 316, 1997.

VENTURINI, W. G. F. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blücher, v. 1, 2010.

VOLESKY, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. **Hydrometallurgy**, Amsterdam, v. 59, n. 2-3, p. 203 – 216, 2001.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology Progress**, v. 11, p. 235-250, 1995.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, vol. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WAIHUNG, L; CHUA, H.; LAM, K-H.; BI, S-P. A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. **Chemosphere**, Oxford, v. 39, n. 15, p. 2723-2736, 1999.

WHALEN, P. J. et al. Measurements of extrusion effects by viscosity profile using the rapid viscoanalyser. **Cereal Foods World**, v. 42, n. 6, 1977, p. 469-475.

WROLSTAD, R. E. **Color and Pigment Analyses in Fruit Products**. Agricultural Experiment Station, Oregon University, Station Bulletin 624, 1993, 17 p.

XAVIER, Marcelo F. **Estudo da Extração de Antocianinas em Colunas Recheadas**. 2004. 120f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

YAMADA, Eunice A. et al. Composição centesimal e valor proteico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, out./dez. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732003000400006>. Acesso em: 15 jul. 2014.

YIANNIKOURIS, A.; POUGHON, L.; CAMELEYRE, X. DUSSAP, C. J.; FRANÇOIS, J.; BERTIN, G.; JOUANY, J. P. **A novel technique to evaluate interactions between *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and mycotoxins: application to zearalenone.** *Biotechnol. Lett.*, v. 25, pp. 783–789, 2003.

YOUSEF, R. I.; EL-ESWED, B.; AL-MUHTASEB, A. H. Adsorption characteristics of natural zeolites as solid adsorbents for phenol removal from aqueous solutions: kinetics, mechanism and thermodynamics studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, p. 1143-1149, 2011.

YOUSSEF, A. M.; EL-NABARAWY, T.; SAMRA, S. E. Sorption properties of chemically – activated carbons. Sorption of cadmium (II) ions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 235, p. 153-163, 2004.