



Concentração e Bioensaios Alelopáticos e Antifúngicos de Princípios Ativos da Raiz de Timbó via Extração com CO₂ Supercrítico, Extração com Solventes e Adsorção de Soluções Diluídas em Leito Fixo.

Ossalin de Almeida.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia (PRODERNA-ITEC), da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientadores: Nélio Teixeira Machado
Marilena Emmi Araújo

Belém-Pará-Brasil
Dezembro de 2014

ATA DA 33ª SESSÃO DE
APRESENTAÇÃO E DEFESA DE
TESE DE DOUTORADO DO
PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA DE RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA.

1 Ata da 33ª sessão de apresentação e defesa de Tese de Doutorado para a concessão do Grau de Doutor em
2 Engenharia de Recursos Naturais na área de Uso e Transformação de Recursos Naturais, realizada às 10 horas e
3 30 minutos do dia 18 de dezembro de 2014, no Auditório Paul Le Coite do Instituto de Tecnologia da
4 Universidade Federal do Pará (LEQ/ITEC/UFPA). O exame de qualificação da tese intitulada "CONCENTRAÇÃO DE
5 PRINCÍPIOS ATIVOS DE PRODUTOS NATURAIS VIA EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO, EXTRAÇÃO COM
6 SOLVENTES E ADSORÇÃO DE SOLUÇÕES DILUÍDAS EM LEITO FIXO: BIOENSAIOS ALELOPÁTICOS E
7 ANTIFÚNGICOS" foi apresentado durante 50 minutos pelo candidato OSSALIN DE ALMEIDA, diante da
8 banca examinadora aprovada pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos
9 Naturais da Amazônia do Instituto de Tecnologia da Universidade Federal do Pará, assim constituída: Prof. Dr.
10 Nélio Teixeira Machado (FEQ/ITEC/UFPA - ORIENTADOR), Profa. Dra. Marilena Emmi Araújo (FEQ/ITEC/UFPA -
11 ORIENTADORA), Prof. Dr. José Antônio da Silva Souza (PRODERNA/UFPA - MEMBRO INTERNO), Prof. Dr. Raul
12 Nunes de Carvalho Junior (PPGCTA/UFPA - MEMBRO EXTERNO), Dr. Antônio Pedro da Silva Souza Filho
13 (EMBRAPA/PA - MEMBRO EXTERNO), Prof. Dr. Luiz Eduardo Pizarro Borges (IME/RJ - MEMBRO EXTERNO) e
14 Prof. Dr. Marcos Augusto Eger da Cunha (CCNT/UEPA - MEMBRO EXTERNO).
15 Em seguida o candidato foi submetido à arguição
16 _____
17 _____
18 _____
19 tendo demonstrado suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema do objeto da
20 proposta de qualificação. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos integrantes da
21 banca examinadora e pela candidata.

Belém, 18 de dezembro de 2014.

PRESIDENTE: Nélio Teixeira Machado

MEMBROS: Marilena Emmi Araújo

José Antônio da Silva Souza

Raul Nunes de Carvalho Junior

Luiz Eduardo Pizarro Borges

Marcos Augusto Eger da Cunha

Liz Barros

CONFERE COM ORIGINAL

Em 07/10/15

[Assinatura]
Assinatura

[Assinatura]
Nélio Teixeira
Secretaria Acadêmica
PRODERNA/ITEC PA

CANDIDATO: [Assinatura]

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará Gerada
automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)**

A447c Almeida, Ossalin de Almeida.

Concentração e Bioensaios Alelopáticos e Antifúngicos de Princípios Ativos da Raiz de Timbó via Extração com CO₂ Supercrítico, Extração com Solventes e Adsorção de Soluções Diluídas em Leito Fixo / Ossalin de Almeida Almeida. — 2014.

204 f. : il. color

Orientador(a): Prof. Dr. Nélio Teixeira Machado Machado

Coorientação: Prof^a. Dra. Marilena Emmi Araújo

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará,

Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação

em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2014.

1. Fitotóxico. 2. Bioensaio. 3. Adsorção. 4. Metabólitos. 5. Rotenóides. I. Título..

CDD 660.28

*As minhas mães Lea e Berenice, a
minha esposa Roseli e aos meus
amados filhos Marcela, Zarah e Akbar.*

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Pará, pela oportunidade desta realização pessoal e profissional.

Ao meu orientador, Dr. Nélio Teixeira Machado, pela orientação, confiança, críticas, sugestões e apoio no desenvolvimento deste estudo.

À Dra. Marilena Emmi Araújo, pela Co orientação, ajuda e incentivo no desenvolvimento deste estudo.

Ao Dr. Antônio Maia de Jesus Chaves (ICEN-UFPa), pela ajuda e incentivo no desenvolvimento deste estudo.

Ao Dr. Antônio Pedro da Silva Souza Filho, pela colaboração e orientação nos ensaios alelopáticos, realizados no laboratório de Agroindústria da EMBRAPA Amazônia Oriental.

Ao Dr. Luiz Sebastião Poltronieri, pela colaboração e orientação nos ensaios antifúngicos, realizados no laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Amazônia Oriental.

Ao colega Antônio José Cantanhede Filho, pela ajuda nas análises por LC-MS, realizadas no Laboratório de Análises de Sistemas Sustentáveis da EMBRAPA Amazônia Oriental.

Aos colegas Marçal Luna e Elinaldo Sampaio, técnicos do laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Pará.

Aos colegas Inaldo Cláudio e Anderson Mathias (LAOS/UFPa), Victor Marinho (CE/UFPa), Raimundo Elias e Márcia Cristina (FQ/UFPa) que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo.

Aos alunos de Trabalho de Conclusão de Curso e Bolsistas de Iniciação Científica, que de alguma forma contribuíram com informações e dados para a elaboração deste estudo.

CONCENTRAÇÃO E BIOENSAIOS ALELOPÁTICOS E ANTIFÚNGICOS DE PRINCÍPIOS ATIVOS DA RAIZ DE TIMBÓ VIA EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO, EXTRAÇÃO COM SOLVENTES E ADSORÇÃO DE SOLUÇÕES DILUÍDAS EM LEITO FIXO.

Ossalin de Almeida.

Dezembro/2014

Orientador: Nélio Teixeira Machado

Área de Concentração: Uso e Transformação de Recursos Naturais

Objetivou-se com este trabalho avaliar os parâmetros do processo de extração dos princípios ativos da raiz de Timbó por diferentes métodos, convencional (percolação a frio e por Soxhlet) e por fluido supercrítico (CO₂), em três pressões (12, 22 e 30 Mpa) e três temperaturas (30, 40 e 60 °C). A influência da temperatura na adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó obtido por percolação a frio (EBP) sobre alumina ativada a 550 °C (AD550) foi avaliada em testes em batelada (625 mg.L⁻¹) em três temperaturas (30, 40 e 60 °C) e em coluna de leito fixo (2500 mg.L⁻¹) em duas temperaturas (40 e 60 °C). A identificação e quantificação dos compostos presentes nos extratos foi realizada por técnicas cromatográficas (CCD, CPVU, HPLC, LCMS) e por espectroscopia de NRM ¹H e ¹³C. Os testes fitotóxicos dos extratos/frações foram avaliados frente a planta invasora de pastos *Mimosa pudica* (malícia) e frente aos fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Corynespora cassiicola*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani*, *Crinipellis pernicioso*. Os rendimentos dos extratos variaram entre os métodos de extração, percolação a frio (11,30%), Soxhlet (23,77%) e CO₂ supercrítico (2,54%). Foram identificados e quantificados dois compostos principais, rotenona (1) e deguelina (2). A composição média obtida foi de: (1) 82,10 e (2) 40,10 mg.100 g⁻¹ (percolação), (1) 98,5 e (2) 47,7 mg.100 g⁻¹ (Soxhlet) e (1) 931,92 e (2) 739,73 mg.100 g⁻¹ (CO₂ supercrítico). Os resultados mais expressivos para os testes fitotóxicos: germinação (55,17%) extrato metanoico EBP, radícula (61%) e hipocótilo (61,01%) subfração hexano/acetato de etila (2:8) (EBPFHAE3). Por fluido supercrítico: germinação (63,79%), radícula (72%) e hipocótilo (65,41%) fração SFE90. Nos testes germinação e do desenvolvimento da plântula as substâncias 1 e 2, isoladas dos extratos EBP e por CO₂ supercrítico apresentaram os resultados abaixo de 30%. Nos testes antifúngicos as subfrações EBPFHAE21 e SFEFHAE21 apresentaram atividade de inibição total (100%) para os fitopatógenos, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Crinipellis pernicioso*. Nos testes antifúngicos as substâncias 1 e 2 apresentaram resultados acima de 80% para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina faseolina*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Crinipellis pernicioso*. As isotermas de adsorção foram ajustadas por dois modelos (Langmuir e Freundlich), em todas as temperaturas estudadas. O melhor ajuste foi obtido pelo modelo de Langmuir a 60 °C ($R^2 = 0,9922$, 61,45 mg.g⁻¹). A capacidade de adsorção do extrato EBP apresentou a seguinte ordem de afinidade em relação ao adsorvente AD550: EBP60 > EBP40 > EBP30. A cinética da adsorção foi avaliada

Resumo da Tese apresentada ao PRODERNA/ITEC/UFPA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais (D. Eng.).

segundo os modelos de pseudo primeira e segunda ordem e difusão intrapartícula, com melhor ajuste encontrado pelo modelo de pseudo segunda nas três temperaturas 30 °C ($R^2 = 0,9985$), 40 °C ($R^2 = 0,998$) e 60 °C ($R^2 = 0,9986$), indicando o caráter químico da adsorção. Os valores negativos de ΔG° indicaram a natureza espontânea do processo de adsorção. Os valores positivos de ΔH° e ΔS° indicaram a natureza endotérmica do processo de adsorção e afinidade entre adsorvato/adsorvente e sugere o aumento do grau de desordem na interface sólido-líquido com mudanças estruturais no adsorvato e no adsorvente. A modelagem para coluna em leito fixo foi realizada pelos modelos de Thomas, Bohart-Adams e Yoon-Nelson, os dados experimentais obtidos a 60 °C ($R^2 = 0,9962$) ajustaram-se melhor ao modelo de Thomas. O adsorvente AD550 apresenta potencial para a remoção da rotenona (311,61 mg.100 g⁻¹) e deguelina (169,23 mg.100 g⁻¹) do extrato da raiz de Timbó (EBP) com o aumento da temperatura.

Palavras-chave: Fitotóxico, Bioensaio, Adsorção, Metabólitos, Rotenóides.

CONCENTRATION AND BIOASSAYS ALLELOPATHIC AND ANTIFUNGAL ACTIVE PRINCIPLES OF TIMBÓ ROOT VIA SUPERCRITICAL CO₂ EXTRACTION, SOLVENT EXTRACTION AND ADSORPTION OF DILUTE SOLUTIONS IN FIXED BED.

Ossalin de Almeida.

Dezember/2014

Advisor: Nélio Teixeira Machado

Research Area: Use and Transformation of Natural Resources

Derris is a genus of plant belonging to the Leguminosae family, typical of regions of south-eastern Asia and the islands of New Guinea, it is native to tropical forests in Peru, Guyana and Brazil. The root has traditionally been used as an anthelmintic, in the treatment of skin diseases, rheumatism, insecticide, pesticide and piscicide. The objective of this work was to evaluate the parameters of the extraction process of the active principles of Timbó root by different extraction methods, conventional (cold percolation and Soxhlet) and supercritical fluid (CO₂). In the cold percolation (28 °C, 96 h) and Soxhlet (65 °C, 12 h) extractions, a solute-solvent ratio of 1:6 (m/m) was used. Supercritical fluid extractions were performed at three pressures (12, 22 and 30 Mpa) and three temperatures (30, 40 and 60 °C). The identification and quantification of compounds present in the extracts were performed by chromatographic techniques (CCD, CCVU, HPLC, LC-MS) and by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. The influence of temperature on the adsorption of Timbó root extract on activated alumina at 550 °C (AD550) was evaluated in batch tests (625 mg.L⁻¹) at three temperatures (30, 40 and 60 °C) and in a column fixed bed (2500 mg.L⁻¹) at two temperatures (40 and 60 °C). The AD550 was characterized by X-Ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersion X-Ray Spectroscopy (EDX) and Thermogravimetric Analysis (TG) and Differential Thermal Analysis (DTA). Phytotoxic tests were carried out against the invasive plant *Mimosa pudica* (malicia) and against the phytopathogens *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Corynespora cassiicola*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani*, *Crinipellis pernicioso*. Extract yields varied between extraction methods, cold percolation (11.30%), Soxhlet (23.77%) and supercritical CO₂ (2.54%). Two main compounds, rotenone (1) and deguelin (2), were identified and quantified. The average composition obtained was: (1) 40.10 and (2) 82.10 mg.100 g⁻¹ (percolation), (1) 98.5 and (2) 47.7 mg.100 g⁻¹ (Soxhlet) and (1) 931.92 and (2) 739.73 mg.100 g⁻¹ (supercritical CO₂). In the allelopathic activity tests, the most expressive results were obtained by cold percolation: germination (55.17%), radicle (61%) and hypocotic (61.01%), subfraction hexane/ethyl acetate (2:8) (EBPFHAE3). By supercritical fluid, the fraction collected in 90 minutes showed the following results: germination (63.79%), radicle (72%) and hypocotyl (65.41%). In the germination and seedling development tests, substances 1 and 2, isolated from the extracts obtained by cold percolation and by supercritical CO₂, showed results below 30%. In the antifungal tests, the extracts of subfractions EBPFHAE21 and SFEFHAE21 showed total inhibition activity (100%) for phytopathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* and *Crinipellis pernicioso*. In the antifungal tests, substances 1 and 2 showed results above 80% for the phytopathogens *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*,

Abstract of Thesis presented to PRODENA/ITEC/UFPA as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Natural Resources Engineering (Dr. Eng.).

Macrophomina phaseolina, *Lasiodiplodia theobromae* and *Crinipellis pernicioso*. The adsorbent material after calcination no longer presents the crystalline face (gibbsite), being only composed of transition alumina, gamma alumina ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$). The adsorption tests indicated that the best result was obtained at 60°C (97.70%). Adsorption isotherms were fitted by two models (Langmuir and Freundlich), at all temperatures studied. The best fit was obtained by the Langmuir model at 60 °C ($R^2 = 0.9922$) with an adsorption capacity of 61.45 mg.g⁻¹. The adsorption capacity of the Timbó root methanoic extract showed the following order of affinity in relation to the AD550 adsorbent: EBP60 > EBP40 > EBP30. The adsorption kinetics was evaluated according to the pseudo first and pseudo second order and intraparticle diffusion models, with the best fit found by the pseudo second model at the three temperatures 30 °C ($R^2 = 0.9985$), 40 °C ($R^2 = 0.998$) and 60 °C ($R^2 = 0.9986$), indicating the chemical character of the adsorption. Negative ΔG° values indicated the spontaneous nature of the adsorption process. The positive values of ΔH° and ΔS° indicated the endothermic nature of the adsorption process and affinity between adsorbate/adsorbent and suggest an increase in the degree of disorder at the solid-liquid interface with structural changes in the adsorbate and adsorbent. Modeling for a fixed bed column was carried out using the Thomas, Bohart-Adams and Yoon-Nelson models, the Thomas model which best fitted the experimental data at 60 °C ($R^2 = 0.9962$) obtained the best result. The AD550 adsorbent has the potential to remove rotenone (311.61 mg.100 g⁻¹) and deguelin (169.23 mg.100 g⁻¹) from Timbó root extract, with an increase in temperature (EBP60).

Keywords: Phytotoxic, Bioassay, Adsorption, Metabolites, Rotenoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Estrutura química das principais classes de flavonoides.	27
Figura 2.2. Rotenóides encontrados nas raízes de <i>Deguelia</i> Aubl., <i>Derris urucu</i> e <i>Lonchocarpus</i> spp.	29
Figura 2.3. Rota biosintética para a formação da rotenona e deguelina por ciclização do anel de uma metoxiisoflavona (DEWICK, 2003).	31
Figura 2.4. Densidade do CO ₂ (kg.m ⁻³) em função da temperatura e da pressão (Adaptado de BROGLE, 1982).	35
Figura 2.5. Classificação para isotermas de adsorção (BRUNAUER et al., 1938).	46
Figura 2.6. Características da curva de ruptura no processo de adsorção em coluna de leito fixo. (C ₀ e C _{A-D}) concentrações do influente e do efluente, (Z1 e Z2) zonas de adsorção e adsorvida e (C _{P1-P4}) concentração adsorvida (Adaptado de TREYBAL, 1981).	57
Figura 2.7. Distribuição do tamanho dos poros para diferentes adsorventes (Adaptado de YANG, 1997).	68
Figura 2.8. Sorção de equilíbrio do vapor de água do ar atmosférico a 25 °C em (A) alumina (granular); (B) alumina (esférica); (C) sílica gel; (D) zeólita 5A; (E) carvão ativado (pressão de vapor a 100% R.H. é de 23,6 Torr)	68
Figura 2.9. Decomposição do hidróxido de alumínio e transformação cristalina da alumina. Caminho a: > 1 atm, ar úmido, taxa de aquecimento > 1 °C.min ⁻¹ , > tamanho 100 µm. Caminho b: 1 ar seco, < 1 °C.min ⁻¹ , < 10 µm (Adaptado de WEFERS e BELL, 1972).	79
Figura 2.10. Comparação da adsorção de água com vários adsorventes (Adaptado de HUMPHREY e KELLER, 1997).	79
Figura 3.1. Fluxograma simplificado das etapas realizadas para o desenvolvimento deste trabalho.	87

Figura 3.2. Fluxograma simplificado da unidade de extração supercrítica (LAOS/FEQ/UFPA).....	91
Figura 3.3. Montagem da coluna de adsorção em leito fixo usando alumina adsorvente (AD550).....	101
Figura 3.4. Estruturas interna (A) e externa da semente (B).....	107
Figura 3.5. (1) Disco de controle (DFC) e (2) disco com amostra (DFA).....	109
Figura 4.1. Perfil da curva de secagem da raiz do Timbó	111
Figura 4.2. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó, obtidas com CO ₂ pressurizado (T = 35 °C).....	113
Figura 4.3. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó, obtidas com CO ₂ pressurizado (T = 40 °C).....	113
Figura 4.4. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó obtidas com CO ₂ pressurizado (T = 60 °C).....	114
Figura 4.5. Teores da rotenona e deguelina nos extratos da raiz de Timbó obtidos por EBP, SFE e na torta após SFE.....	115
Figura 4.6. Quantidade extraída de rotenona e deguelina em função da massa de CO ₂ pressurizado (T = 60 °C, P = 300 bar).....	116
Figura 4.7. Extratos da raiz de Timbó obtidos por: (1) percolação (EBP), (2-5) SFE (T = 60 °C, P = 300 bar, Q _m = 12 L.min ⁻¹) e (6) da torta após SFE.	116
Figura 4.8. Ajustes dos dados de extração para três retas, sistema Timbó + CO ₂ pressurizado.	117
Figura 4.9. Extratos da raiz de Timbó obtidos por SFE (60 °C, 300 bar, 200 min).	118
Figura 4.10. Difratogramas de raios X das amostras (Al(OH) ₃) (gibbsita) e alumina adsorvente (AD550).....	121
Figura 4.11. Curvas de análise térmica diferencial e gravimétrica da alumina.	122

Figura 4.12. Micrografias do tri-hidróxido de alumínio $\text{Al}(\text{OH})_3$ e AD550: (A) Ampliação de 300x e (B) Ampliação de 250x, 20kV).....	123
Figura 4.13. Ponto de carga zero (pH_{PCZ}) da alumina adsorvente (AD550)...	124
Figura 4.14. Retenção do extrato bruto da raiz de Timbó em alumina adsorvente (AD550) ($C_0 = 625 \text{ mg.L}^{-1}$, AD550 = 0,1 g.mL ⁻¹ , 120 rpm, pH 5,4). ...	125
Figura 4.15. Variação do pH na adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó ($C_0 = 625 \text{ mg.L}^{-1}$, AD550 = 0,1 g.mL ⁻¹ , 120 rpm, pH 5,4).....	126
Figura 4.16. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP30) em alumina adsorvente (AD550).....	128
Figura 4.17. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40) em alumina adsorvente (AD550).....	128
Figura 4.18. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60) em alumina adsorvente (AD550).....	129
Figura 4.19. Cinética de pseudo primeira ordem da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).....	130
Figura 4.20. Cinética de pseudo segunda ordem da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).....	131
Figura 4.21. Difusão intrapartícula da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em AD550 a diferentes temperaturas.....	132
Figura 4.22. Determinação dos parâmetros termodinâmicos da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).....	133
Figura 4.23. Curvas de avanço da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo ($T = 40 \text{ }^\circ\text{C}$).	135
Figura 4.24. Curvas de avanço da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo ($T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$).	135
Figura 4.25. Linearização do modelo de Thomas da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).....	137

Figura 4.26. Linearização do modelo de Thomas da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60).....	137
Figura 4.27. Linearização do modelo de Adams-Bohart da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).....	138
Figura 4.28. Linearização do modelo de Adams-Bohart da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60).....	139
Figura 4.29. Linearização do modelo de Yoon-Nelson da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).....	140
Figura 4.30. Linearização do modelo de Yoon-Nelson da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60).....	140
Figura 4.31. Perfil cromatográfico do EBP. (1) Rotenona e (2) Deguelina Detecção de UV ($\lambda = 293$ nm).....	141
Figura 4.32. Perfil cromatográfico do EBP após testes de adsorção para as amostras EBP40 e EBP60. Detecção de UV ($\lambda = 293$ nm).	142
Figura 4.33. Espectro de massa do EBP após testes de adsorção para as amostras EBP40 e EBP60.....	143
Figura 4.34. Espectro de RMN de ^1H da substância 1 (CDCl_3 , 300 MHz).....	145
Figura 4.35. Espectro de RMN ^1H expandido da substância 1 (CDCl_3 , 300 MHz).	145
Figura 4.36. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 1 (CDCl_3 , 75 MHz).	146
Figura 4.37. Espectro de RMN de ^1H da substância 2 (CDCl_3 , 300 MHz).....	149
Figura 4.38. Espectro de RMN ^1H expandido da substância 2.....	149
Figura 4.39. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 2 (CDCl_3 , 75 MHz).	150
Figura 4.40. Efeito antifúngico do extrato metanolico da raiz de raiz de Timbó e das frações acetato de etila.....	155
Figura 4.41. Atividade antifúngica do extrato da raiz de raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE15).	156

Figura 4.42. Atividade antifúngica do extrato da raiz Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE30).....	157
Figura 4.43. Atividade antifúngica do extrato da raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE60).....	157
Figura 4.44. Atividade antifúngica do extrato da raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE90).....	158

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Atividade biológica de plantas contendo rotenóides.....	33
Tabela 2.2. Propriedades críticas de algumas substâncias usadas na extração supercrítica (McHUGH e KRUKONIS, 1994).....	36
Tabela 2.3. Valores de calor de adsorção física e química.	44
Tabela 2.4. Principais características da adsorção física e química (HOUGEN et al., 1984; RUTHVEN, 1984).	45
Tabela 2.5. Relação entre o fator de separação (R_L) e o tipo de adsorção (SIVARAJ, et al., 2001).....	49
Tabela 4.1. Avaliação preliminar das condições experimentais da extração por fluido supercrítico da raiz de Timbó ($t = 60$ min e $Q_m = 12$ L.min ⁻¹)..	112
Tabela 4.2. Composição média de rotenona e deguelina obtidos por SFE....	114
Tabela 4.3. Ajuste cinético para o aplicativo de retas, sistema Timbó + CO ₂ pressurizado ($P = 300$ bar, $T = 60$ °C e $Q_m = 12$ L.min ⁻¹).....	118
Tabela 4.4. Composição química expressa em ácidos graxos obtido das frações hexano (Soxhlet) e por CO ₂ supercrítico da raiz de Timbó.....	119
Tabela 4.5. Análise química semiquantitativa do hidróxido de alumínio Al(OH) ₃ (gibsite) e da alumina adsorvente (AD550).	123
Tabela 4.6. Área Específica (BET) do Al(OH) ₃ (gibsite) e da alumina adsorvente (AD550).	123
Tabela 4.7. Constantes de isotermas não linear da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó.	127
Tabela 4.8. Parâmetros cinéticos determinados por regressão linear a partir dos dados experimentais da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em alumina adsorvente (AD550).....	130
Tabela 4.9. Parâmetros termodinâmica da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).	133

Tabela 4.10. Parâmetros da curva de avanço para a adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo.	134
Tabela 4.11. Parâmetros de adsorção em coluna de leito fixo das amostras EBP40 e EBP60	136
Tabela 4.12. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C para a substância 1.....	147
Tabela 4.13. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C para a substância 2.....	151
Tabela 4.14. Efeito inibitório do extrato metanoico das raízes de raiz de Timbó obtido por percolação e de suas respectivas frações sobre a planta receptora <i>Mimosa pudica</i> (malícia).....	152
Tabela 4.15. Efeito inibitório dos extratos da raiz de Timbó, obtidos por fluido supercrítico sobre a planta receptora <i>Mimosa pudica</i> (malícia).....	153
Tabela 4.16. Perfil químico por CCD dos extratos da raiz de Timbó, obtidos por fluido supercrítico a T = 60 °C e P = 300 bar.....	153
Tabela 4.17. Composição química dos extratos da raiz de Timbó submetidos aos ensaios alelopáticos sobre a planta receptora <i>Mimosa pudica</i> (malícia).	154
Tabela 4.18. Efeito antifúngico das sub frações EBPFHAE2.1 e SFEFHAE2.1 das frações hexano/acetato de etila (5:5) do extrato alcoólico e do obtido por fluido supercrítico da raiz de Timbó.....	159
Tabela 4.19. Efeito inibitório das substâncias 1 e 2 sobre a planta receptora <i>Mimosa pudica</i> (malícia). Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).....	159
Tabela 4.20. Efeito antifúngico das substâncias 1 e 2.	160

NOMENCLATURAS E SÍMBOLOS

DA	<i>Deguelia Aubl.</i>
ρ_r	Densidades real
ρ_a	Densidades aparente
cm	Centímetros
m_s	Massa do sólido (g)
V_s	Volume do sólido (cm ⁻³)
ϵ	Porosidade do leito e das partículas (%)
P	Pressão (bar, atm ou kPa)
R^2	Coefficiente de determinação
R	Constante universal dos gases (atmL.mol ⁻¹ K ⁻¹)
Q	Vazão (L.min ⁻¹)
V	Volume (L ou mL)
n	Número de moles
nm	Nanômetro
μm	Micrometro
T	Temperatura (°C)
ρ	Densidade do fluido (g.cm ⁻³ ou g.L ⁻¹)
M	Massa molecular (g.gmol ⁻¹)
t	Tempo (min)
T_c	Temperatura crítica
P_c	Pressão crítica
V_c	Volume crítico
MPa	Mega Pascal
Hz	Hertz

°C	Graus Celsius
<i>ppm</i>	Partes por milhão
Φ	Diâmetro (mm ou cm)
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>m</i>	Multiplete
<i>t</i>	Triplete
<i>s</i>	Singleto
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
δ	Deslocamento químico em partes por milhão (ppm)
Φ	Diâmetro (cm)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xv
NOMENCLATURAS E SÍMBOLOS	xvii
SUMÁRIO	xix
1. INTRODUÇÃO	23
2 REFERENCIAL TEÓRICO	25
2.1 A FAMÍLIA FABACEAE	25
2.1.1 Timbó	28
2.1.2 O Gênero <i>Derris</i>	28
2.2 FLUIDO SUPERCRÍTICO	33
2.2.1 Curvas Globais de Extração	38
2.2.2 Rendimento Global (X_0)	40
2.3 ADSORÇÃO	41
2.3.1 Tipos de Adsorção	42
2.3.2 Isotermas de Adsorção	45
2.3.2.1 Isoterma de Freundlich	49
2.3.3 Cinética de Adsorção	50
2.3.3.1 Modelo pseudo-primeira ordem	51
2.3.3.2 Modelo pseudo-segunda ordem	52
2.3.3.3 Difusão intrapartícula	53
2.3.4 Termodinâmica de Adsorção	54
2.3.5 Adsorção em Colunas de Leito Fixo	55
2.3.5.1 Modelagem matemática	60

2.3.6	Adsorventes	65
2.4	ALELOPATIA E FITOPATÓGENOS.....	82
2.4.1	Alelopatia, Importância na Agricultura	82
2.4.2	Fitopatógenos, Impacto Causado na Agricultura	84
3	MATERIAIS E MÉTODOS	87
3.1	MATERIAIS	88
3.1.1	Matéria-Prima	88
3.2	MÉTODOS	88
3.2.1	Tratamento da Matéria-Prima	88
3.2.2	Caracterização da Matéria-Prima	88
3.2.2.1	Moagem	88
3.2.2.2	Distribuição do tamanho da partícula.....	88
3.2.2.3	Densidades real (ρ_r), aparente (ρ_a) e porosidade (ϵ).....	89
3.2.2.4	Umidade.....	90
3.2.3	Processos de Obtenção dos Extratos Vegetais	90
3.2.3.1	Extração por percolação a frio	90
3.2.3.2	Extração por Soxhlet.....	90
3.2.3.3	Extração com dióxido de carbono supercrítico	91
3.2.4	Ensaio de Adsorção	95
3.2.4.1	Preparação do adsorvente.....	95
3.2.4.2	Caracterização da alumina adsorvente.....	96
3.2.4.3	Preparação do adsorvato (5000 ppm).....	98
3.2.4.4	Adsorção em batelada	98
3.2.4.5	Estudo cinético.....	99
3.2.4.6	Adsorção em coluna de leito fixo	100

3.2.5	Análises Químicas	101
3.2.5.1	Cromatografia de camada delgada (CCD).....	101
3.2.5.2	Cromatografia de coluna por via úmida (CCVU).....	102
3.2.5.3	Cromatografia de placa preparativa (CPP)	103
3.2.5.4	Cromatografia gasosa (CG).....	104
3.2.5.5	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	105
3.2.5.6	Cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa (LC-MS) 106	
3.2.5.7	Ressonância magnética nuclear (NRM).....	106
3.2.6	Metodologia dos Bioensaios	107
3.2.6.1	Avaliação do potencial fitotóxico	107
3.2.7	Atividade Antifúngica	109
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	111
4.1	CURVA DE SECAGEM DA RAIZ DO TIMBÓ	111
4.2	PROCESSO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DA RAIZ DO TIMBÓ 111	
4.3	ENSAIOS DE ADSORÇÃO	120
4.3.1	Caracterização da Alumina Adsorvente.....	120
4.3.2	Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH_{PCZ}).....	123
4.3.3	Efeito da Temperatura na Adsorção do Extrato Metanoico da Raiz de Timbó	124
4.3.4	Isotermas de Adsorção	126
4.3.5	Cinética de Adsorção	129
4.3.6	Termodinâmica do Processo de Adsorção	132
4.3.7	Adsorção em Coluna de Leito Fixo	134
4.3.7.1	Parâmetros do leito fixo	134

4.3.7.2	Estudo Dinâmico da Coluna.....	136
4.3.8	Análise Química	141
4.4	ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS 1 E 2.....	143
4.5	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FITOTÓXICO.....	152
4.5.1	Atividade Alelopática	152
4.5.2	Atividade Antifúngica	154
4.5.3	Atividade Inibitória das Substâncias 1 e 2	159
5	CONCLUSÃO	162
6	RECOMENDAÇÕES	164
	REFERÊNCIAS	165
	ANEXO I.....	180
	APÊNDICE I.....	181

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas ictiotóxicas no Brasil tem sido referido desde a descoberta das Américas. O termo "ictiotóxico" refere-se a substâncias encontradas em plantas que podem ser venenosas ou irritantes para peixes e outros animais aquáticos. Quando peixes entram em contato com essas plantas ou ingerem partes delas, podem sofrer efeitos tóxicos que variam em gravidade, podendo levar à morte em alguns casos.

Dentre as plantas ictiotóxicas mais conhecidas, temos:

1. Teixo (*Taxus baccata*): Algumas espécies de teixo possuem alcaloides tóxicos, como a taxina, que podem afetar negativamente peixes e outros animais que consomem partes da planta.
2. Oleandro (*Nerium oleander*): O oleandro contém compostos tóxicos, incluindo cardenolídeos, que são altamente venenosos para peixes e outros animais.
3. Cônito ou Acônito (*Aconitum spp.*): O acônito é conhecido por conter alcaloides tóxicos, como a aconitina, que pode causar efeitos letais em animais aquáticos e outras espécies.
4. Cólquico ou Quitamierendas (*Colchicum autumnale*): O cólquico possui a colquicina, uma substância altamente tóxica que pode afetar peixes e outros organismos aquáticos.
5. Plantas do gênero *Derris*: Algumas espécies desse gênero contêm rotenona, um inseticida natural que também pode ser tóxico para peixes.

Derris é um gênero de plantas da família Fabaceae (leguminosas) que compreende cerca de 30 espécies. No Brasil, as Fabaceae estão entre as principais famílias que compõem a flora dos diversos ecossistemas, ocorrem cerca de 190 gêneros e 2.100 espécies.

Nas raízes de *Derris spp.* e *Lonchocarpus spp.*, encontram-se substâncias denominadas rotenóides: α -toxicarol, eliptona, sumatrol, malacol, rotenona, deguelina, tefrosina, rotenolona, 6a, 12a-desidrodeguelina e 6a, 12a-desidrorotenona. A rotenona foi utilizada pela primeira vez como inseticida em 1848 na Malásia, embora seu estudo químico tenha se iniciado somente em

1892. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização de rotenóides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas saúvas.

A Organização Mundial da Saúde classifica a rotenona, junto com a piretrina, outro inseticida orgânico de uso doméstico comum, como moderadamente perigoso: está classificada como grau 3 numa escala de 1 (mais tóxico) a 4 (menos tóxico). A rotenona é um inseticida natural de contato, e ao contrário dos outros inseticidas não é uma neurotoxina, funciona como inibidor das enzimas respiratórias, causando falhas nas funções respiratórias.

Algumas espécies deste gênero, como *Derris elliptica*, são comercialmente cultivadas há alguns anos em outros países, como fonte de inseticidas. Apresentam também algumas outras atividades biológicas promissoras. Nove dos dez rotenóides, entre eles a rotenona, isolados das raízes de *Derris malaccencis*, cultivada na China, apresentaram atividade antibacteriana contra o *Helicobacter pylori*, reconhecido como o microorganismo causador de úlcera péptica e gastrite crônica.

Os rotenóides deguelina e α -toxicarol isolados a partir dos galhos de *Derris trifoliata* apresentaram efeito inibitório de tumores de pele em ratos indicando que estes podem ser valiosos compostos anti-tumorais. Na medicina tradicional tailandesa, é utilizado como expectorante, antitussígeno e antidiarréico, tendo sido relatada atividade imunoestimulante em células de pacientes infectados pelo HIV-1) e atividade anti-inflamatória.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a extração por métodos de extração convencionais (solvente orgânico), por fluido supercrítico e a adsorção do extrato bruto da raiz do Timbó. Esse tipo de estudo é relevante e útil na busca por métodos mais eficientes e sustentáveis de extração e concentração de princípios ativos de fontes naturais, uma vez que o uso de fluidos supercríticos pode reduzir a necessidade de solventes orgânicos potencialmente tóxicos e a adsorção pode ser uma etapa de purificação importante para o isolamento de compostos específicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A FAMÍLIA FABACEAE

A família Leguminosae, é a terceira maior família de angiospermas, compreendendo cerca de 730 gêneros e 19.400 espécies (APG II, 2003), possui uma ampla distribuição geográfica, sendo predominante de regiões tropicais (LEWIS et al., 2005). A nomenclatura e a classificação da família têm gerado controvérsias, existem duas tendências principais: uma é mantida Leguminosae ou Fabaceae, com as subfamílias Mimosoideae, Caesalpiniaceae e Faboideae (Papilionoideae) e outra que leva as três subfamílias à categoria de famílias propriamente ditas: Caesalpiniaceae, Mimosaceae e Fabaceae (LEWIS e SCHRIRE, 2003; SOUZA FILHO e NASCIMENTO, 2012).

Estudos filogenéticos recentes sobre Leguminosae indicam a monofilia da família, como pertencente a Fabales, juntamente com Polygalaceae, Surianaceae, provavelmente, Quillajaceae. Atualmente, há um consenso em considera-la como uma única família (LEWIS e SCHRIRE, 2003; SOUZA FILHO e NASCIMENTO, 2012).

No Brasil, as Fabaceae estão entre as principais famílias que compõem a flora dos diversos ecossistemas (SOUZA e LORENZI, 2005), ocorrem cerca de 190 gêneros e 2.100 espécies (LIMA, 2000). Trata-se de uma família cosmopolita, ocorrendo desde os picos das serras montanhosas até o litoral arenoso, da floresta tropical úmida até desertos, inclusive em ambientes aquáticos. Os centros de diversidade diminuem a partir do distanciamento da linha do Equador (LEWIS, 1987).

A família Leguminosae é monofilética e apresenta as seguintes sinapomorfias: folhas compostas, alternas, com pulvino; pétala adaxial diferenciada e ovário monocarpelar (CHAPPILL, 1995). Os frutos são geralmente do tipo legume, mas apresentam variações: legume bacóide, nucóide e samaróide, lomento, folículo, sâmara e drupa (BARROSO et al., 1999).

As Leguminosae são importantes economicamente, apresentam vasta variedade de espécies alimentícias, além de fornecer madeira de boa qualidade, ração para animais, látex, resinas, matéria-prima na fabricação de tintas,

inseticidas, drogas medicinais no seu estado bruto (*Dioclea megacarpa*, *Vatairea paraensis* e *Dipteryx punctata*) e árvores ornamentais fixadoras de nitrogênio e muitas outras funções (SALINAS, 1992; HEGNAUER et al., 1993).

Do ponto de vista farmacológico, muitas plantas da família Leguminosae são utilizadas popularmente como antidiarreicas, laxativas e no tratamento de ferimentos, tendo sido comprovado em extratos brutos, diversas atividades entre as quais antioxidante, antiinflamatória, antifúngica, citotóxica, antibacteriana, anti-HIV, antiúlcera, hipoglicemiante e antimicrobiana (COSTA, 2001; DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2002).

Grande variedade de metabólitos secundários são produzidos por plantas da família Leguminosae, como, flavonoides, aminoácidos não proteicos, aminas, fenilpropanoides, flavonoides, isoflavonoides, antraquinonas, *di-*, *sesqui-* e *tri-*terpenos. Entre essas classes de substâncias, destacam-se os flavonoides, devido à frequência e diversidade de esqueletos que são encontrados nas três subfamílias. Deste modo, como são produtos naturais encontrados em quase todas as subfamílias de Fabaceae estudadas, são de importância taxonômica restrita apenas a essa família (WINK et al., 2003).

Os flavonoides possuem estrutura química facilmente identificada devido à presença de um esqueleto aromático C₆-C₃-C₆ (ROBBERS et al., 1997). Em geral, se apresentam como sólidos amarelos (*flavus*), também são encontrados com coloração vermelha, azul ou incolor (SIMÕES et al., 2000); possuem relativa estabilidade química e são úteis como marcadores taxonômicos na classificação das plantas (AGRAWAL, 1989).

A diversidade estrutural dos flavonoides acarreta a ocorrência de um grande número de flavonoides. Estes compostos contabilizam cerca de 6500 exemplares, sendo mais de 3000 flavonas e em torno de 700 isoflavonas. Correspondem a um dos maiores grupos de metabólitos secundários, e realizam um papel importante na defesa das plantas (RIJKE et al., 2006).

Apesar da distribuição restrita dos isoflavonoides dentro do reino vegetal, existe uma grande variabilidade estrutural nessa classe de substâncias (Figura 2.1), isso se deve tanto ao número e complexidade dos substituintes no sistema 3-fenilbenzenopirano, como também aos diferentes níveis de oxidação

neste esqueleto básico e à presença de anéis heterocíclicos extras (DEWICK, 2003).

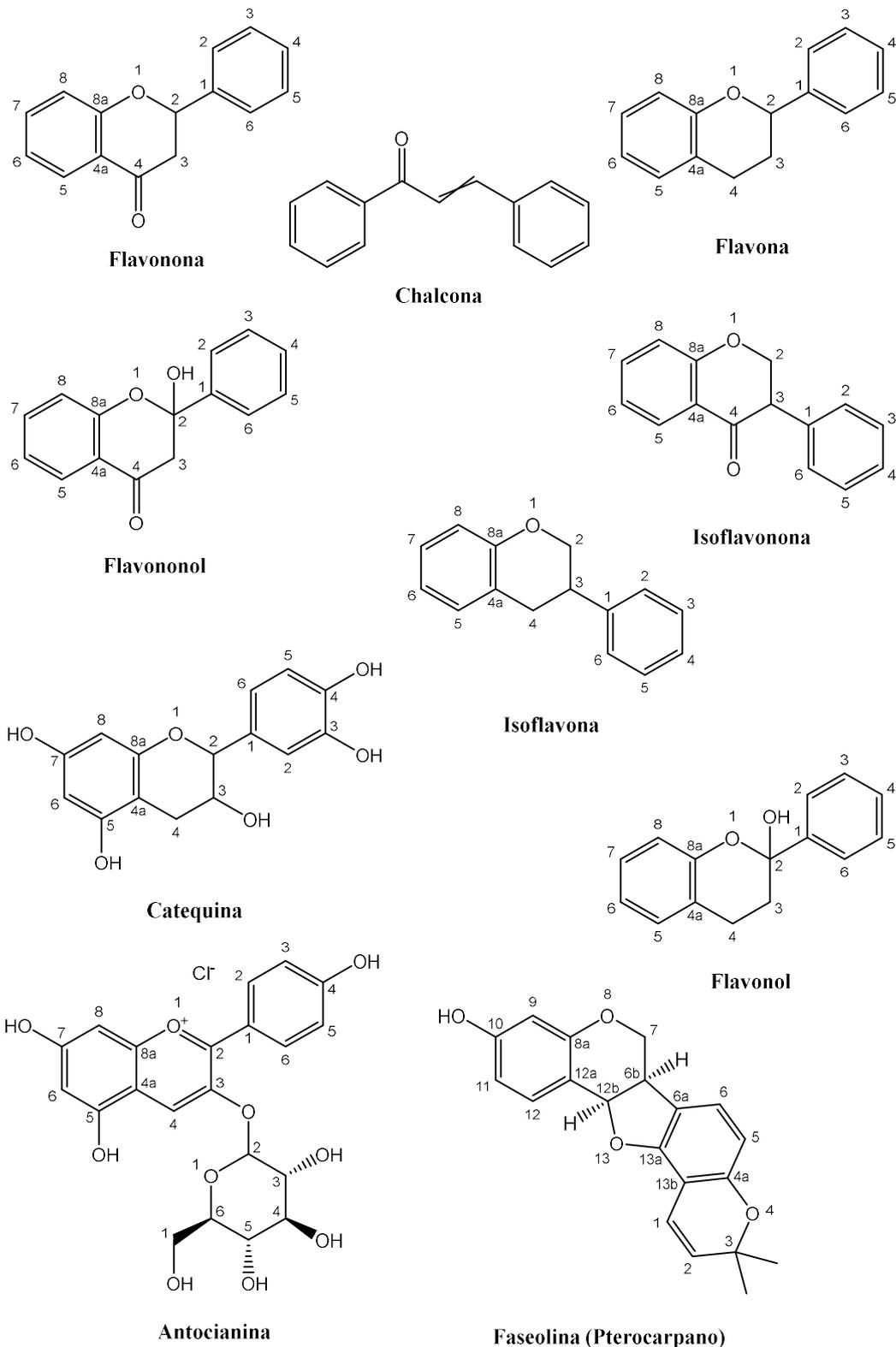


Figura 2.1. Estrutura química das principais classes de flavonoides.

2.1.1 Timbó

Timbó é o nome pelo qual são conhecidas, na Amazônia, inúmeras plantas de cultura pré-colombiana, sendo aquelas espécies que, mesmo antes do descobrimento da América por Cristóvão Colombo, eram cultivadas e utilizadas nas pescarias dos ameríndios (CONCEIÇÃO et al., 2002).

A palavra timbó é de origem tupi: *ti* (suco, sumo) e *mbo* (cobra), significando sumo de cobra, suco venenoso ou suco que mata (CORBETT, 1940; LIMA, 1987). Timbó, serve também para designar numerosas plantas pertencentes a diversas famílias botânicas, principalmente Sapindaceae e Fabaceae, as quais apresentam propriedades ictiotóxicas (CORRÊA, 1984).

Na América do Sul, essas plantas são conhecidas por diversos nomes: na Amazônia brasileira, por timbó, timborana, tíngui e cunambi; no Peru e na Colômbia, por cube e barbasco; na Guiana, por haiari e em Suriname, por nekoe (PIRES, 1978).

Os timbós verdadeiros, plantas pertencentes ao gênero *Derris*, compreendem várias espécies, tais como: *Derris negrensis*, *Derris urucu*, *Derris nicou* e *Derris elliptica*. É um cipó trepador, originário do Brasil, encontrado nas matas da Amazônia. É revestido de uma substância pegajosa e possui raízes com extensas ramificações. Suas flores são pequenas, assumindo a forma de espigas e as folhas têm folíolos ovais (ARAGÃO e VALE, 1973; MARTINS, 1989).

2.1.2 O Gênero *Derris*

As relações entre os gêneros pertencentes à tribo Millettieae, (*Lonchocarpus*, *Derris* e *Deguelia*), têm sido difíceis de identificar com base em evidências morfológicas tradicionais (SOUZA FILHO e NASCIMENTO, 2012). Nas raízes de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp., encontram-se substâncias denominadas rotenóides: α -toxicarol (1), eliptona (2), sumatrol (3), malacol (4), rotenona (5), deguelina (6), tefrosina (7), rotenolona (8), 6a, 12a-desidrodeguelina (9) e 6a, 12a-desidrorotenona (10) (LIMA, 1987; SOUZA FILHO e NASCIMENTO, 2012) (Figura 2.2).

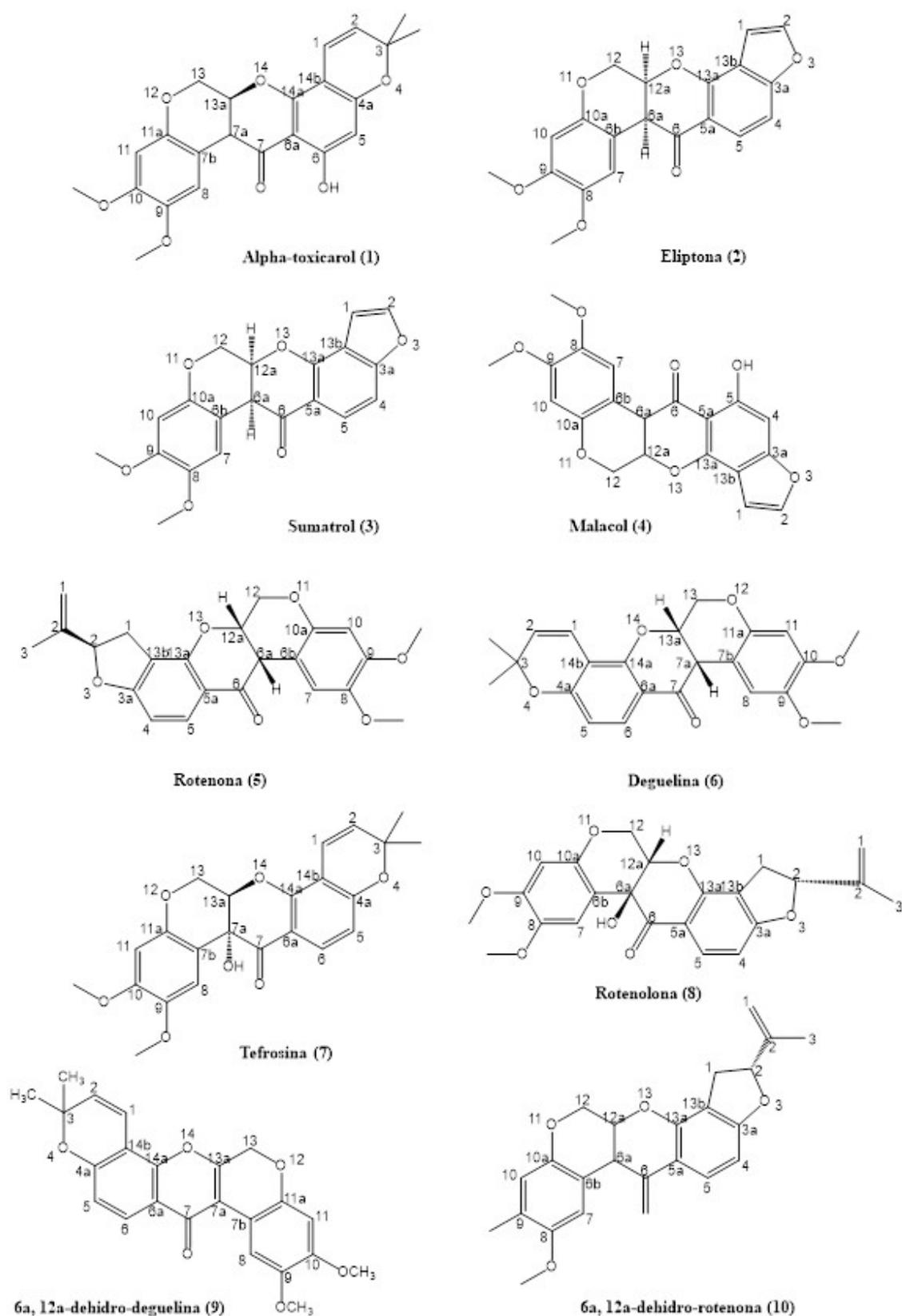


Figura 2.2. Rotenóides encontrados nas raízes de *Deguelia* Aubl., *Derris urucu* e *Lonchocarpus* spp.

Os rotenóides são compostos que tem como unidade de partida o ácido cinâmico, através da cinamoil coenzima A. Uma posterior condensação com três unidades de malonil coenzima A, produz um policetídeo, pela ação enzimática de uma isomerase e da chalcona sintase leva à formação das chalconas, compostos precursores de vários tipos de flavonoides.

A formação da flavanona e a posterior migração 1,2 do grupo aril-chiquímico para o carbono adjacente do anel heterocíclico, catalisada enzimaticamente, leva à formação de uma isoflavona. Este rearranjo é raro na natureza e a presença de isoflavonas é quase restrita à família Fabaceae. A ciclização do anel da isoflavona após uma série de reações enzimáticas origina os rotenóides, e a subsequente introdução de grupos isoprênicos, cuja unidade estrutural é o pirofosfato de isopentenila, leva à formação do ácido rotenônico.

O cofator que catalisa a ciclização da unidade isoprênica determina a formação do anel isoprenilfurano ou dimetilpirano (benzopirano) e, por consequência, a formação da rotenona ou da deguelina sem nenhum epóxido ou intermediário hidroxil detectável (Figura 2.3) (DEWICK, 2003).

A rotenona foi utilizada pela primeira vez como inseticida em 1848 na Malásia, embora seu estudo químico tenha se iniciado somente em 1892. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização de rotenóides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas saúvas (*Dolichorus bidens*) (SANTOS, 2006; VIEIRA e FERNANDES, 1999).

A rotenona pura é uma substância que se apresenta sob a forma de cristais, muito refringente e transparente. Seus cristais possuem altos índices de refração e pertencem ao sistema ortorrômbico. É solúvel no clorofórmio, éter, acetona, tetracloreto de carbono e ainda nos derivados clorados do etileno, é pouco solúvel em água (CORBETT, 1940).

A rotenona em contato com a luz e o ar decompõe-se, passa de incolor para amarela e depois vermelha, resultando em um produto sem atividade inseticida. Essa mudança ocorre sobre a planta, 7 a 10 dias, após a sua aplicação. Ela decompõe-se mais rapidamente do que a nicotina e piretrina (MARICONI, 1981). Quando utilizada comercialmente, a rotenona é relativamente inócua devido a sua baixa concentração nas misturas. A dose letal para o homem é estimada em 0,3 a 0,5 g.kg⁻¹ (SCHVARTSMAN, 1979).

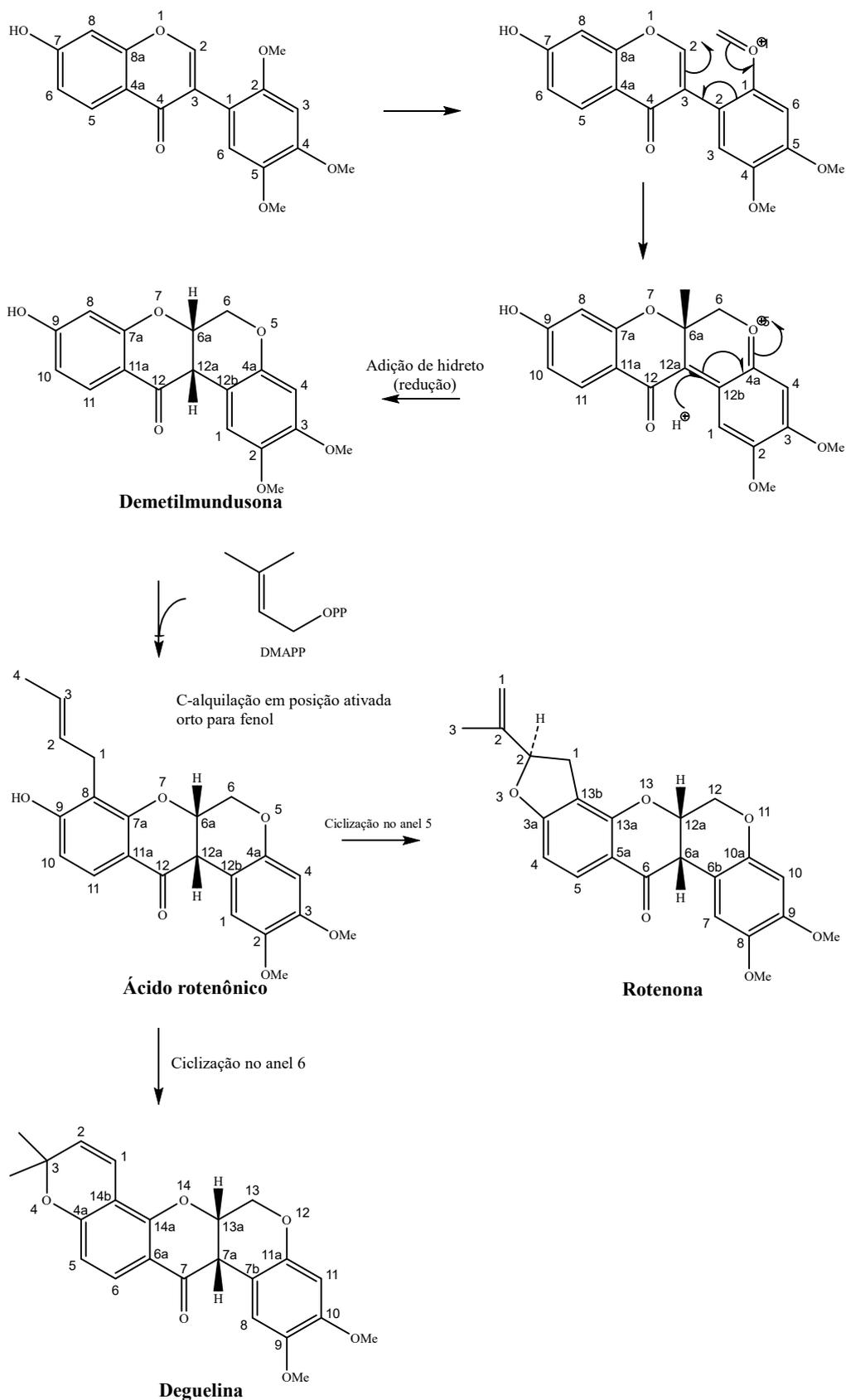


Figura 2.3. Rota biosintética para a formação da rotenona e deguelina por ciclização do anel de uma metoxiisoflavona (DEWICK, 2003).

As raízes de timbó, fornecedoras de rotenona, são de importância comercial, quando contém 5% ou mais desse princípio ativo. A rotenona é um inseticida de contato e ingestão (MARICONI, 1981). No corpo do inseto pode penetrar pelo canal alimentar, traqueias e tegumento. Ocorre em maior quantidade nas raízes, foi utilizado como inseticida pela primeira vez em 1848 (MARICONI, 1981).

A rotenona causa morte dos animais por meio da inibição da cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP, sendo peixes e insetos altamente sensíveis (MASCARO et al., 1998). Os sintomas que os insetos intoxicados apresentam são: diminuição do consumo de oxigênio, redução da respiração e ataques que provocam convulsões e conduzem finalmente a paralisias e morte por parada respiratória (SILVA et al., 2002; RATTAN, 2010), supostamente, causadas pelas metoxilações nos anéis A e D que aumentam a inibição da NADH desidrogenase (CROMBIE et al., 1973).

A administração de rotenona por injeção crônica em baixas doses repetidas causa em ratos a aparência de síndromes parkinsonianas (BETARBET et al., 2002). Esta atividade é usada para obter uma melhor compreensão da origem fisiopatológica da doença de Parkinson (CICCHETTI et al., 2002).

Ao contrário da maioria das substâncias neurotóxicas, a rotenona tem uma toxicidade seletiva para os neurônios aminérgicos do sistema nervoso central que sintetizam a dopamina (DRECHSEL e PATEL, 2008). Entretanto, a inibição da cadeia respiratória mitocondrial por si só não explica a seletividade da rotenona para os neurônios dopaminérgicos e pode ser explicada pelo efeito tóxico que resulta na despolimerização da tubulina (REN et al., 2005).

Alguns rotenóides são conhecidos como agente anticarcinogênico, a substância 12a-hidroxi morfina isolada de *Amorpha fruticosa* foi a primeira a apresentar um efeito citotóxico em seis linhagens de células neoplásicas (LI, et al., 1993).

Em testes realizados para estabelecer o potencial citotóxico em cultura de células de tumores sólidos humanos, a rotenona apresentou resultados satisfatórios: BC-1, câncer de mama ($0,039 \mu\text{g.mL}^{-1}$); COL-2, câncer de cólon ($0,15 \mu\text{g.mL}^{-1}$); HT- 1080, fibrossarcoma humano ($0,047 \mu\text{g.mL}^{-1}$); LU-1, câncer

de pulmão ($0,044 \mu\text{g.mL}^{-1}$); MEL-1, melanoma ($0,092 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e KB, carcinoma de nasofaringe ($0,067 \mu\text{g.mL}^{-1}$) (LI, et al., 1993).

Na medicina tradicional tailandesa, é utilizado como expectorante, antitussígeno e antidiarreico (TIANGBURANATHAN, 1996), tendo sido relatada atividade imune estimulante em células de pacientes infectados pelo HIV-1 (SRIWANTHANA e CHAYALITTUMRONG, 2001) e atividade anti-inflamatória (LAUPATTARAKASSEM et al., 2004). Na Tabela 2.1 são mostradas plantas contendo rotenóides utilizadas em testes biológicos.

Tabela 2.1. Atividade biológica de plantas contendo rotenóides.

Atividade Biológica	Espécie	Referência
Antibacteriana	<i>Tephrosia deflexa</i>	KARE et al., 2006
	<i>Derris indica</i>	MATHUR et al., 2007
Antifúngica	<i>Derris indica</i>	MATHUR et al., 2007
Anti-inflamatória	<i>Derris trifoliata</i>	TEWTRAKUL et al., 2009
Hepatoprotetora	<i>Derris urucu</i>	MORS et al., 1973
Larvicida	<i>Derris urucu</i>	GUSMÃO et al., 2002
Inibidor de NADH	<i>Lonchocarpus utilis</i>	FANG e CASIDA, 1999
Inseticida	<i>Lonchocarpus urucu</i>	LI e XU, 2007
	<i>Tephrosia vogelii</i>	ZHANG et al., 2000

2.2 FLUIDO SUPERCRÍTICO

Fluidos supercríticos (SFE) são definidos como qualquer substância que esteja acima da sua temperatura crítica (T_c) e da sua pressão crítica (P_c). Nenhuma substância é um fluido supercrítico, mas pode ser levada ao estado supercrítico pelo uso de calor e pressão até superar o seu ponto crítico (BRUNNER, 1994).

A temperatura crítica (T_c) é a temperatura mais alta, na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica (P_c) é a pressão mais elevada, na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura do líquido. A região crítica é conhecida como uma região de uma única fase, e esta possui ambas as propriedades, o de líquido (solvatação) e o de gás (difusividade) (BRUNNER, 1994).

A extração por fluidos supercríticos (SFE) tem importantes vantagens em relação aos métodos de extração convencionais. O fluido supercrítico apresenta diferentes densidades (poder de solvatação) a diferentes condições de pressão e temperatura, sendo possível otimizar a seletividade da extração (BRUNNER, 1994).

Do ponto de vista da seletividade, a extração por SFE é considerada uma tecnologia com grande potencial para a extração de compostos ativos a partir de matrizes vegetais. Uma vez finalizado o processo, não é necessária uma etapa adicional de eliminação do solvente, obtendo-se um produto com alta pureza relativa pela simples descompressão do sistema. O uso de solventes orgânicos em extrações cria a necessidade de estabelecer etapas adicionais de remoção do solvente, principalmente se o produto é destinado ao consumo e higiene humana (REVERCHON, 1997).

A densidade do fluido supercrítico aumenta com a pressão à temperatura constante, e diminui com a temperatura à pressão constante. Nas proximidades da temperatura crítica, estas variações acontecem rapidamente em um pequeno intervalo de pressão, aproximadamente, 0,7 a 2 vezes acima da pressão crítica (CLIFFORD, 1999).

Em temperaturas maiores que T_c , altas pressões são requeridas para alcançar densidades de líquido. A densidade do fluido está relacionada com a solvatação, alto poder de solvatação ocasiona elevada permeação do fluido na amostra, aumentando a probabilidade de uma extração completa (McHUGH e KRUKONIS, 1994). Baixo poder de solvatação significa alta seletividade e alto poder de solvatação significa baixa seletividade (BROGLE, 1982).

As variações da densidade do dióxido de carbono (CO_2) em função da temperatura e da pressão são apresentadas na Figura 2.4. A fase gasosa se concentra na região de menor pressão e maior temperatura, ao contrário da fase sólida. A fase líquida surge neste entremeio, a partir do ponto triplo (TP). As linhas de separação dos estados físicos são definidas pela descontinuidade de algumas propriedades físicas. Entre elas, destacam-se a densidade, a viscosidade e o coeficiente de compressibilidade (KING, 1993).

Para a maioria das substâncias, a fase gasosa em relação à fase líquida possui densidade de 10^2 a 10^3 vezes menor; a viscosidade de 10 a 10^2 vezes

menor; e compressibilidade de 10^4 a 10^5 vezes maior (KING, 1993). À medida que a pressão aumenta, a compressibilidade da fase gasosa diminui, e a densidade aumenta; da mesma forma, à medida que a temperatura aumenta, a viscosidade e a densidade da fase líquida diminuem. Caminhando sobre a linha de coexistência líquido-gás, as diferenças entre as fases líquida e gasosa vão diminuindo até o chamado ponto crítico (P_c): a partir deste ponto, conhecida como região supercrítica, a transição entre a fase líquida e gasosa não é mais visível através da descontinuidade das propriedades macroscópicas (BRUNNER, 1994).

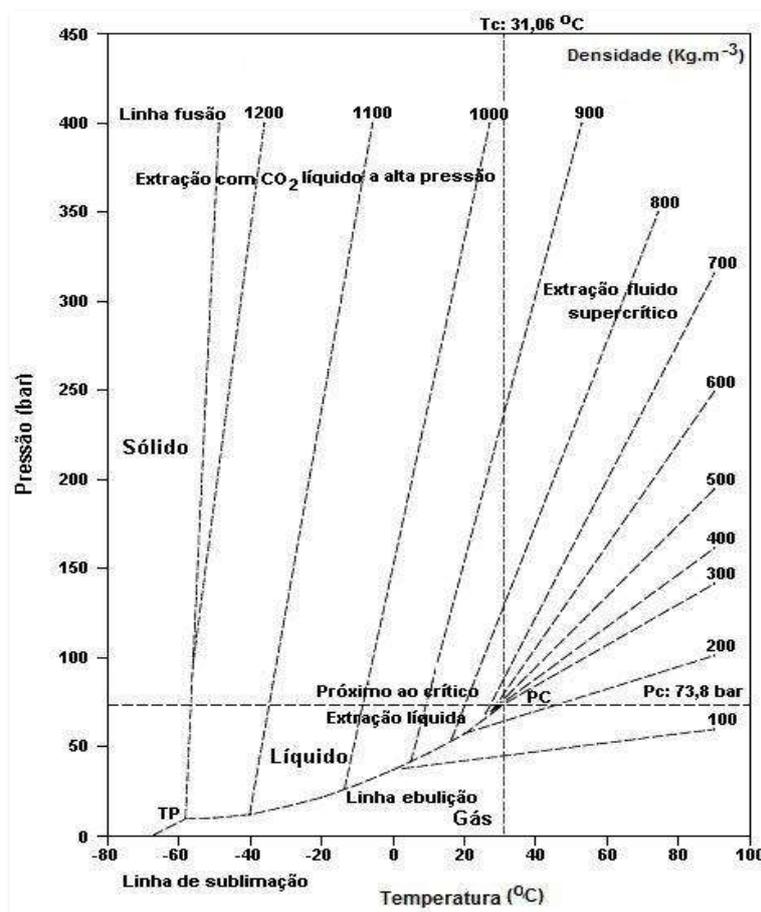


Figura 2.4. Densidade do CO₂ (kg.m⁻³) em função da temperatura e da pressão (Adaptado de BROGLE, 1982).

Diversos métodos de extração podem ser aplicados na obtenção de componentes ativos a partir de matrizes vegetais (HUIE, 2002). Do ponto de vista

de projeto de processos, os seguintes fatores devem ser considerados (AL-JABARI, 2002):

- **Rendimento:** extrair a maior quantidade de extrato e/ou do composto alvo;
- **Produtividade:** empregar o menor tempo de operação;
- **Seletividade:** retirar preferencialmente a(s) substância(s) de interesse.

Os dois primeiros fatores têm fortes implicações econômicas e determinam a viabilidade industrial da maioria dos processos, enquanto que a seletividade está relacionada com a qualidade e pureza do produto. Na Tabela 2.2, são apresentados alguns exemplos de gases e líquidos empregados na extração supercrítica.

Tabela 2.2. Propriedades críticas de algumas substâncias usadas na extração supercrítica (McHUGH e KRUKONIS, 1994).

Solvente	T _c (°C)	P _c (bar)
Água	374,20	220,48
Amônia	132,50	112,77
Benzeno	289,00	48,94
Ciclohexano	280,30	40,73
Clorotrifluormetano	28,90	39,21
Dióxido de carbono	31,10	73,76
Etano	32,30	48,84
Etileno	9,30	50,36
Propano	96,70	42,45
Propileno	91,90	46,20
Tolueno	318,60	41,14
Triclorofluormetano	198,10	44,07

O CO₂ é o solvente mais utilizado na tecnologia de extração supercrítica por ser abundante, barato, inerte, bacteriostático, não tóxico, não inflamável (FILLIPI, 1982). O CO₂ é o solvente mais utilizado para extração em condições supercríticas, devido a sua baixa temperatura crítica (T_c = 31,04 °C), permitindo que as extrações sejam realizadas a uma temperatura que não prejudique as

propriedades organolépticas e químicas dos extratos e a sua pressão crítica ($P_c = 73,8$ bar) (BRUNNER, 1994).

Como o poder solvente do fluido supercrítico é, em geral, reduzido com o decréscimo da densidade, a forma de separação mais comum é a redução da densidade pela diminuição da pressão ou pelo aumento da temperatura. Portanto, a definição da forma de separação depende da natureza dos constituintes envolvidos no processo (BRUNNER, 1994).

O CO_2 líquido é miscível, com praticamente todos os solventes líquidos comuns, desde o metanol ao pentano e com monoterpenos puros, aldeídos e cetonas. É um solvente altamente apolar, porém na fase supercrítica, a sua constante dielétrica aumenta com o aumento da pressão. A polaridade pode também ser controlada pela adição de um cossolvente (MARENTIS, 1988).

O poder de solubilização do CO_2 líquido não é alto comparado com solventes líquidos comuns. Sua solubilidade mútua com a água é pequena, o que possibilita a sua utilização na extração de compostos orgânicos de soluções aquosas (BROGLE, 1982).

Diversos processos de extração, separação e purificação por fluidos supercríticos são aplicados às indústrias farmacêutica, de alimentos, de cosméticos, de perfumaria e de processamento químico, com as seguintes finalidades (STUART, 1995):

- Preparação de extratos que representam mais fielmente os componentes das matérias-primas originais, tanto do aspecto químico quanto do ponto de vista sensorial;
- Isolamento, remoção, e/ou concentração de princípios ativos naturais, tais como: antioxidantes, corantes (páprica, cúrcuma, urucum, genipapo, tagetes e pimenta vermelha), constituintes organolépticamente idênticos e fitoterápicos, produtos indesejáveis, como a nicotina, a cafeína e certos componentes tóxicos;
 - Extração de matérias-primas e fármacos de fontes botânicas;
 - Processamento de produtos sanitários e suplementos alimentícios;
 - Purificação de polímeros;
 - Extração de inseticidas naturais de plantas;

- Extração da lecitina pura da lecitina bruta;
- Extração e refino de óleos comestíveis, concentração de óleos cítricos, extração e fracionamento de óleos de sementes e ácidos graxos, extração de óleos essenciais de plantas aromáticas;
- Separação do colesterol da gema do ovo, de gorduras animais e de carnes;
- Separação de aromáticos de produtos do petróleo e remoção de metais de resíduo do petróleo.

2.2.1 Curvas Globais de Extração

A extração de solutos presentes em uma matriz sólida, envolve uma fase sólida e uma fase fluida. A fase fluida compreende o fluido pressurizado e os solutos nele dissolvidos. A transferência de massa acontece entre essas duas fases e é representada por um balanço de massa para as substâncias transferidas e pelas relações de equilíbrio entre a transferência de massa na interface entre as fases, sendo que os parâmetros de operação e as condições do pré-tratamento do sólido controlam o processo (BRUNNER, 1994).

O processo deve ser modelado como um sistema heterogêneo composto por duas fases. A extração pode ocorrer em duas etapas: uma de taxa constante de extração (*CER - Constant Extraction Rate*), e outra de taxa decrescente de extração (*FER - Falling Extraction Rate*), limitada pela resistência interna à transferência de massa. Considerando-se a estrutura porosa da matriz vegetal, é comum que a resistência interna à transferência de massa seja um fator importante e decisivo no processo (BRUNNER, 1994).

A curva global de extração (*OEC - overall extraction curves*) descreve o comportamento de uma extração, sendo determinada pela massa acumulada de extrato em relação ao tempo. De acordo com a literatura as curvas de extração são em geral divididas em três etapas (BRAGA e QUISPE-CONDORI, 2005; FERREIRA et al., 1999):

Etapa 1. Taxa de extração constante (*CER*), onde a superfície externa das partículas está completamente coberta pelo soluto, domínio da

transferência de massa devido à convecção na fase fluida. Essa etapa, em geral, corresponde a aproximadamente de 50 a 90% do rendimento total da extração;

Etapa 2. Taxa de extração decrescente (*FER*): onde aparecem falhas nas camadas superficiais de soluto que recobrem o sólido, tanto os efeitos convectivos na fase fluida quanto os difusionais na fase sólida determinam a velocidade do processo. No final desta etapa e dependendo da matéria-prima a extração atinge mais de 70 % do rendimento da extração;

Etapa 3. Taxa de extração controlada pela difusão no sólido (*DC - Diffusion Controlled*): caracterizada pela difusão da mistura soluto / solvente no sólido.

As curvas de extração são obtidas pela massa total extraída como função do tempo de extração (Equação 2.1) (BRUNNER, 1994).

$$m_E = Q_{CO_2} \int_0^{t_{Total}} y(t) dt \quad (2.1)$$

Onde m_E é a massa de extrato (kg); Q_{CO_2} é a vazão de solvente ($kg \cdot s^{-1}$), t é o tempo (s) e $y(t)$ é a concentração de soluto na fase solvente (kg).

Segundo Meireles (2008), uma *OEC* pode ser descrita por ajuste de retas. A massa de extrato ou rendimento pode ser obtida a partir das Equações 2.2 e 2.3, para os ajustes de duas retas e de três retas, respectivamente.

$$m_E = (b_0 - C_1 b_2) + (b_1 + b_2)t \quad (2.2)$$

$$m_E = (b_0 - C_1 b_2 - C_2 b_3) + (b_1 + b_2 + b_3)t \quad (2.3)$$

Onde b_i e c_i , são os parâmetros do modelo; C_1 , é a intersecção da primeira reta com a segunda reta; C_2 , é a intersecção da segunda reta com a terceira reta; m_E , é a massa de extrato (ou rendimento) e t , o tempo.

A intersecção entre as duas primeiras retas determina o término do período de taxa constante (t_{CER}) e a intersecção entre a segunda e terceira reta determina o final do período de taxa decrescente (t_{FER}), onde a partir de onde inicia-se o período de extração controlado pela difusão.

A razão mássica de soluto na fase fluida do extrator (Y_{CER}) é o coeficiente angular de uma reta ajustada aos dados experimentais da curva de extração

(massa de extrato *versus* tempo de extração) obtidos no período de taxa de extração constante. A taxa de transferência de massa para o período *CER* (M_{CER}) é determinada através da razão entre o Y_{CER} e a vazão de solvente.

2.2.2 Rendimento Global (X_0)

O rendimento global (X_0) é definido como sendo a máxima quantidade de material solúvel que pode ser extraído a uma determinada temperatura e pressão. O X_0 é um parâmetro importante na modelagem matemática das curvas globais de extração (MEIRELES, 2003).

A seguir, listaremos algumas vantagens e desvantagens da extração por fluido supercrítico (SFE):

Vantagens:

- Seletividade: A SFE permite a extração seletiva de compostos desejados, preservando suas propriedades. É possível ajustar as condições de temperatura e pressão para extrair componentes específicos sem afetar os compostos indesejados.
- Segurança e sustentabilidade: O dióxido de carbono (CO_2) é o fluido supercrítico mais usado na SFE, é não tóxico, não inflamável e não poluente. Isso torna a SFE uma opção mais segura e sustentável em comparação com os solventes orgânicos convencionais.
- Qualidade do produto: A extração por fluido supercrítico preserva melhor a qualidade dos compostos extraídos em comparação com os métodos convencionais, pois opera em temperaturas mais baixas, evitando a degradação térmica e minimizando a oxidação.
- Eficiência energética: A SFE geralmente requer menos energia em comparação com os métodos convencionais de extração, pois opera em temperaturas mais baixas e não envolve processos intensivos de evaporação ou destilação.
- Resíduos mínimos: Os fluidos supercríticos são facilmente removidos do produto, deixando poucos resíduos e não deixando traços de solventes.

Desvantagens:

- **Custo inicial:** A instalação de um sistema de extração por fluido supercrítico pode exigir um investimento inicial significativo em equipamentos especializados, tornando-o menos acessível para algumas empresas ou instituições.
- **Complexidade operacional:** A SFE requer conhecimentos técnicos especializados para otimizar as condições de extração, como temperatura, pressão, tempo e fluxo de fluido. A falta de experiência ou compreensão adequada pode resultar em baixa eficiência ou seletividade indesejada.
- **Limitações de solubilidade:** Nem todos os compostos são facilmente solúveis em fluidos supercríticos. Alguns compostos podem exigir a adição de cossolventes ou modificações nas condições de extração para obter uma eficiência de extração satisfatória.
- **Escalabilidade:** Embora a SFE seja eficaz em laboratórios e pequenas escalas, a escalabilidade para produção em larga escala pode ser desafiadora. A otimização das condições de extração em grandes volumes pode ser complexa e requerer equipamentos mais avançados.

2.3 ADSORÇÃO

A adsorção é uma operação de transferência de massa do tipo sólido-fluido, na qual se explora a habilidade de certos sólidos (adsorventes) em reter, em suas superfícies, substâncias existentes em soluções ou gases (GOMIDE, 1988). O processo de adsorção consiste na separação seletiva de um ou mais componentes (adsorvato), de um meio líquido ou gasoso, sobre a superfície de um sólido poroso (adsorvente) (DANLY e CAMPBELL, 1978).

Usualmente o adsorvente é composto de partículas que são empacotadas em um leito fixo por onde passa a fase fluida continuamente até que não haja mais transferência de massa. Como o adsorvato concentra-se na superfície do adsorvente, quanto maior for esta superfície, maior será a eficiência da adsorção. Por esta razão, os adsorventes são, em geral, partículas sólidas porosas (BORBA, 2006).

Segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC, 1985), os sólidos porosos são classificados como: microporosos (diâmetro dos poros inferior a 2 nm), mesoporosos (diâmetro dos poros superior a 2 nm e inferior a 50 nm) e macroporosos (diâmetro dos poros superior a 50 nm). Apesar de esta classificação ser frequentemente aceita, ela é arbitrária e foi desenvolvida baseada na adsorção de nitrogênio numa ampla faixa de sólidos porosos (DO, 1998).

Cada tipo de poro desempenha um papel particular no fenômeno de adsorção. Os microporos sozinhos determinam praticamente a capacidade de adsorção de um adsorvente: eles representam quase a totalidade da superfície e do volume do adsorvente. Os macroporos e os mesoporos constituem as vias de passagem através dos microporos.

O processo de adsorção é composto por três etapas:

Etapa 1. Macro transporte: é o movimento do material orgânico através do sistema macro poro do adsorvente.

Etapa 2. Micro transporte: é o movimento do material orgânico através do sistema mesoporo e microporo do adsorvente.

Etapa 3. Sorção: é o “aprisionamento” físico do material orgânico na superfície do adsorvente, nos mesoporos e nos microporos.

2.3.1 Tipos de Adsorção

O processo de adsorção pode ser subdividido em: adsorção física (fisissorção ou adsorção de *van der Waals*), adsorção química (quimissorção ou adsorção ativada), adsorção de troca iônica e adsorção específica que pode ser por bioafinidade ou por exclusão de tamanho (TREYBAL, 1981; POMONIS e LADAVOS, 1996).

As forças envolvidas na adsorção física incluem atração por forças de *van der Waals* e/ou interação eletrostática. Ocasionalmente, pode ocorrer deslocamento de elétrons, entretanto, estes não são compartilhados entre adsorvente e adsorvato (HINES e MADDOX, 1985). Na adsorção física, o limite é apenas o número de moléculas que podem encaixar em cada camada de

moléculas adsorvidas, sendo possível a formação de multicamadas (THOMAS e THOMAS, 1997). Algumas das principais características da adsorção física são:

- Forças envolvidas: A adsorção física é governada principalmente por forças intermoleculares fracas, como forças de *Van der Waals*, forças de London e interações dipolo-dipolo. Essas forças são de natureza física e não envolvem uma reação química entre o adsorvato e o adsorvente.
- Energia de adsorção: A energia de adsorção na fisissorção é relativamente baixa, geralmente na faixa de 1-40 kJ.mol⁻¹. Essa energia é comparável à energia térmica média das moléculas envolvidas.
- Reversibilidade: A adsorção física é geralmente um processo reversível. As moléculas adsorvidas podem ser facilmente desorvidas do material adsorvente, aplicando-se calor ou reduzindo a pressão.
- Cobertura superficial: A adsorção física resulta em uma camada superficial de moléculas adsorvidas, que pode ser monomolecular ou multicamadas, dependendo das condições.
- Seletividade: A adsorção física não é seletiva em termos de interações químicas específicas. Múltiplas espécies podem ser adsorvidas em uma superfície, desde que sejam compatíveis com as forças intermoleculares predominantes.

A adsorção química é o resultado de interação química entre o adsorvente e a substância adsorvida. Ocorre formação de ligações químicas, envolvendo o rearranjo de elétrons do adsorvato, que interage com a superfície do adsorvente (CIOLA, 1981; TREYBAL, 1981). Algumas das principais características da adsorção química são:

- Forças envolvidas: A adsorção química envolve reações químicas entre as espécies adsorvidas e o material adsorvente. Ligações químicas podem ser formadas, quebradas ou modificadas durante esse processo.
- Energia de adsorção: A energia de adsorção na quimissorção é relativamente alta, geralmente na faixa de 40-400 kJ/mol. Essa energia é muito maior do que a energia térmica média das moléculas.

- Irreversibilidade: A adsorção química é frequentemente um processo irreversível. A ligação química formada entre o adsorvato e o adsorvente é mais estável e requer energia adicional para ser desfeita.

- Modificação da superfície: A adsorção química pode alterar a estrutura da superfície do adsorvente, resultando em mudanças permanentes em suas propriedades.

- Especificidade: A adsorção química é seletiva e depende das interações químicas específicas entre o adsorvato e o adsorvente. A natureza da superfície do adsorvente e as propriedades químicas do adsorvato desempenham um papel importante na seletividade da adsorção.

Na adsorção química, as moléculas são atraídas para centros ativos do adsorvente que formam apenas uma monocamada. Mas nem sempre a alteração eletrônica é completa no sentido das ligações químicas comuns, covalentes ou iônicos; pode ocorrer somente uma modificação ou deformação parcial dos orbitais. Com exceção de alguns casos, a adsorção química é exotérmica e reversível (DROGUETT, 1983; MASEL 1996). Os valores de energia liberada durante o processo de adsorção, seja ele físico ou químico, variam de autor para autor (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Valores de calor de adsorção física e química.

Calor de Adsorção (kcal.mol ⁻¹)		Referências
Adsorção Física	Adsorção Química	
2,40 - 9,60	> 19	POMONIS e LADAVOS, 2006
1,20 - 9,60	9,60 - 191,15	INGLEZAKIS e POULOPOULOS, 2006
< 15	> 15	GROB e BARRY, 2004
2,40 - 9,60	19 - 95,60	THOMAS e THOMAS, 1997
< 4,80	19 - 47,80	NEGRI e ANAND, 1985
1 - 10	10 - 100	GOMIDE, 1988
2 a 6*	> 20	COULSON & RICHARDSON, 1989

*Em certas condições pode chegar a 20 kcal.mol⁻¹.

Existe uma distinção entre os dois tipos de adsorção, esta diferença é meramente conceitual, pois há muitos casos intermediários, onde nem sempre é possível a caracterização de um sistema de adsorção (RUTHVEN, 1984). Em

termos de aplicação, a adsorção física é frequentemente usada para separar misturas de gases ou líquidos, pois a remoção das moléculas adsorvidas é relativamente fácil.

Por outro lado, a adsorção química é mais frequentemente usada para reações catalíticas ou para a remoção de contaminantes químicos, uma vez que as moléculas adsorvidas são mais fortemente ligadas à superfície e, portanto, menos propensas a se deslocarem de volta para o meio ambiente. Na Tabela 2.4, são apresentadas as principais diferenças entre os tipos de adsorção.

Tabela 2.4. Principais características da adsorção física e química (HOUGEN et al., 1984; RUTHVEN, 1984).

Característica	Adsorção Física	Adsorção Química
Calor de adsorção	2 ou 3 vezes menor que o calor latente de vaporização	2 ou 3 vezes maior que o calor latente de vaporização
Velocidade de adsorção	Regulada pela resistência ao transporte de massa	Regulada pela resistência à reação superficial
Especificidade	Baixa, toda a superfície é disponível à adsorção	Elevada, limitada aos sítios específicos do adsorvente
Cobertura da superfície	Adsorção em mono ou multicamadas	Adsorção somente em monocamadas
Quantidade adsorvida por unidade de massa	Elevadas	Baixas
Tipo de ligação	<i>van der Waals</i> (não ocorre transferência de elétrons)	Transferência de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente

2.3.2 Isotermas de Adsorção

As isotermas de adsorção são curvas que descrevem a quantidade de adsorvato (substância adsorvida) em função da pressão ou concentração do adsorvato (substância presente no fluido). Para líquidos, a concentração usualmente é expressa em unidade de massa, como em parte por milhão (*ppm*). A concentração do adsorvato no sólido é expressa como massa de adsorvato por unidade de massa de adsorvente (MCCABE et al., 2001).

As áreas superficiais de materiais adsorventes são calculadas, frequentemente, através do método BET (BRUNAUER, EMMET e TELLER,

1938), aplicado aos dados de adsorção de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$. O modelo teve como objetivo descrever quantitativamente a adsorção física de vapores, se baseia no cálculo da capacidade da monocamada e apesar das suas limitações continua sendo o procedimento padrão recomendado pela IUPAC para a determinação de áreas superficiais (THOMMES, et al., 2015; EMMETT, 1938; KRUK e JARONIEC, 2001).

As isotermas de adsorção podem ser classificadas em cinco tipos principais (Figura 2.5), de acordo com o comportamento observado (BRUNAUER et al., 1938):

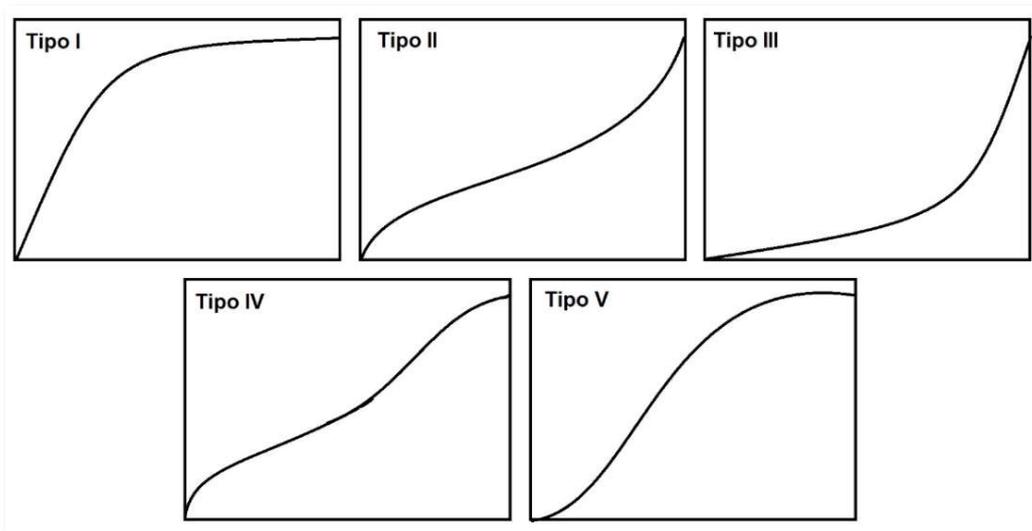


Figura 2.5. Classificação para isotermas de adsorção (BRUNAUER et al., 1938).

- Isoterma de adsorção tipo I (isoterma de Langmuir): São côncavas relativamente ao eixo das pressões relativas (p/p_0) e a quantidade adsorvida tende para um valor limite. Este tipo de isotérmicas são características de sólidos microporosos. O volume microporoso contribui mais para estabelecer o valor limite da quantidade adsorvida do que a área superficial do material. O aumento da quantidade adsorvida a baixas pressões é devido a interações adsorvente-adsorvato nos microporos de menor tamanho. A quantidade adsorvida continua a aumentar até atingir uma saturação, onde toda a superfície de adsorção está ocupada. Ocorrem também quando os adsorventes são microporosos como o

carvão, sílica gel, aluminas e peneiras moleculares, em que os capilares apresentam diâmetros de dimensões moleculares.

- Isoterma de adsorção tipo II: Apresentam um ponto de inflexão e são características de materiais não porosos ou que apresentem só macroporos. Estas isotérmicas traduzem mecanismos de preenchimento em monocamada-multicamada, sem restrições. O início da seção quase linear da isotérmica, corresponde ao preenchimento da monocamada e o início da formação das multicamadas.

- Isoterma de adsorção tipo III: Essa isoterma exibe um aumento acentuado na quantidade adsorvida em baixas pressões ou concentrações de adsorvato, seguido por uma taxa de aumento mais lenta à medida que a pressão ou concentração aumenta. É característica de sistemas com alta energia de adsorção inicial, seguida por uma diminuição na energia de adsorção à medida que a superfície de adsorção é ocupada. Apesar de possuir comportamento similar à do tipo II, raramente ocorrem no estudo de sólidos não porosos. A forma da isoterma do tipo III também sugere a formação de multicamadas.

- Isoterma de adsorção tipo IV: Essa isoterma mostra um aumento suave e contínuo na quantidade adsorvida com a pressão ou concentração do adsorvato. Geralmente, é observada em sistemas com alta energia de adsorção inicial, seguida por um aumento constante à medida que a superfície de adsorção é ocupada. Esse tipo de isoterma é comum em materiais porosos, como zeólitas e carvão ativado. A presença de dois patamares resulta da formação de duas camadas sucessivas de adsorvato na superfície do sólido quando as interações entre as moléculas e a superfície são mais fortes que entre moléculas. Neste caso, os sítios de adsorção da segunda camada só começam a ser preenchidos quando a primeira camada está cheia.

- Isoterma de adsorção tipo V: Essa isoterma exibe um comportamento semelhante ao tipo III, com um aumento suave e contínuo na quantidade adsorvida. No entanto, também apresenta um aumento acentuado no final, indicando a ocorrência de interações fortes entre o adsorvato e a superfície. Esse tipo de isoterma é típico de sistemas com adsorção química ou reações de superfície.

O modelo de Langmuir é baseado em um modelo teórico de adsorção de um gás sobre a superfície de um metal e assume que a adsorção máxima ocorre em uma monocamada saturada com moléculas de adsorvato na superfície do adsorvente energeticamente homogênea (LANGMUIR, 1918).

O modelo de Langmuir assume que todas as forças que atuam na adsorção são similares em natureza às aquelas que envolvem uma reação química e é utilizada para processos de adsorção de monocamada em superfícies homogêneas, nas quais a adsorção ocorre em sítios específicos do adsorvente considera-se implicitamente que:

- O sistema é ideal;
- Cada sítio pode acomodar uma, e somente uma entidade adsorvida;
- As moléculas adsorvidas aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, com adsorção em monocamada, em superfície homogênea;
- 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, ou seja, apresenta interação desprezível entre as moléculas adsorvidas.

Esta forma de isoterma pode ser expressa conforme a Equação 2.4:

$$q_e = q_{max} \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (2.4)$$

Os valores de q_{max} e K_L podem ser determinados pelos coeficientes linear e angular da forma linear do modelo de Langmuir (Equação 2.5):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max} K_L} + \frac{1}{K_L} C_e \quad (2.5)$$

Onde q_e é a quantidade adsorvida no equilíbrio (mg.g^{-1}), C_e é a concentração no equilíbrio (mg.L^{-1}), K_L é a constante de adsorção de Langmuir (L.mg^{-1}), relacionada com a energia de adsorção e q_{max} é a capacidade máxima de adsorção (mg.g^{-1}).

A representação gráfica de C_e/q_e em função de C_e é uma reta com interseção $1/(q_{max} K_L)$ e inclinação $1/K_L$. Entretanto, pelo fato de a forma

linearizada utilizar os duplos recíprocos (C_e/q_e e $1/K_L$), muitas vezes ocorre uma distribuição não homogênea dos pontos experimentais, levando a formação de ‘nuvens’ de pontos, o que conseqüentemente leva a perda de exatidão na estimativa dos ajustes das constantes do modelo.

Uma característica essencial da isoterma de Langmuir pode ser expressa pela constante adimensional denominado de parâmetro de equilíbrio ou fator de separação (R_L) (KADIRVELU et al., 2001), definido pela Equação 2.6.

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (2.6)$$

Onde K_L é a constante de Langmuir, C_0 é a concentração inicial (mg.L^{-1}).

O fator de separação R_L pode ser utilizado para prever a natureza da adsorção (Tabela 2.5).

Tabela 2.5. Relação entre o fator de separação (R_L) e o tipo de adsorção (SIVARAJ, et al., 2001).

Fator de Separação	Tipo de Isotherma
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L = 0$	Irreversível

2.3.2.1 Isotherma de Freundlich

A isoterma de Freundlich é um modelo empírico baseado na sorção em uma superfície heterogênea e com sítios ativos de diferentes energias (FREUNDLICH, 1909). Desenvolvido em bases empíricas, este modelo é normalmente aplicado a sistemas não ideais de adsorção, tanto em superfícies heterogêneas como para adsorção em multicamadas (HO et al., 2002).

O modelo é expresso pela Equação 2.7:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (2.7)$$

Onde q_e é a quantidade adsorvida no equilíbrio (mg.g^{-1}), C_e é a concentração no equilíbrio (mg.L^{-1}), K_F é a constante de Freundlich (L.mg^{-1}), relacionada com a energia de adsorção e n é o fator de heterogeneidade.

A expressão linear de Freundlich é dada pela Equação 2.8.

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (2.8)$$

A representação gráfica de $\ln q_e$ em função de $\ln C_e$ é uma reta com interseção $\ln K_F$ e inclinação $\ln C_e$. O coeficiente K_F ($(\text{mg.g}^{-1}) (\text{L.mg}^{-1})^{1/n}$) está relacionada com a capacidade de adsorção do sólido e n indica se o processo é ou não favorável, valores de n no intervalo de 1 a 10 são indicativos de condições favoráveis do processo de adsorção (SATYANARAYANA et al., 1999).

Para valores fixos de C_e e de $1/n$, q_e será tanto maior quanto maior for K_F e, para valores fixos de K_F e de C_e , a ligação da adsorção será mais forte quanto menor for o valor de $1/n$. Para valores de $1/n$ muito pequenos, a capacidade de adsorção independente de C_e e a isoterma de adsorção (relação entre q_e e C_e) se aproximam da horizontal, com q_e aproximadamente constante, de forma que a isoterma é denominada irreversível.

Se o valor de $1/n$ for muito elevado, a ligação na adsorção será fraca, com q_e variando significativamente para pequenas concentrações C_e . Na saturação, q_e se torna constante, independentemente do aumento de C_e , de modo que a equação de Freundlich não pode mais ser utilizada (DINESH, PITTMAN, 2006).

2.3.3 Cinética de Adsorção

Os estudos de equilíbrio de adsorção são importantes para investigar o mecanismo de adsorção e as etapas controladoras do processo que incluem transferência de massa e reações químicas (se for o caso), modelos matemáticos têm sido propostos para descrever os dados de adsorção (HO e MACKAY, 1998; HO e MACKAY, 1999).

Estes modelos matemáticos são classificados por modelos de reação de adsorção e modelos de difusão de adsorção. Os dois tipos de modelos são

aplicados para descrever a cinética do processo de adsorção; no entanto, eles são bastante diferentes em sua natureza (QIU et al., 2009).

Os modelos de reação de adsorção são construídos a partir dos dados experimentais da cinética química, enquanto que os modelos de difusão de adsorção são construídos com base na difusão das moléculas da fase fluida para a região interfacial (DABROWSKI, 2001; RAYS e RAJEEV, 2010; QIU et al., 2009).

As informações cinéticas permitem avaliar a natureza das etapas determinantes da velocidade, que está diretamente relacionada com as interações adsorvente/adsorvato e pode ser parcialmente caracterizada pela energia de ativação do processo e pelo efeito da temperatura sobre a velocidade (HO e MACKAY, 1999).

2.3.3.1 Modelo pseudo-primeira ordem

O modelo proposto por Lagergren (1898) (Equação 2.9), foi uma das primeiras equações de taxa estabelecidas para adsorção em superfícies sólidas em um sistema de adsorção sólido/líquido. É amplamente utilizada em processos de adsorção do soluto de uma solução líquida, está baseada na capacidade de adsorção do sólido (HO e MACKAY, 1998; HO e MACKAY, 1999; HO e MACKAY, 1999). Este modelo considera que a velocidade de adsorção é proporcional ao número de sítios livres (MIMURA, et al., 2010), descrevendo um processo de fisissorção. A equação de modelo pseudo-primeira ordem é apresentada a seguir:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (2.9)$$

Integrando-se a Equação 2.9 e aplicando as condições limites $t = 0$ e $q_t = 0$ a $t = t$ e $q_t = q_e$ no equilíbrio, temos:

$$\ln\left(\frac{q_e - q_t}{q_e}\right) = k_1 t \quad (2.10)$$

Na forma linear a Equação 2.10 torna-se,

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (2.11)$$

Onde q_e e q_t (mg.g^{-1}) são as capacidades de adsorção em equilíbrio e no tempo t , respectivamente. k_1 (min^{-1}) é a constante de adsorção de pseudo-primeira ordem.

O valor de k_1 é determinado a partir da inclinação do gráfico do $\ln(q_e - q_t)$ versus t .

2.3.3.2 Modelo pseudo-segunda ordem

O modelo cinético pseudo-segunda ordem proposto por Ho e McKay (1999) considera que a força motriz do processo é o quadrado da diferença de concentrações proposta por Lagergren (1898), diferentemente do modelo de pseudo-primeira ordem, assume que a etapa determinante da velocidade compreende que o mecanismo é dependente das interações físico-químicas entre adsorvente-adsorvato, descrevendo um processo de quimissorção. A equação de pseudo-segunda ordem é expressa da seguinte forma:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (2.12)$$

Onde k_2 é constante de adsorção de pseudo-segunda ordem.

Após a integração e aplicando as mesmas condições de limite, $t = 0$ e $q_t = 0$ a $t = t$ e $q_t = q_e$ no equilíbrio, a Equação 2.12 torna-se

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad (2.13)$$

Na forma linear a Equação 2.13 torna-se,

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2.14)$$

Se a taxa inicial de adsorção for tomada como $h = q/t$, então, quando t se aproxima de 0, h se tornará $k_2 q_e^2$. Agora, a Equação 2.14 pode ser rearranjada para obter:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{h} + \frac{t}{q_e} \quad (2.15)$$

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem é baseado na capacidade de adsorção da fase sólida e descreve o comportamento do processo em toda a faixa de tempo de contato. Se a cinética de pseudo-segunda ordem é aplicável, um gráfico (t/q) *versus* t , deve apresentar uma relação linear, com coeficiente linear ($1/kq_e^2$) e coeficiente angular ($1/q_e$). O valor da constante (k_2) é obtido através do coeficiente linear da reta (HO e MACKAY, 1998; HO e MACKAY, 1999).

2.3.3.3 Difusão intrapartícula

O processo de adsorção global pode ser controlado quer por uma ou mais etapas, por exemplo, difusão de filme, difusão de poros, difusão de superfície e adsorção na superfície de poro, ou uma combinação de mais de um passo. Além da adsorção na superfície externa do adsorvente, existe também uma possibilidade de difusão intrapartícula que pode ser estudada usando o modelo de difusão intrapartícula (Equação 2.16) (MCKAY et al., 1987; WEBER e MORRIS, 1963).

$$q_t = k_{ip}\sqrt{t} + C \quad (2.16)$$

ou

$$q_t = k_{ip}t^{0,5} \quad (2.17)$$

Onde k_{ip} é a constante de taxa de difusão entre partículas e C é uma constante que dá ideia sobre a espessura da camada limite, isto é, maior o valor de "C", maior é o efeito da camada limite.

Se a difusão intrapartícula está envolvida na adsorção, então um gráfico de q_t *versus* $t^{0,5}$ resultará em uma relação linear que permite calcular o valor de K_{ip} por meio da inclinação da reta (ÖZCAN e ÖZCAN, 2004).

O modelo cinético de difusão intrapartícula (Equação 2.16), derivado da Lei de Fick, assume que a difusão do filme líquido que cerca o adsorvente é

desprezível e a difusão intrapartícula é a única taxa que controla as etapas do processo de adsorção (YANG e AI-DURI, 2005).

A dependência matemática é obtida considerando um processo de difusão em coordenadas esféricas ou cilíndricas, e difusão convectiva na solução do adsorvato, é assumido que a resistência à transferência de massa é significativa apenas no início do processo (YANG e AI-DURI, 2005).

Em geral, gráficos apresentam multilinearidade, o que sugere que duas ou mais etapas podem ocorrer. A primeira é a adsorção de superfície externa ou fase de adsorção instantânea. A segunda é a fase da adsorção gradual, onde a difusão intrapartícula é limitada e, a terceira, é a fase de equilíbrio final, onde a difusão intrapartícula começa a reduzir a velocidade em função da baixa concentração de soluto na solução e da menor quantidade de sítios de adsorção disponíveis (SUN, 2003).

Gráficos não lineares em toda a faixa de tempo, mesmo sugerindo que a difusão intrapartícula é significativa, demonstram que há mais de um fator que afeta a adsorção e podem estar operando simultaneamente (ÖZCAN e ÖZCAN, 2004).

2.3.4 Termodinâmica de Adsorção

O estudo do equilíbrio termodinâmico pode, em geral, ser aplicado à adsorção como para qualquer outro equilíbrio entre fases. A única suposição geral implícita em tal aproximação é que a camada adsorvida pode ser tratada como uma fase distinta no sentido termodinâmico. É possível adotar duas formas diferentes, mas de perspectivas inteiramente consistentes quando se aplica os princípios termodinâmicos ao equilíbrio de adsorção. A primeira, é a camada superficial, que consiste de adsorvente mais adsorvato, pode ser considerada como uma única fase, tendo as mesmas propriedades gerais de uma solução; a segunda, é considerar o adsorvente sendo termodinamicamente inerte (RUTHVEN, 1984).

A determinação dos parâmetros termodinâmicos, variação de entalpia (ΔH), variação de entropia (ΔS) e variação da energia livre de Gibbs (ΔG), indicam se o processo é espontâneo, exotérmico ou endotérmico. A energia livre

de Gibbs de um processo de adsorção, considerando a constante de equilíbrio de adsorção K_L (que é a mesma constante de Langmuir), está relacionada com a constante de equilíbrio da equação clássica de van't Hoff (RAJORIYA et al., 2007).

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_L \quad (2.18)$$

Onde T é a temperatura do adsorvato (K) e R , é a constante Universal dos gases (8,314 J.mol⁻¹.K⁻¹).

A relação entre energia livre e a constante de equilíbrio, a mudança da constante de equilíbrio com a temperatura pode ser obtida na forma diferencial:

$$\frac{d}{dT} \ln K_L = \frac{\Delta H^0}{RT^2} \quad (2.19)$$

Após a integração da Equação 2.19, temos:

$$-RT \ln K_L = \Delta H^0 - TRY \quad (2.20)$$

Onde Y é a constante de integração.

$$\Delta S^0 = RY \quad (2.21)$$

Substituindo o ΔG^0 e o ΔS^0 na Equação 2.20 temos:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (2.22)$$

A inclinação e o intercepto dos parâmetros ΔG^0 versus T foram utilizados para determinar os valores ΔS^0 e ΔH^0 . O calor envolvido durante a adsorção física é da mesma ordem de grandeza, como o calor de condensação (2,1 a 20,9 kJ.mol⁻¹) (SAG e KUTSALI, 2000), enquanto o calor de quimissorção (-80 a 200 kJ.mol⁻¹) (HAYWARD e TRAPNELL, 1964).

2.3.5 Adsorção em Colunas de Leito Fixo

O processo de adsorção de componentes de misturas fluidas por via de colunas de leito fixo de materiais adsorventes porosos é uma das várias aplicações em Engenharia Química (KACZMARSKI et al., 1997). Neste

processo, o adsorvato passa através de um leito empacotado a uma taxa de fluxo constante. Parâmetros como a velocidade de escoamento do líquido pela coluna, zona de transferência de massa, capacidade de adsorção e o tempo de residência são avaliados a fim de determinar as melhores condições operacionais de modo a garantir a máxima eficiência do processo de separação (TREYBAL, 1981; GEANKOPLIS, 1998).

A natureza do processo de adsorção é transiente e uma zona de transferência de massa começa a ser formada, a partir do instante em que a alimentação é estabelecida e toma forma definitiva a partir do instante em que o adsorvente da entrada do leito alcança o equilíbrio com a alimentação do adsorvato. As concentrações na fase fluida e na fase sólida variam de acordo com o tempo e com a posição no leito (GEANKOPLIS, 1998). A região com maior gradiente de concentração é chamada de região de transferência de massa (TREYBAL, 1981; McCABE et al, 2001).

As operações onde a mistura fluida a ser tratada passa através de um leito estacionário de adsorvente são mais econômicas do que aquelas em estado não estacionário onde o transporte contínuo das partículas sólidas requer um alto custo. A capacidade de adsorção do leito é estimada por curvas denominadas curvas de ruptura ou de avanço (*breakthrough*) (Figura 2.6) (TREYBAL, 1981).

O mecanismo do processo de adsorção em leito fixo é controlado por alguns fatores como, a natureza do adsorvato, o tamanho da partícula do adsorvente, a velocidade do fluido através do leito, o pH da solução, a concentração de soluto na solução de alimentação, a altura do leito e o diâmetro interno da coluna (ALDEGS et al., 2008).

Não existe uma clara demarcação dos valores de concentração do resíduo alimentado e purificado no interior da coluna, ao invés disso, uma zona de transição é formada a qual se desloca com o tempo, cuja concentração de adsorvato a montante é a concentração de alimentação e a concentração a jusante é praticamente zero. A ordenada da curva é a concentração, e a abscissa é o tempo de fluxo através da coluna, frequentemente expresso em termos de volume de leito (RAMALHO, 1983).

A melhor eficiência do processo corresponde ao maior tempo de ruptura que se obtém quando a inclinação da curva é praticamente vertical. A forma das curvas de ruptura depende da difusão interna e eventualmente da transferência externa, da disposição axial e da isoterma de adsorção (TREYBAL, 1981).

Normalmente, o tempo de ocorrência da ruptura diminui com o aumento da velocidade do fluido através do leito, com o aumento do tamanho da partícula do adsorvente, com o aumento da concentração inicial do soluto na solução de alimentação e com o decréscimo da altura do leito (AL-DEGS et al., 2008; DABROWSKI, 2000).

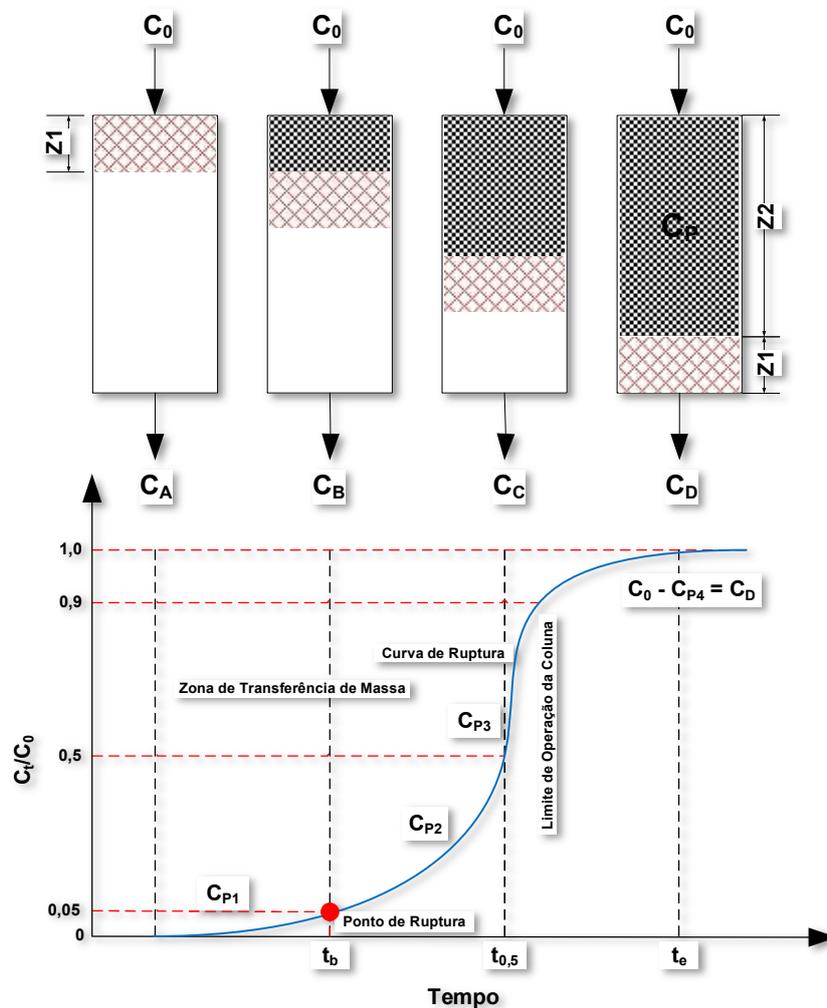


Figura 2.6. Características da curva de ruptura no processo de adsorção em coluna de leito fixo. (C_0 e C_{A-D}) concentrações do influente e do efluente, (Z_1 e Z_2) zonas de adsorção e adsorvida e (C_{P1-P4}) concentração adsorvida (Adaptado de TREYBAL, 1981).

O comportamento da adsorção de um determinado soluto sobre um adsorvente é expresso em termos de concentração normalizada (C_t/C_0) em função do tempo (t) ou em função do volume de efluente (V_{ef}), pode ser calculado a partir da seguinte Equação 2.23 (KUNDU e GUPTA, 2007):

$$V_{ef} = Qt_{total} \quad (2.23)$$

A quantidade total de soluto adsorvido para uma concentração de alimentação C_0 (mg.L^{-1}) e uma vazão volumétrica Q (L.h^{-1}), pode ser determinada através do cálculo da área sob a curva de ruptura.

$$q_{total} = QA \quad (2.24)$$

$$A = \int_{t=0}^{t=t_{total}} C_{ads} dt \quad (2.25)$$

$$q_{total} = Q \int_{t=0}^{t=t_{total}} C_{ads} dt \quad (2.26)$$

A área abaixo da curva de breakthrough pode ser obtida pela resolução do integral da Equação 2.26.

$$C_{ads} = C_0 - C_t$$

Onde C_{ads} é concentração removida do adsorvato (mg.L^{-1}).

$$q_{total} = \frac{QC_0}{M_{ads}} \int_0^t \left(1 - \frac{C_t}{C_0}\right) dt \quad (2.27)$$

A capacidade máxima de adsorção da coluna, q_e (mg.g^{-1}), é calculada da seguinte forma:

$$q_e = \frac{q_{total}}{M_{ads}} \quad (2.28)$$

Onde q_{total} é a quantidade total do adsorvato retido (mg.g^{-1}) no final do processo, M_{ads} é a quantidade do adsorvente (g) na coluna.

A quantidade total de adsorvato passado pela coluna (m_{total}), é calculado de acordo com a Equação 2.29.

$$m_{total} = \frac{C_0 Q q_{total}}{1000} \quad (2.29)$$

A porcentagem retida é calculada de acordo com a Equação 2.30.

$$\%Retida = \frac{q_{total}}{m_{total}} \cdot 100 \quad (2.30)$$

A zona de transferência de massa (MTZ), que é o comprimento da zona de adsorção na coluna, indica a eficiência no uso de adsorventes (ADAK et al. 2006), é calculado de acordo com a Equação 2.31.

$$MTZ = L \left(\frac{t_{total} - t_b}{t_{total}} \right) \quad (2.31)$$

Onde L é comprimento do adsorvente na coluna (cm) e t_b o tempo de ruptura (h).

O tempo necessário para o MTZ mover o comprimento de sua própria altura para cima / baixo da coluna é representado por t_z , é calculado de acordo com a Equação 2.32.

$$t_z = \left(\frac{V_{ef} - V_b}{Q} \right) \quad (2.32)$$

Onde $V_{ef} = Q t_{total}$, volume total de efluente até o tempo de exaustão (L) e $V_b = Q t_b$, volume total de efluente até o tempo de ruptura (L).

A taxa na qual a MTZ está subindo/descendo pelo leito adsorvente é denominada por U_z (cm.h⁻¹) é expressa como:

$$U_z = \frac{MTZ}{t_z} \quad (2.33)$$

O tempo de contato entre a fase aquosa e o adsorvente é denominado como Tempo de Contato do Leito Vazio ($EBCT$). O $EBCT$ (min) mede basicamente a profundidade crítica e o tempo de contato de um adsorvente. Pode ser calculado de acordo com a seguinte Equação:

$$EBCT = \frac{V_L}{Q} \quad (2.34)$$

Onde V_L é o volume do leito adsorvente (cm).

No caso de uma curva de ruptura simétrica, o tempo gasto pela concentração do efluente até atingir a metade da concentração inicial é chamado tempo estequiométrico (t_s) (CAVAS et al. 2011). Os t_s para curvas de ruptura assimétricas pode ser calculado a partir da Equação 2.35.

$$t_s = \frac{1}{C_0} \int_{t=0}^{t=t_e} C_{ads} dt \quad (2.35)$$

O comprimento do leito não utilizado (LUB) é o comprimento da MTZ que permanece inutilizado mesmo após o tempo de exaustão do leito. O LUB (cm) pode ser determinado a partir da curva de avanço (breakthrough) de acordo com a seguinte Equação (CHEN et al. 2013).

$$LUB = L \left(\frac{t_s - t_b}{t_s} \right) \quad (2.36)$$

Onde t_s é o tempo em que $C_t/C_0 = 0,5$ (para uma curva de avanço simétrica).

2.3.5.1 Modelagem matemática

A modelagem matemática é importante no projeto de colunas de leito fixo, para realizar o dimensionamento deste em escala industrial. Os modelos são utilizados com a finalidade de reduzir os custos de um projeto, e podem ser validados apenas através da obtenção de dados experimentais em escala laboratorial (DABROWSKI, 2011).

Existem diferentes abordagens para a modelagem matemática de colunas de leito fixo, dependendo das características específicas do sistema. Aqui estão algumas das principais considerações e métodos utilizados:

- Equações de balanço de massa: As equações de balanço de massa descrevem a taxa de transferência de massa do adsorvato entre a fase líquida e a fase sólida ao longo da coluna. Essas equações são geralmente formuladas

usando a equação da difusão em estado estacionário ou em estado não-estacionário.

- Equações de equilíbrio de adsorção: Para modelar a adsorção na coluna, é necessário considerar as isotermas de equilíbrio de adsorção. Essas isotermas descrevem a relação entre a concentração do adsorvato na fase líquida e sua concentração na fase sólida. Várias equações de equilíbrio de adsorção podem ser utilizadas, como as equações de Langmuir, Freundlich ou BET.

- Parâmetros cinéticos: Em alguns casos, é importante considerar a cinética de adsorção, ou seja, a taxa na qual o adsorvato é adsorvido na superfície sólida. Isso pode ser modelado usando equações cinéticas adequadas, como a equação de pseudo-primeira ordem ou pseudo-segunda ordem.

- Modelos de transferência de massa: Para levar em conta a transferência de massa entre a fase líquida e a fase sólida, podem ser usados modelos de transferência de massa, como o modelo de filme-difusão, o modelo de partição em série ou o modelo de porosidade efetiva. Esses modelos descrevem a resistência à transferência de massa em diferentes regiões da coluna.

- Simulação numérica: A modelagem matemática de colunas de leito fixo pode ser realizada por meio de simulações numéricas. Isso envolve a discretização do leito em volumes ou estágios e a resolução numérica das equações diferenciais que descrevem o processo. Métodos numéricos como o método das diferenças finitas ou o método dos elementos finitos podem ser aplicados.

Os perfis de concentração nas fases sólidas e líquidas variam com o espaço e tempo, e por isso, não operam no estado estacionário. Por este motivo, não é fácil desenvolver um modelo que consiga prever com precisão o comportamento dinâmico do fenômeno da adsorção em leito fixo (HAMDAOUI, 2009). Em geral, os modelos matemáticos apropriados para descrever o comportamento de adsorção em leito fixo são classificados em modelo de parâmetros distribuídos e, modelos de parâmetros concentrados.

Os modelos de parâmetros distribuídos são aqueles em que descrevem as variações comportamentais de ponto a ponto dentro de um sistema considerando, o perfil de concentração do soluto dentro do adsorvente. Enquanto, na representação de modelos de parâmetros concentrados as variações espaciais são ignoradas e as várias propriedades e o estado do sistema (variáveis dependentes) podem ser considerados homogêneos dentro do sistema. Assim, o perfil de concentração de soluto dentro do adsorvente não é levado em consideração (BORBA, 2006).

A modelagem matemática permite a análise detalhada do processo de adsorção em colunas de leito fixo, possibilitando a otimização das condições operacionais, a escolha do adsorvente adequado, o dimensionamento da coluna e a previsão do desempenho do sistema. No entanto, é importante lembrar que os modelos matemáticos são aproximações da realidade e requerem validação experimental para garantir sua precisão.

Modelo de Thomas

O modelo de Thomas (1944) pressupõe que a adsorção pode ser descrita por uma cinética de pseudo-segunda ordem, assume a isoterma de Langmuir para o equilíbrio e considera que a dispersão axial é insignificante e a adsorção ocorre de maneira uniforme sobre os sítios ativos do adsorvente (ALBADARIN et. al., 2012; CHIVOLA et. al., 2012, SONG et. al., 1999).

O modelo assume que:

- As propriedades físicas do adsorvato e adsorvente são constantes;
- A difusão intrapartícula e a resistência externa à transferência de massa são desprezíveis;
- A temperatura e a pressão são constantes durante todo o processo;
- A dispersão axial e radial é desprezível na coluna;
- A adsorção no equilíbrio se dá pela equação de Langmuir.

O modelo de Thomas (Equação 2.37) é utilizado para determinar a capacidade máxima de adsorção de um adsorvente e a respectiva constante cinética.

$$\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{k_{Th}q_0M}{Q} - k_{Th}C_0t\right)} \quad (2.37)$$

Onde C_0 e C_t são as concentrações do influente e do efluente (mg.L^{-1}); k_{Th} ($\text{L.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$) é a constante cinética; q_0 é a capacidade de adsorção do adsorvente (mg.g^{-1}); Q é a vazão volumétrica de alimentação do leito (L.h^{-1}); M é a massa de adsorvente (g) e t é o tempo de operação do sistema (h).

A solução analítica do modelo é apresentada na forma linearizada. A constante cinética k_{Th} e a capacidade de adsorção q_0 é determinada a partir de um gráfico $\ln\left[\left(\frac{C_t}{C_0}\right) - 1\right]$ versus t .

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0} - 1\right) = \frac{k_{Th}q_0M}{Q} - k_{Th}C_0t \quad (2.38)$$

Modelo de Adams-Bohart

O modelo de Adams-Bohart (1920) assume que a taxa de adsorção é proporcional tanto à capacidade do adsorvente quanto à concentração na fase líquida da espécie a ser adsorvida, determinada principalmente pela superfície de contato, tendo como base a teoria da reação em superfícies, assumindo que o equilíbrio não é instantâneo.

O modelo de Adams-Bohart (Equação 2.39) considera que a cinética de adsorção é a etapa controladora do processo, que é representado por uma isoterma retangular, típica de reações irreversíveis. São consideradas insignificantes as resistências de película e intrapartícula bem como a dispersão no interior da coluna em leito fixo (CHU, 2010). Este modelo é usado para descrever a relação entre C_t/C_0 e t em um sistema contínuo, sendo mais apropriado para solutos monocomponentes e assume que as limitações à transferência de massa externa são negligenciáveis (CHU, 2010).

$$\frac{C_0}{C_t} = \frac{1}{1 + \exp\left[\left(\frac{k_{BA}N_0H}{v}\right) - (k_{BA}C_0t)\right]} \quad (2.39)$$

Onde C_0 e C_t são as concentrações do influente e do efluente (mg.L^{-1}); K_{BA} ($\text{L.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) é a constante cinética; N_0 é a capacidade de adsorção do adsorvente (mg.g^{-1}); H é a altura do leito (m), v é a velocidade (m.h^{-1}) e t é o tempo (h).

Os parâmetros K_{BA} e N_0 podem ser determinados pelo gráfico de $\ln(C_0/C_t)$ versus t .

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_t}\right) = \frac{k_{BA}N_0H}{v} - k_{BA}C_0t \quad (2.40)$$

Modelo de Yoon e Nelson

O modelo de Yoon e Nelson (1984) assume que a probabilidade de adsorção de uma molécula de adsorvato é inversamente proporcional à cobertura da superfície e à probabilidade de sua adsorção e ruptura do leito (SALMAN et al., 2011). Este modelo é bastante simples e não requer dados detalhados relativamente às características do adsorvente ou parâmetros do leito (AKSU e GÖNEN, 2004), é descrito por:

$$\frac{C_t}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp(k_{YN}(\tau - t))} \quad (2.41)$$

Onde C_0 e C_t são as concentrações do adsorvato na entrada e na saída do leito (mg.L^{-1}), K_{YN} é a constante de velocidade (h^{-1}), τ é o tempo necessário para que o adsorvente chegue a 50% da sua saturação (h) e t é o tempo (h).

Se A é a fração de adsorvato sendo adsorvida no leito, e P é a fração de adsorvato que permanece na solução, a taxa de adsorção pode ser expressa por:

$$\frac{dA}{dt} = k_{YN}(t - \tau) \quad (2.42)$$

Com a substituição de $P = 1-A$, e se $A = 0,5$, no tempo t a integração da Equação 2.41 fica:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0 - C_t}\right) = k_{YN}(t - \tau) \quad (2.43)$$

ou

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0 - C_t}\right) = k_{YN}t - k_{YN}\tau \quad (2.44)$$

Os parâmetros k_{YN} e t podem ser determinados a partir da dependência linear de $\ln(C_t/(C_0-C_t))$ versus t . A Equação 2.44 pode ser reescrita como:

$$t = \tau + \frac{1}{k_{YN}} \ln\left(\frac{C_t}{C_0 - C_t}\right) \quad (2.45)$$

Se $C_t/C_0 = 0,5$ no tempo $t = \tau$, o leito será saturado em um tempo $t = 2\tau$. Para uma curva de ruptura simétrica, a quantidade de adsorvato adsorvido no tempo τ é igual à metade da capacidade adsorvida (q_{YN}), e é calculada relativamente à concentração inicial (C_0) e vazão (Q).

$$q_{YN} = \frac{C_0 Q \tau}{m} \quad (2.46)$$

2.3.6 Adsorventes

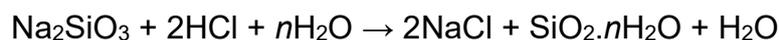
Os adsorventes são substâncias naturais ou sintéticas, geralmente com estrutura monocristalina, com microporos de baixa variação de diâmetros e superfície interna acessível a uma combinação seletiva entre o sólido e o soluto proveniente do adsorvato. Os adsorventes são materiais altamente porosos, o que faz com que a adsorção ocorra primeiramente nas paredes destes poros ou em lugares específicos do interior da partícula, chamados sítios de adsorção. Estes poros são geralmente muito pequenos, então a área superficial interna destes poros é de uma grandeza superior a área externa com áreas específicas de até $1.000 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ (McCABE et al., 2001).

Os adsorventes são desenvolvidos em função de sua utilização e podem ser encontrados na forma de pellets (granular), pós e/ou pequenas esferas (mais frequentes). Podem ser utilizados e posteriormente descartados ou, como acontece serem regenerados para novos ciclos de adsorção. Entre os vários

tipos de adsorventes temos: a sílica gel, o carvão ativado, zeólitas, resinas poliméricas e alumina ativada (ROUSSEAU, 1987).

Sílica gel:

É um adsorvente inorgânico formado por partículas porosas de sílica. Os adsorventes comerciais de sílica gel são mesoporosos, isto é, com poros maioritariamente que 20 Å. A sílica gel pode ser formada por duas vias: (1) polimerização de ácido silícico e (2) agregação de partículas de sílica coloidal. O ácido silícico, $\text{Si}(\text{OH})_4$, tem forte tendência a polimerizar e formar uma rede de siloxano (Si-O-Si), deixando um número mínimo de grupos Si-O-H não condensados (BRINKER, 1988). A segunda via envolve a coagulação de sois de sílica de tamanhos bastante uniformes. Essas partículas sub micrométricas podem coagular pelas forças de *van der Waals* ou por pontes de cátions como coagulantes. Comercialmente, a sílica é preparada através da primeira via misturando uma solução de silicato de sódio com um ácido mineral, tal como ácido sulfúrico ou clorídrico. A reação produz uma dispersão concentrada de partículas finamente divididas de SiO_2 hidratado, conhecido como hidrosol de sílica ou ácido silícico:



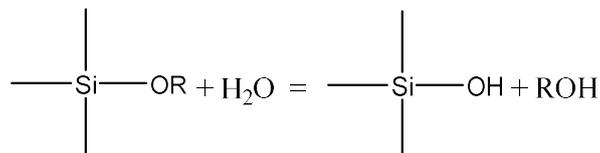
O hidrosol, polimeriza em um precipitado gelatinoso branco, que é sílica gel. Dois tipos comuns de sílica gel são conhecidos como géis de sílica de baixa densidade, embora tenham as mesmas densidades. O gel de densidade regular tem uma área de superfície de $750\text{-}850 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ um diâmetro médio dos poros de $22\text{-}26 \text{ \AA}$, enquanto os respectivos valores para o gel de baixa densidade são de $300\text{-}350 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e diâmetro médio dos poros de $100\text{-}150 \text{ \AA}$ (YANG, 2003).

A sílica gel é amorfa, sua estrutura amorfa é composta de pequenas partículas globulares (primárias) com tamanhos de 10 a 20 Å (ROUQUEROL et al., 1999). Outra via para a obtenção da sílica gel envolve reações de alcóxidos de silício com água, e uma grande variedade de materiais pode ser produzida desta maneira (BRINKER e SHERER, 1990). Os processos baseados nessa rota

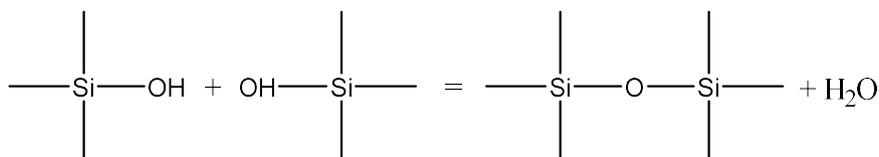
são chamados de processamento “solgel” e oferecem muitas possibilidades promissoras. Para sílica gel, a reação é



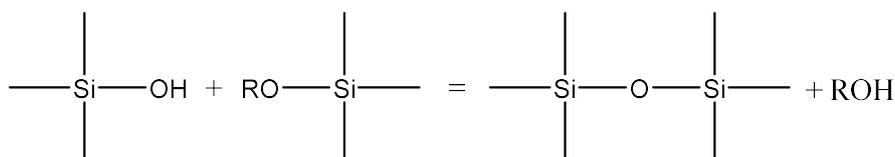
Os ácidos silícicos também são formados por hidrólise:



Os ácidos silícicos assim formados podem então polimerizar via:



ou



Os produtos de reação são polissilicatos de alto peso molecular (sol), que formam uma rede porosa 3-D preenchida com moléculas de solvente (um gel). A estrutura dos poros, bem como a química da superfície, pode ser adaptada na rota sol-gel. O valor do pH nos estágios iniciais é um fator principal no controle das dimensões dos poros. O pH baixo (por exemplo, pela adição de HCl) leva à microporosidade, enquanto o pH elevado (por exemplo, pela adição de hidróxido de amônio) resulta em mesoporosidade (BRINKER e SHERER, 1990).

A propriedade mais usada para sílica gel é como um dessecante, isto é, adsorvente para umidade. Essa qualidade deve-se às suas ligações relativamente fracas com a água, bem como ao seu grande volume de poros e mesoporosidade. A distribuição do tamanho de poros e as isotermas de água para a sílica gel, juntamente com outros adsorventes são apresentadas nas Figuras 2.7 e 2.8.

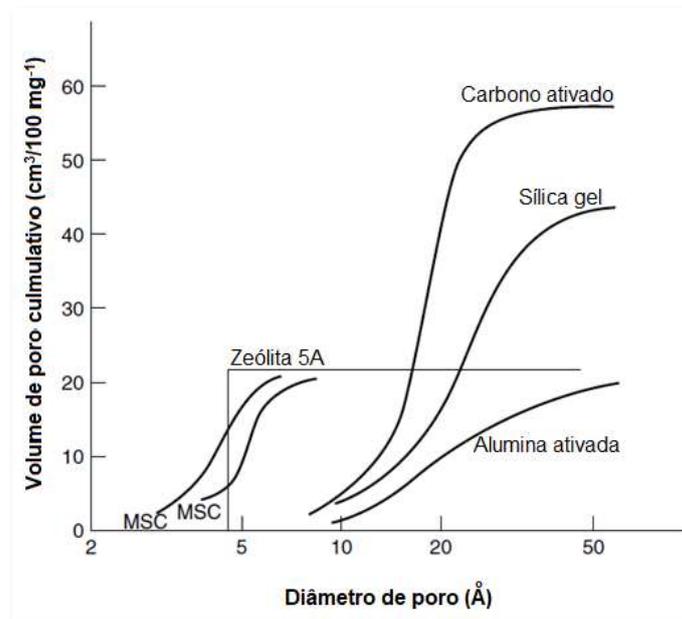


Figura 2.7. Distribuição do tamanho dos poros para diferentes adsorventes (Adaptado de YANG, 1997).

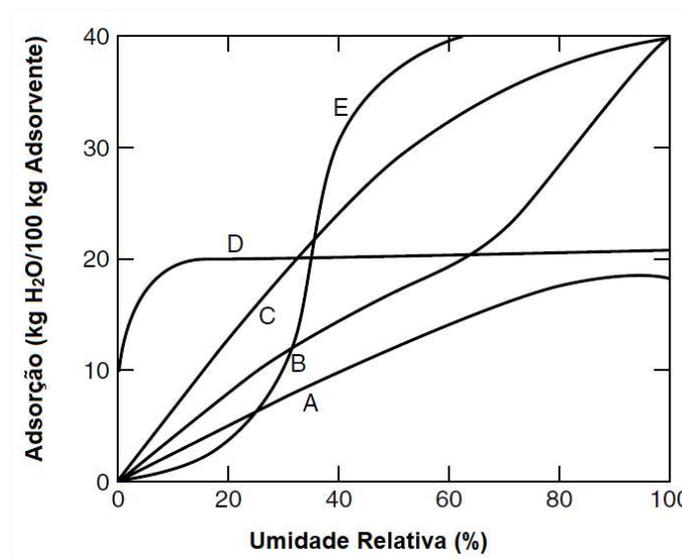


Figura 2.8. Sorção de equilíbrio do vapor de água do ar atmosférico a 25 °C em (A) alumina (granular); (B) alumina (esférica); (C) sílica gel; (D) zeólita 5A; (E) carvão ativado (pressão de vapor a 100% R.H. é de 23,6 Torr) (Adaptado de YANG, 1997).

A utilização da sílica gel como adsorvente também possui suas vantagens e desvantagens, como mostrado a seguir:

Vantagens:

- Alta capacidade de adsorção: A sílica gel é conhecida por sua alta capacidade de adsorção de umidade. Ela pode adsorver e reter eficientemente moléculas de água e outros compostos voláteis, ajudando a manter a secura e a estabilidade de produtos sensíveis à umidade.
- Facilidade de regeneração: A sílica gel pode ser facilmente regenerada por aquecimento para remover a umidade adsorvida e restaurar sua capacidade de adsorção original. Essa regeneração é um processo simples e econômico, permitindo o reuso da sílica gel em diversas aplicações.
- Amplas aplicações: A sílica gel é amplamente utilizada em muitos setores, como indústria farmacêutica, eletrônica, alimentos, embalagens, entre outros. Ela é aplicada para proteger produtos sensíveis à umidade, evitar a formação de condensação e prolongar a vida útil dos produtos.
- Segurança: A sílica gel é um material não tóxico e seguro para uso em contato com alimentos e produtos farmacêuticos. Ela não apresenta riscos significativos à saúde humana ou ao meio ambiente.

Desvantagens:

- Seletividade limitada: A sílica gel não é seletiva em termos de adsorção de moléculas específicas. Ela tem uma afinidade pela umidade, mas não discrimina entre diferentes compostos voláteis. Isso significa que ela pode adsorver uma ampla gama de substâncias, o que pode ser uma desvantagem em certas aplicações.
- Sensibilidade a altas umidades: A sílica gel pode atingir sua capacidade de adsorção máxima em ambientes de alta umidade. Nesses casos, sua eficácia pode ser limitada e pode ser necessário substituir ou regenerar a sílica gel com mais frequência.
- Fragilidade: A sílica gel é um material frágil e pode quebrar facilmente se for manuseada de maneira brusca. Portanto, é necessário cuidado ao manusear e embalar a sílica gel para evitar danos e garantir sua eficácia.

- Custo: Dependendo do volume e da qualidade necessários, a sílica gel pode ser relativamente cara em comparação com outros adsorventes disponíveis no mercado. Isso pode afetar a viabilidade econômica de sua utilização em determinadas aplicações.

Carvão Ativado

É um adsorvente de origem vegetal ou mineral é amplamente utilizado em aplicações como purificação de água, remoção de impurezas em processos industriais, tratamento de efluentes, entre outros. Tem uma área superficial muito alta devido à sua estrutura porosa. Essa alta área superficial fornece uma grande quantidade de locais de adsorção, permitindo a adsorção eficiente de substâncias químicas.

O carvão ativado possui uma estrutura altamente porosa, consistindo em uma rede de poros microscópicos e mesoscópicos. Esses poros podem ser classificados em três tipos principais: poros macroporosos (com diâmetro acima de 50 nm), mesoporos (com diâmetro entre 2 e 50 nm) e microporos (com diâmetro abaixo de 2 nm) (THOMMES et al., 2015). A presença desses poros confere ao carvão ativado uma capacidade de adsorção excepcionalmente alta. O carvão ativado possui a capacidade de adsorver uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Ele pode adsorver moléculas através de forças de *Van der Waals*, ligações dipolo-dipolo, interações eletrostáticas e outros mecanismos (HAMAKER, 1937).

O carvão ativado é hidrofóbico, o que significa que ele repele a água e é mais propenso a adsorver compostos orgânicos hidrofóbicos. Uma das vantagens do carvão ativado é sua capacidade de regeneração. Após a adsorção de substâncias, o carvão ativado pode ser regenerado por meio de processos térmicos, como a queima a altas temperaturas, o que permite a reutilização do adsorvente.

O carvão ativado pode exibir certa seletividade em relação às substâncias que adsorve, dependendo de sua estrutura e das propriedades das moléculas adsorvidas. Essa seletividade pode ser ajustada por meio de tratamentos químicos e modificação da superfície do carvão ativado. O carvão

ativado é um adsorvente amplamente utilizado devido às suas propriedades únicas. No entanto, assim como qualquer material, ele possui vantagens e desvantagens. Vamos explorar algumas delas:

Vantagens:

- **Alta capacidade de adsorção:** O carvão ativado possui uma grande área superficial e uma estrutura porosa que lhe confere uma alta capacidade de adsorção. Ele é eficaz na remoção de uma ampla variedade de compostos indesejados, como substâncias orgânicas, metais pesados, produtos químicos, toxinas e odores.

- **Seletividade:** O carvão ativado pode ser produzido em diferentes graus de atividade e granulometria, permitindo ajustar suas propriedades para adsorver seletivamente determinados compostos. Isso o torna adequado para uma variedade de aplicações, como purificação de água potável, remoção de cloro residual em tratamento de água, adsorção de poluentes atmosféricos e remoção de impurezas em processos industriais.

- **Versatilidade:** O carvão ativado tem uma ampla gama de aplicações em diferentes setores, incluindo tratamento de água, indústria farmacêutica, processamento de alimentos, proteção respiratória, desodorização e recuperação de solventes. Sua versatilidade torna-o um adsorvente popular em diversas indústrias.

- **Regeneração:** O carvão ativado pode ser regenerado termicamente, permitindo a sua reutilização após a saturação com compostos adsorvidos. A regeneração térmica envolve aquecer o carvão ativado para remover os compostos adsorvidos, restaurando sua capacidade de adsorção original e prolongando sua vida útil.

Desvantagens:

- **Limitação na adsorção de íons e metais pesados:** O carvão ativado não é eficaz na remoção seletiva de íons e metais pesados. Em alguns casos, pode ser necessário combinar o carvão ativado com outros adsorventes específicos para atingir a remoção desejada.

- **Saturação:** Com o tempo, o carvão ativado pode se tornar saturado com os compostos adsorvidos, reduzindo sua capacidade de adsorção. Isso requer a substituição ou regeneração do carvão ativado para manter a eficácia do processo.
- **Requisitos de pré-tratamento:** Em certas aplicações, o carvão ativado pode exigir pré-tratamento da água ou do meio a ser tratado. Por exemplo, a remoção de partículas em suspensão ou substâncias oleosas antes da adsorção pelo carvão ativado pode ser necessária para evitar obstrução dos poros e redução da eficiência.
- **Custo:** O carvão ativado pode ser mais caro em comparação com outros adsorventes disponíveis no mercado. Seu custo pode variar dependendo do tipo, qualidade, granulometria e quantidade necessária para uma determinada aplicação.

Zeólitas:

As zeólitas são um tipo de mineral microporoso com uma estrutura cristalina especial. Elas são compostas principalmente por alumínio, silício e oxigênio, e podem conter outros elementos, como sódio, potássio e cálcio. A estrutura da zeólita forma uma rede tridimensional de cavidades e canais interconectados, que são capazes de adsorver e trocar íons e moléculas. Devido ao tamanho e à forma dos poros das zeólitas, elas podem seletivamente adsorver moléculas de diferentes tamanhos e formas. Isso ocorre devido à presença de janelas de tamanho limitado, que permitem apenas a passagem de moléculas com dimensões adequadas para se encaixar nos poros da zeólita.

Existem muitos tipos diferentes de zeólitas, cada uma com sua própria estrutura e propriedades únicas. Abaixo estão alguns dos tipos mais comuns de zeólitas:

- **Zeólita tipo A:** Também conhecida como zeólita de aluminossilicato de sódio, possui uma estrutura porosa com cavidades e canais de tamanho uniforme. É amplamente utilizada na adsorção de umidade, purificação de gases e remoção de compostos orgânicos voláteis.

- Zeólita tipo X: Também chamada de zeólita de faujasita, tem uma estrutura porosa de grandes cavidades e canais. É adequada para a adsorção de moléculas maiores e é utilizada em aplicações como purificação de gases, separação molecular e catálise.

- Zeólita tipo Y: Similar à zeólita tipo X, possui uma estrutura porosa de grandes cavidades e canais, mas com uma maior densidade de alumínio. É usada em aplicações como adsorção de compostos orgânicos, purificação de petróleo e gás natural, e craqueamento catalítico.

- Zeólita ZSM-5: Possui uma estrutura porosa com canais mais estreitos em comparação com outras zeólitas. É conhecida por sua seletividade e é amplamente utilizada em processos de conversão de biomassa em biocombustíveis, além de outras aplicações como catálise e adsorção de compostos orgânicos.

- Zeólita Mordenita: Possui uma estrutura porosa de canais reticulados. É utilizada na adsorção de moléculas polares, como água e amônia, além de ser usada em processos de craqueamento catalítico e na produção de detergentes.

- Zeólita ZSM-11: Tem uma estrutura porosa semelhante à zeólita ZSM-5, mas com canais mais largos. É usada principalmente na adsorção e separação de compostos orgânicos, bem como em processos de craqueamento catalítico.

As zeólitas são amplamente utilizadas como adsorventes devido à sua capacidade de adsorver seletivamente moléculas e íons. Sua estrutura porosa e propriedades de troca iônica permitem que elas adsorvam substâncias indesejadas, purificando gases, líquidos e soluções. Além disso, as zeólitas podem ser modificadas para aumentar sua capacidade de adsorção e seletividade.

As zeólitas têm diversas aplicações devido às suas propriedades de adsorção, catálise e troca iônica. Algumas das principais áreas de aplicação incluem:

- Purificação de água: As zeólitas são usadas para remover contaminantes da água, como íons metálicos, amônia e compostos orgânicos.

- Tratamento de efluentes: As zeólitas podem ser usadas para purificar efluentes industriais, removendo substâncias tóxicas e poluentes antes de serem descarregados no meio ambiente.
- Separação de gases: Devido à sua seletividade de adsorção, as zeólitas são usadas na separação de gases, como na remoção de umidade de ar comprimido ou na separação de gases do petróleo e gás natural.
- Catálise química: As zeólitas são amplamente utilizadas como catalisadores em reações químicas industriais. Elas podem acelerar reações químicas específicas, aumentando a taxa de conversão e seletividade de produtos.
- Armazenamento de gases e adsorção de moléculas: As zeólitas podem ser usadas para armazenar gases, como hidrogênio, ou para adsorver moléculas orgânicas, como na adsorção de compostos odoríferos em produtos de higiene.
- Refino de petróleo: As zeólitas são usadas na indústria de petróleo para catalisar reações de craqueamento, convertendo moléculas de hidrocarbonetos de cadeia longa em frações de gasolina e diesel.

A utilização de zeólitas como adsorventes apresenta várias vantagens e desvantagens, como mostrado a seguir:

Vantagens:

- Alta capacidade de adsorção: As zeólitas têm uma estrutura porosa única que lhes confere uma grande capacidade de adsorção de substâncias indesejadas, como gases, íons e compostos orgânicos. Elas podem reter eficientemente essas substâncias em sua estrutura interna.
- Seletividade de adsorção: As zeólitas têm a capacidade de adsorver seletivamente moléculas com base em seus tamanhos e formas. Isso significa que podem ser projetadas e selecionadas zeólitas com especificidades de adsorção para diferentes aplicações, permitindo a remoção precisa de impurezas específicas.
- Regeneração e reutilização: Uma vantagem importante das zeólitas como adsorventes é a capacidade de regeneração. Após a adsorção, as zeólitas

podem ser aquecidas ou submetidas a outros processos para liberar as substâncias adsorvidas e restaurar sua capacidade de adsorção original. Isso permite sua reutilização em ciclos de adsorção.

- **Amplas aplicações:** As zeólitas são versáteis e encontram aplicação em diversos setores, como purificação de água, tratamento de efluentes, separação de gases, catálise química, refino de petróleo, entre outros. Sua capacidade de adsorção seletiva torna-as adequadas para uma variedade de processos.

Desvantagens:

- **Limitação de tamanho e forma:** A seletividade de adsorção das zeólitas, embora seja uma vantagem, também pode ser uma desvantagem em certos casos. A estrutura porosa restrita das zeólitas pode limitar a adsorção de moléculas maiores ou com formas específicas que não se encaixam adequadamente nos poros.

- **Saturação:** Com o tempo, as zeólitas podem se tornar saturadas com as substâncias adsorvidas, reduzindo sua capacidade de adsorção. Isso pode exigir processos de regeneração ou substituição das zeólitas saturadas.

- **Sensibilidade a condições adversas:** Algumas zeólitas são sensíveis a condições extremas, como altas temperaturas ou ambientes ácidos ou alcalinos. Essas condições podem alterar sua estrutura e, conseqüentemente, reduzir sua capacidade de adsorção.

- **Custo:** Dependendo da aplicação e das necessidades específicas, as zeólitas podem ser relativamente caras em comparação com outros adsorventes disponíveis no mercado.

Resinas de troca iônica:

As resinas de troca iônica são materiais poliméricos com propriedades específicas para a remoção seletiva de íons de soluções líquidas. Elas consistem em partículas sólidas com grupos funcionais quimicamente ligados que têm afinidade por íons específicos. As resinas de troca iônica são amplamente

utilizadas em processos de purificação, desmineralização, desionização e tratamento de água.

Vantagens:

- Remoção seletiva de íons: As resinas de troca iônica são altamente seletivas, permitindo a remoção específica de íons indesejados de uma solução líquida. Elas podem ser projetadas para atender às necessidades específicas de diferentes aplicações, removendo íons indesejados e mantendo aqueles que são desejáveis.

- Regeneração: As resinas de troca iônica podem ser regeneradas, o que significa que, após a remoção dos íons adsorvidos, elas podem ser tratadas com soluções adequadas para liberar os íons retidos e restaurar sua capacidade de troca iônica. Isso permite a reutilização das resinas, tornando-as economicamente viáveis a longo prazo.

- Alta capacidade de troca: As resinas de troca iônica possuem uma alta capacidade de adsorção e troca iônica, permitindo a remoção eficiente de íons em concentrações elevadas. Isso reduz a frequência necessária de regeneração ou substituição das resinas.

- Versatilidade: As resinas de troca iônica são versáteis e podem ser usadas em diversas aplicações, como tratamento de água potável, purificação de água de caldeiras, remoção de íons metálicos em processos industriais, produção de água ultrapura para a indústria eletrônica, entre outros.

Desvantagens:

- Limitações de pH e temperatura: Algumas resinas de troca iônica têm limitações de pH e temperatura. Exposição a condições extremas pode levar à degradação ou perda de eficiência das resinas. Portanto, é importante selecionar resinas apropriadas para as condições de operação específicas.

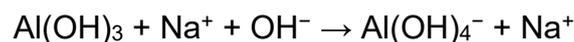
- Possível competição iônica: Em soluções que contêm múltiplos íons, pode ocorrer competição iônica na resina de troca iônica. Isso pode resultar na adsorção preferencial de alguns íons e a liberação de outros íons na solução.

- **Custo inicial e de regeneração:** As resinas de troca iônica podem ter um custo inicial relativamente alto, especialmente para aplicações de alto volume. Além disso, o processo de regeneração das resinas pode envolver custos adicionais, como produtos químicos, água e energia.
- **Possíveis efeitos secundários:** Em alguns casos, a troca iônica pode afetar a composição química da solução, resultando em possíveis efeitos secundários indesejáveis. Isso pode exigir um monitoramento cuidadoso e ajustes nas etapas subsequentes do processo.

Alumina ativada:

É um adsorvente inorgânico formado por partículas porosas de alumina. Comercialmente, a alumina é extraída da bauxita usando o processo Bayer (1888), como é conhecido, é o principal e o mais econômico método para produção de alumina e alumínio, a partir de bauxitas gibbsíticas. Neste processo, a digestão da bauxita é realizada em soda cáustica na temperatura de 300 °C até a dissolução do alumínio, onde ocorre a separação de Fe₂O₃, TiO₂, SiO₂ e outros resíduos insolúveis (lama vermelha). Após a separação do resíduo (clarificação), o alumínio é precipitado pela mudança do pH da solução (resfriamento), pela passagem de CO₂, é removido e lavado antes de ser submetido à calcinação, onde é convertido à alumina (GRJOTHEIM e WELCH, 1988). O processo da Bayer a partir de bauxitas gibbsíticas, pode ser considerado em três etapas (HUDSON, 1987):

1. **Extração:** Os minerais portadores de alumínio na bauxita são seletivamente extraídos dos componentes insolúveis dissolvendo-os em uma solução de hidróxido de sódio.



2. **Precipitação:** O tri hidróxido de alumínio cristalino é precipitado. Este é o contrário do processo de extração, exceto as químicas são bem controladas.



3. Calcinação: O tri hidróxido de alumínio é calcinado para formar alumina. A água é expelida para formar alumina. Esse processo determina as propriedades do produto final.



Alumina existe em muitas fases cristalinas: α (alfa), δ (delta), κ (capa), γ (gama), η (eta), θ (teta), ρ (rô) e χ (qui), denominadas de aluminas de transição, dependendo das condições de tratamento térmico (MISRA, 1986). Os tratamentos térmicos em temperaturas abaixo de 600 °C produzem as chamadas aluminas de transição (grupo γ), que incluem as formas de aluminas - η , - χ , - ρ e - γ , entre outras, dependendo do precursor da temperatura (WEFERS e MISRA, 1987).

O tri-hidrato ($\text{Al}(\text{OH})_3$) na forma de gibbsita, é aquecido ou ativado no ar a ~400 °C para formar γ/η -alumina cristalina com uma quantidade menor de boemita e tem uma área superficial de ~250 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$. Alternativamente, o $\text{Al}(\text{OH})_3$ é aquecido muito rapidamente a 400-800 °C para formar uma alumina amorfa com uma área superficial maior (300-350 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$). A principal impureza nesses produtos, além da água (normalmente 6%), é o Na_2O em quase 1% (YANG, 1997). As aluminas obtidas a altas temperaturas (800-1000 °C) são praticamente anidra. Estas formas são rotuladas como as pertencentes ao grupo δ , que incluem as formas de aluminas - κ , - θ e - δ , sendo esta forma melhor ordenada (MISRA, 1986).

A transformação da fase cristalina da alumina, como exemplo, a gibbsita e bayerita são trihidróxidos, $\text{Al}(\text{OH})_3$, ou $\text{Al}_2\text{O}_3.3\text{H}_2\text{O}$ depende da atmosfera gasosa, bem como de outras condições. A boemita e diásporo são AlOOH , formas naturais de hidróxidos com estruturas cristalinas bem definidas que após o tratamento térmico, se transformam em diferentes formas de alumina, entre as aluminas (Figura 2.9), a γ -aluminina é a forma mais comumente usada tanto para adsorção quanto para catálise (WEFERS e BELL, 1972).

O uso da alumina ativada encontra-se no campo da adsorção, devido suas características: físicas, grande área superficial, estrutura porosa e sua capacidade de ser inerte. Outra característica da alumina é em relação ao seu

comportamento anfótero, possuem cargas positivas abaixo de seu ponto isoelétrico e negativo acima dele (FLEMING, 1990). A alumina ativada tem propriedades semelhantes à sílica gel, fisicamente mais robusta. Ela compete com sílica gel em aplicações de secagem (Figura 2.10), embora sua capacidade seja um pouco menor em pressões de vapor d'água maiores que 1 mm Hg (HUMPHREY e KELLER, 1997).

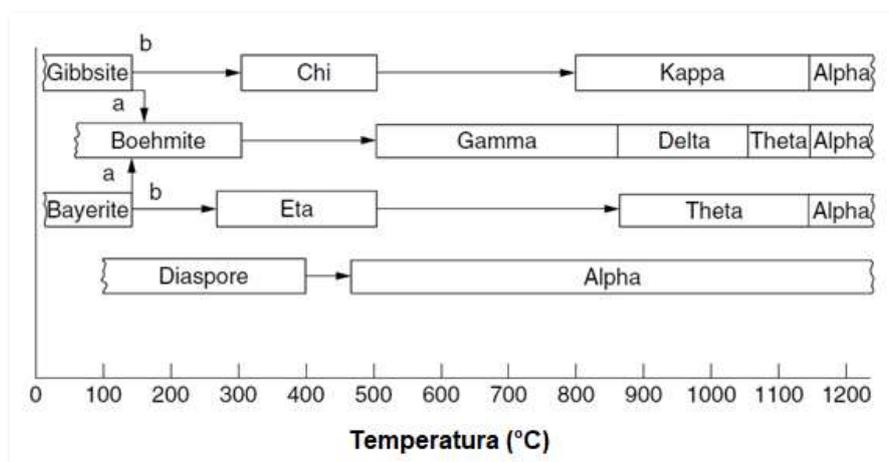


Figura 2.9. Decomposição do hidróxido de alumínio e transformação cristalina da alumina. Caminho a: > 1 atm, ar úmido, taxa de aquecimento > 1 °C.min⁻¹, > tamanho 100 µm. Caminho b: 1 ar seco, < 1 °C.min⁻¹, < 10 µm (Adaptado de WEFERS e BELL, 1972).

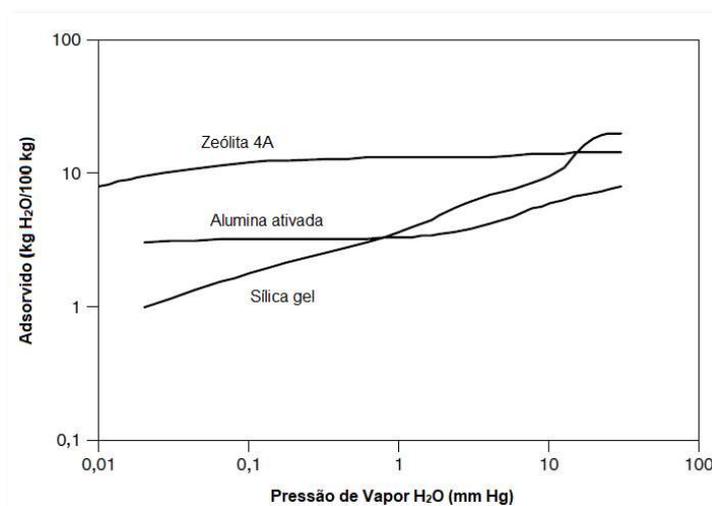


Figura 2.10. Comparação da adsorção de água com vários adsorventes (Adaptado de HUMPHREY e KELLER, 1997).

Os íons Al^{3+} e O^{2-} podem ser apresentados em diferentes rearranjos estruturais e desse modo, pelo menos cinco formas de ordenamento das hidroxilas têm sido identificadas. Esses íons podem ser coordenados de modo tetraédricos ou octaédricos em sistemas cúbicos ou hexagonais fechados. Por exemplo, a alumina- γ , a forma mais conhecida, tem imperfeição na ligação estrutural na qual os oxigênios estão na forma cúbica. A rede estrutural interna do oxigênio é quase bem ordenada, entretanto há desordenamento significativo na rede estrutural interna tetraédrica do alumínio (WOOSLEY, 1990).

A proporção de diferentes formas de hidroxilas e o número total de hidroxilas podem ser manipulados pelo tratamento térmico; maiores temperaturas de tratamento reduzem o número de hidroxilas via mecanismo de desidroxilação. Tais manipulações alteram a proporção dos sítios ácidos de Lewis e Brønsted (WOOSLEY, 1990).

As aluminas ativadas podem ser consideradas como possuidoras de sítios ácidos e básicos de Lewis e Brønsted, com forças e concentrações variadas. A acidez é contribuição das ligações dos íons Al^{3+} , hidroxilas protonadas e algumas hidroxilas ácidas. A basicidade é resultado dos vazios dos ânions O^{2-} e hidroxilas básicas (WOOSLEY, 1990).

As modificações seguem princípios gerais simples da química de superfície, dois métodos são usados: (1) variação do processo de ativação e (2) uso de dopantes. As seguintes são aplicações comprovadas de várias aluminas sob medida:

- Remoção de HCl e HF de gases e líquidos;
- Remoção de gases ácidos (COS , CO_2 , H_2S , C_2) de hidrocarbonetos;
- Remoção de oxigenados e bases de Lewis;
- Remoção de compostos orgânicos polares;
- Remoção de As^{5+} , PO_4^{3-} , Cl^- e F^- da água;
- Limpador para líquidos de processo orgânico;
- Alumina alcalinizada para remoção de SO_2 .

A alumina ativada é amplamente utilizada como adsorvente em diversas aplicações industriais. Ela possui vantagens e desvantagens específicas, como por exemplo:

Vantagem:

- Alta capacidade de adsorção: A alumina ativada possui uma alta capacidade de adsorção, especialmente para compostos polares. Ela é eficaz na remoção de contaminantes como água, dióxido de carbono, óleos e compostos orgânicos voláteis.
- Versatilidade: A alumina ativada pode ser usada em uma ampla variedade de aplicações, incluindo purificação de ar e gases, tratamento de água, remoção de impurezas em processos químicos e petroquímicos, bem como na indústria farmacêutica.
- Regeneração: A alumina ativada é regenerável, o que permite sua reutilização em ciclos de adsorção. Ela pode ser regenerada por aquecimento ou por outros métodos, liberando os contaminantes adsorvidos e restaurando sua capacidade de adsorção original.
- Longa vida útil: A alumina ativada é um adsorvente durável, com uma vida útil relativamente longa quando utilizada adequadamente. Sua estabilidade química e mecânica permite seu uso prolongado antes da necessidade de substituição.

Desvantagem:

- Baixa seletividade: Uma desvantagem da alumina ativada é sua baixa seletividade de adsorção. Ela tende a adsorver uma ampla variedade de compostos, o que pode levar à remoção de substâncias desejáveis, juntamente com as impurezas alvo. Em algumas aplicações específicas, isso pode ser um inconveniente.
- Sensibilidade à umidade: A alumina ativada é sensível à umidade, e seu desempenho de adsorção pode ser afetado em ambientes com alta umidade. A presença de água pode reduzir sua capacidade de adsorção e exigir regenerações mais frequentes.
- Custos: Dependendo da qualidade e das especificações necessárias, a alumina ativada pode ter um custo relativamente alto. Isso pode influenciar sua viabilidade econômica em determinadas aplicações, especialmente quando comparada a outros adsorventes disponíveis.

2.4 ALELOPATIA E FITOPATÓGENOS

2.4.1 Alelopatia, Importância na Agricultura

O termo alelopatia foi cunhado pelo pesquisador alemão Hans Molisch (1937) e significa do grego *allelon* = mútuo, *pathos* = prejuízos. Alelopatia, definida por Rice (1984) é, “qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente”.

Segundo Torres et al. (1996), atividade alelopática adotada pela *Sociedade Internacional de Alelopatia* (IAS, 1996), é definida como um “qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, microrganismos, vírus e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de Sistemas Agrícolas e Biológicos”.

Os aleloquímicos alteram o crescimento e o desenvolvimento de plantas pela multiplicidade de ações sobre os processos fisiológicos. Há centenas de diferentes estruturas e muitos dos compostos químicos apresentam vários efeitos fito tóxicos (EINHELLIG, 1995).

O modelo de ação dos aleloquímicos pode, amplamente, ser dividido em ações diretas e indiretas. As ações indiretas podem incluir efeitos que promovem alterações nas propriedades do solo, sua situação nutricional, bem como, alterações na população e ou atividade de microrganismos, insetos, nematóides e outras. O modelo de ação direta envolve os efeitos dos aleloquímicos sobre vários aspectos do metabolismo e desenvolvimento das plantas (SOUZA FILHO e ALVES, 2002).

Alguns dos efeitos específicos incluem modificação na estrutura e no transporte das membranas, alterações das características da morfologia celular, interferência no ciclo celular (replicação, síntese de proteínas, mitose, mecanismos celulares), modificação da atividade de fito hormônios, perturbação do metabolismo energético (respiração e fotossíntese), problemas no balanço de água e na função dos estômatos, inibição de síntese de pigmentos e bloqueio da função de numerosas enzimas (EINHELLIG, 1995).

No âmbito da ecologia, o fenômeno da alelopatia pode explicar os mecanismos da sucessão vegetal, onde espécies invasoras podem excluir espécies nativas a partir de resíduos e substâncias liberados para o ambiente (HIERRO e CALLAWAY, 2003). Neste caso, a atividade dos aleloquímicos é apenas inibitória e pouco relacionada com a competição por recursos abióticos (CALLAWAY, 2002).

A presença dessas espécies numa área de plantio pode apresentar significativa influência no desenvolvimento de culturas, como também, no padrão natural de formação e sucessão das populações e comunidades vegetais (BATISH et al., 2001). As espécies possuidoras dessas propriedades são conhecidas por prejudicarem suas populações no espaço e no tempo. Entre as muitas espécies que possuem essas características de auto toxicidade, destacam-se: alfafa (*Medicago sativa*), arroz (*Oryza sativa*) e outras (SOUZA FILHO et al., 2002).

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino comercial do mundo, com 212.366.132 milhões de cabeças, um aumento de 0,3% em relação a 2013. O Centro-Oeste apresentou o maior número de cabeças entre as grandes regiões (33,5%). Entre 2013 e 2014, houve crescimento do efetivo nas regiões Norte (2,5%), Nordeste (1,4%) e Centro-Oeste (0,2%), e reduções nas regiões Sudeste (-2,1%) e Sul (-0,8%) (IBGE, 2014).

No ano de 2014, as exportações de carne bovina foram 1.545.047, representando um rendimento de US\$ 7.148.919.141 milhões (IBGE, 2014). Em geral a produção pecuária brasileira, seja ela de corte ou de leite, tem as pastagens como base de sustentação (ZANINE et al., 2007).

As pastagens representam fonte de alimento de menor custo, eficiente energeticamente e está de acordo com a demanda da sociedade, que exige que a qualidade e o modo de produção da carne e do leite atendam às exigências de preservação dos recursos ambientais e de sustentabilidade dos sistemas de produção (CASALI et al., 2009).

Um dos problemas enfrentados pelo setor agrícola é a degradação das pastagens, que é classificado em três estágios. No primeiro estágio, a espécie mais consumida pelos animais, sob o estresse do pastejo pesado, ou sob outro fator qualquer, perde vigor, e reduz o seu crescimento. No segundo estágio, a

forrageira mais consumida começa a desaparecer e outras forrageiras menos apreciadas pelos animais iniciam o domínio da área. No terceiro estágio, ocorre a invasão da pastagem por espécies de plantas invasoras. Este estágio ocorre junto ao segundo ou inicia logo após. Nestes três estágios ocorrem prejuízos na composição e na disponibilidade de forragem produzida na pastagem (CARVALHO, 1997).

A degradação das pastagens, provocado pelo manejo inadequado e pela infestação de plantas daninhas, que ao competir pelos fatores de crescimento, promovem a queda da capacidade de suporte da pastagem, aumentam o tempo de formação e de recuperação do pasto, podem causar ferimentos e/ou intoxicação aos animais e comprometem a estética da propriedade (ZANINE et al., 2007).

Tradicionalmente, o controle de plantas daninhas em áreas de pastagens cultivadas, tem sido realizado pelo uso do fogo, da roçagem e pelo emprego de produtos químicos (herbicidas sintéticos). O uso de produtos químicos, tem levantado questões de ordem ambiental provocados pela contaminação dos recursos naturais, dos alimentos que compõem a dieta dos animais silvestres e a do próprio homem. Nesse conjunto de circunstâncias, a investigação de propriedades alelopáticas em espécies da Amazônia, detentora de uma rica biodiversidade pode representar uma oportunidade para equacionar esses problemas (SOUZA FILHO et al., 2005).

2.4.2 Fitopatógenos, Impacto Causado na Agricultura

Nos últimos anos, na retomada dos conceitos de saúde e com meio ambiente, iniciou-se busca por uma agricultura ecologicamente correta. Os metabólitos secundários, geralmente têm estruturas altamente complexas, que determinam sua atividade biológica. A utilização de plantas com fins medicinais, assim como seu emprego como pesticida na agricultura, são hábitos comuns na cultura popular de todo o mundo. Nos países emergentes essa prática é mais difundida, sendo que os pequenos agricultores utilizam plantas locais, que têm um baixo custo em relação aos produtos químicos convencionais (BALADRIN et al., 1985).

A busca por defensivos agrícolas naturais alternativos também tem sido intensificada. O uso indiscriminado e excessivo de agrotóxicos ao longo dos anos gera uma crescente resistência de pragas, microrganismos fitopatogênicos e ervas daninha aos produtos sintéticos, aumentando a dependência de insumos químicos por parte de produtores e impulsionando a indústria à descoberta e formulação de novos princípios ativos (COUTINHO, 1996).

Fatores socioeconômico, ambientais e decorrentes do aumento da resistência de pragas e doenças aos pesticidas convencionais têm constituído elementos de pressão para o incremento dos estudos para a definição de novos meios de controle dos agentes patogênicos, que sejam fortemente bioativos, bastante seletivos e ecologicamente de baixo impacto. Outro aspecto a ser considerado é a produção orgânica de alimentos que necessita de produtos naturais e extrato de plantas para o controle de doenças e de pragas agrícolas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

No Brasil, infecções causadas por patógenos “de solo” como *Fusarium solani*, f. sp. *phaseoli*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotium rolfsii* e *Rhizoctonia solani*, causam perdas de até 100% na produção de culturas susceptíveis, como o feijão e a batata, cultivadas no cerrado e outras regiões e são amplamente reconhecidas como um dos maiores desafios para a agricultura brasileira (NORONHA, 2008).

Segundo Maffia e Mizubuti (1999), cerca 70% das doenças de plantas cultivadas são causadas por fungos. A introdução de compostos sintéticos, exógenos no ecossistema, pode trazer consequências indesejáveis ao ambiente. Devido aos riscos causados ao meio ambiente e a saúde humana, estão sendo desenvolvidos métodos alternativos de controle, como no caso do uso de extratos brutos de plantas medicinais e/ou biologicamente ativas no controle de fitopatógenos (SALVATORI et al., 2003).

O efeito tóxico de plantas medicinais e/ou biologicamente ativas sobre fungos fitopatogênicos tem sido demonstrado na literatura, como no caso do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos, como o bálsamo de copaíba no controle de *Fusarium moniliforme* e *Alternaria* sp. (FAGAN et al., 2004).

No caso de fitopatógenos, alguns desses extratos são também úteis como antifúngicos, como por exemplo, alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), babosa (*Aloe vera* (L.) Burm. f.), mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), cardo santo (*Argemone mexicana* L.), pitanga (*Eugenia michelii* Lam.), erva cidreira (*Lippia Alba* (Mill.) N. E. Br.), poejo (*Mentha pulegium* L.), hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.), roma (*Punica granatum* L.), goiabeira vermelha (*Psidium guayava* var. pomifera), eucalipto lima (*Eucalyptus citriodora* Hook.), arruda (*Ruta graveolens* L.) e carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC.), tem sido utilizada para estudos, *in vitro*, de inibição de crescimento micelial e esporulação de fungos fitopatogênicos (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora* sp. e *C. graminicola*) e em bioensaios para a indução de fitoalexinas em sorgo (deoxiantocianidinas) e soja (gliceolina), as plantas testadas demonstram eficiência para esse tipo de controle (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 3.1 ilustra as etapas experimentais realizadas para o desenvolvimento deste trabalho.

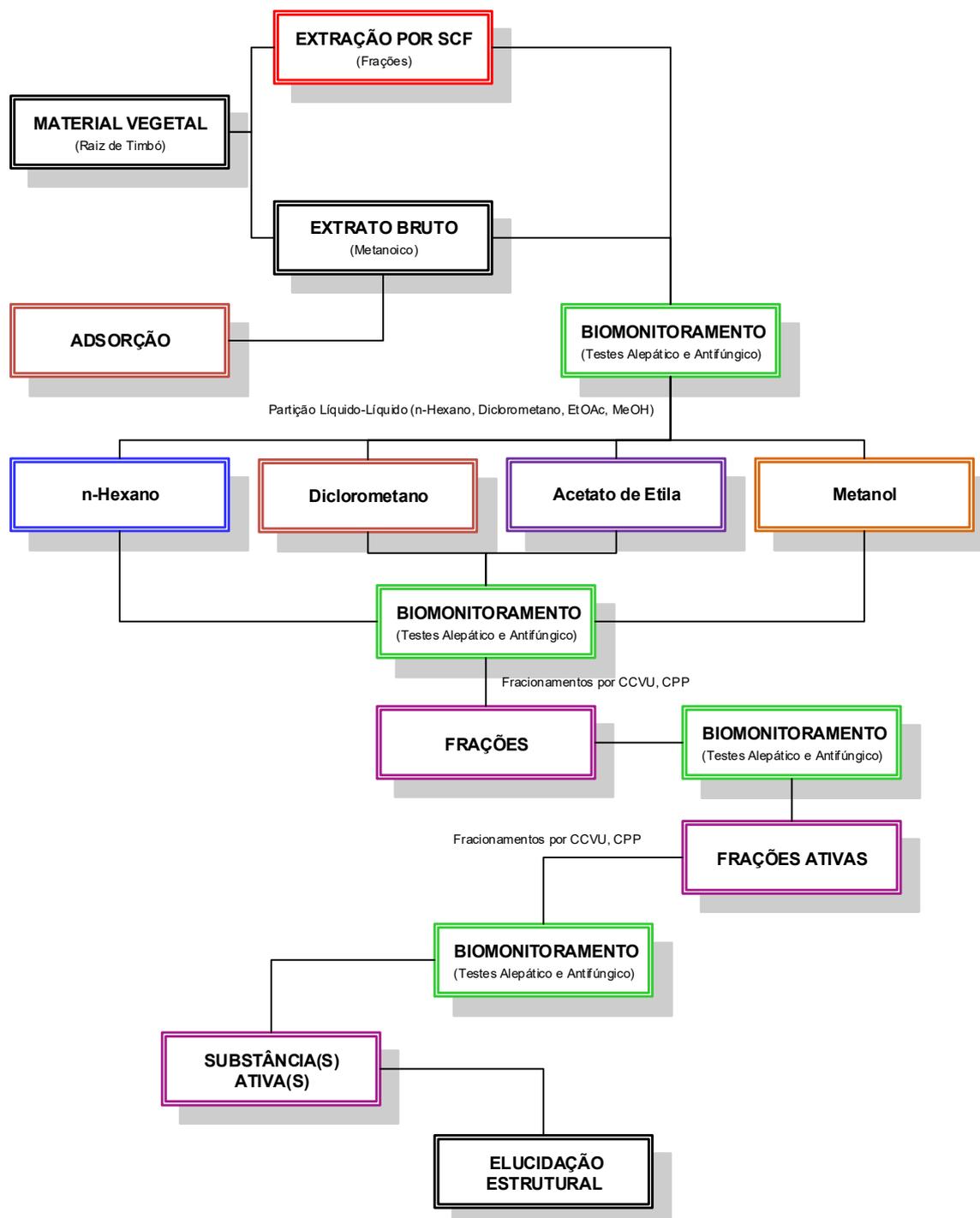


Figura 11. Fluxograma simplificado das etapas realizadas para o desenvolvimento deste trabalho.

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Matéria-Prima

O material vegetal do Timbó (raiz, 10 kg *in natura*) foi coletado manualmente no Banco Ativo de Germoplasma Timbó da Embrapa Amazônia Oriental (01°25'45" S e 48°24'09" W, a 22 m de altitude), em maio de 2012. A identificação botânica foi realizada no Herbário do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Embrapa Amazônia Oriental (IAN), conforme Laudo de identificação (ANEXO I).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Tratamento da Matéria-Prima

A preparação da amostra (raízes do Timbó) consistiu em lavagem com água corrente para a retirada dos resíduos da coleta e outras impurezas. Secagem ambiente ($T \approx 28,5 \text{ }^\circ\text{C}$) em meio absorvente para a remoção do excesso de umidade durante 24 h. Após este período, a amostra foi submetida a secagem em estufa com circulação de ar (MARCONI, Modelo MA-035) a $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, até peso constante.

3.2.2 Caracterização da Matéria-Prima

3.2.2.1 Moagem

O material vegetal seco (raiz, 4,0 kg) foi triturado em moinho de facas (WILLEY, Modelo WLS-3004), em seguida, acondicionado em sacos plásticos para posterior utilização na preparação dos extratos.

3.2.2.2 Distribuição do tamanho da partícula

A distribuição granulométrica do material seco e moído (raiz) foi realizada em um agitador magnético de peneiras (BERTEL, Modelo 1868), durante 30 minutos com agitação de 15 rpm, tendo sido utilizadas peneiras da série padrão Tyler de 8, 10, 14, 28 e 48 mesh (MENTOR, Modelo RX-29-10). Os

ensaios foram realizados em triplicata. O cálculo da percentagem retida foi obtido pela Equação 3.1.

$$\text{Massa Retida } [\%] = \left(\frac{D_{48}}{D_8 + D_{10} + D_{14} + D_{28} + D_{48}} \right) \cdot 100 \quad (3.1)$$

Onde D_8 , D_{10} , D_{14} , D_{28} e D_{48} , correspondem a abertura das peneiras (mm).

Diâmetro Médio da Partícula

O diâmetro médio da partícula (Equação 3.2) foi determinado de acordo com a metodologia do diâmetro médio de Sauter (FIORI et al., 2008).

$$d_m = \frac{\sum_{i=1}^n (m_i \cdot d_i^3)}{\sum_{i=1}^n (m_i \cdot d_i^2)} \quad (3.2)$$

Onde d_m é o diâmetro médio (mm), m_i é a massa retida na i -ésima peneira (g) e d_i é a abertura nominal da i -ésima peneira (mm). Em todas as extrações, foram utilizadas partículas de diâmetro 24 mesh.

O diâmetro médio geométrico da partícula (Equação 3.3) foi determinado de acordo com o método ASAE S319.3 (ASAE Standards, 1998).

$$d_g = \log^{-1} \left[\frac{\sum_{i=1}^n (W_i \cdot \log \bar{d}_i)}{\sum_{i=1}^n W_i} \right] \quad (3.3)$$

Onde \bar{d}_i ($\bar{d}_i = (d_i \cdot d_{i+1})^{0.5}$) é a abertura nominal da i -ésima peneira (mm); d_{i+1} é a abertura nominal da peneira maior que a i -ésima peneira (mm); W_i é a massa do material retido na i -ésima peneira (g).

3.2.2.3 Densidades real (ρ_r), aparente (ρ_a) e porosidade (ε)

A densidade real das partículas (ρ_r) foi determinada por picnometria com gás hélio. A densidade aparente (ρ_a) do leito foi calculada usando a massa de alimentação (F) e o volume do leito (VB). A porosidade (leito + partículas) foi calculada com as densidades aparente e real (Equação 3.4).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (3.4)$$

3.2.2.4 Umidade

O método utilizado foi o de secagem em estufa ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), baseado na remoção da água por aquecimento (AOAC, 1997). As amostras (5,0 g) foram colocadas em bandejas de alumínio ($d = 12\text{ cm}$), previamente pesadas, e deixadas em estufa (FABBE, Modelo 119) durante 24 h. Após resfriamento à temperatura ambiente, as bandejas foram colocadas em um dessecador, tendo sua massa novamente determinada. Este procedimento foi realizado em triplicata.

3.2.3 Processos de Obtenção dos Extratos Vegetais

Para comparar o rendimento e a composição química da raiz do Timbó, foram utilizados três processos de extração: percolação a frio, por extrator tipo Soxhlet e por fluido supercrítico (CO_2).

3.2.3.1 Extração por percolação a frio

As extrações foram realizadas em um percolador de aço inox (5 L), contendo 500 g do material vegetal e metanol (4 L, P.A, Nuclear, Brasil). O tempo de retenção do solvente no percolador foi de 96 horas à temperatura ambiente ($\approx 28\text{ }^{\circ}\text{C}$), sendo denominado EBP, a relação soluto-solvente utilizada foi de 1:6 (m/m).

O solvente foi removido em evaporador rotativo (HEIDOLPH, Modelo Laborota 4000), a pressão reduzida na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ até, aproximadamente, 1/5 do seu volume. O extrato foi transferido para frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer doméstico (Eletrolux, Modelo Cooler H-300) a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.2.3.2 Extração por Soxhlet

A extração foi realizada em um extrator tipo Soxhlet (500 mL), contendo material vegetal (50 g) e metanol (400 mL, P.A, Nuclear, Brasil). A temperatura do sistema foi ajustada para $65\text{ }^{\circ}\text{C}$. O tempo de extração foi 12 horas, sendo denominado EBS, a relação soluto-solvente utilizada foi de 1:6 (m/m).

O solvente foi removido em evaporador rotativo (HEIDOLPH, Modelo Laborota 4000), a pressão reduzida na temperatura de 50 °C até, aproximadamente, 1/5 do seu volume. O extrato foi transferido para um frasco de vidro âmbar e armazenado em freezer doméstico (Eletrolux, Modelo Cooler H-300) a -10 °C. Os rendimentos dos extratos foram calculados pela razão entre a massa de extrato seco em relação à massa da amostra seca.

3.2.3.3 Extração com dióxido de carbono supercrítico

Os experimentos foram feitos na Planta Piloto de Extração Supercrítica do Laboratório de Operações de Separação da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal do Pará (LAOS/FEQ/UFPa). A representação esquemática do sistema é apresentada na Figura 3.2.

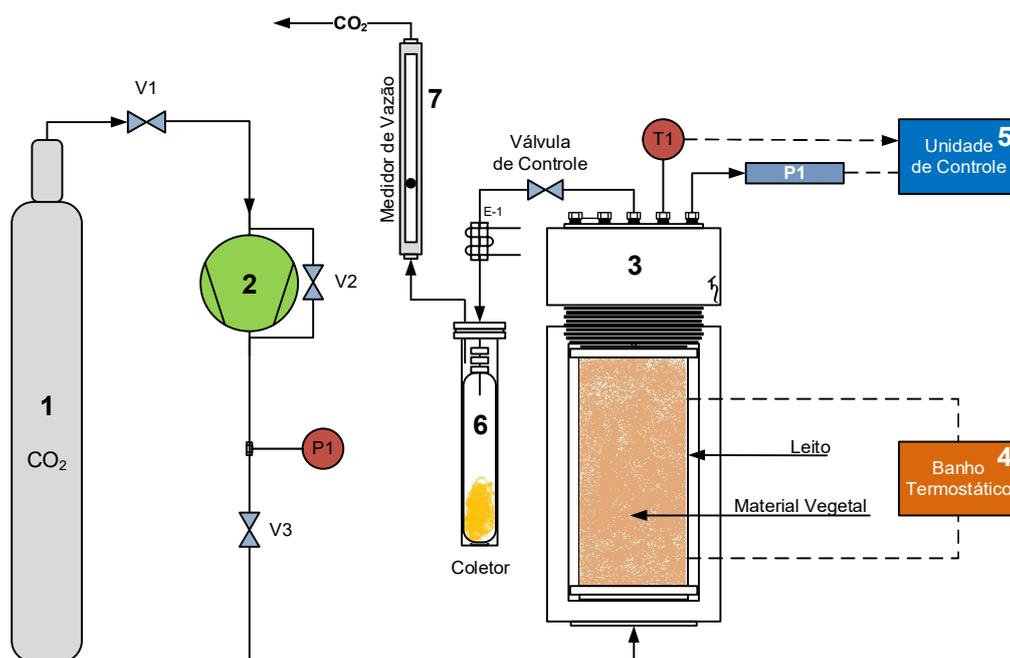


Figura 12. Fluxograma simplificado da unidade de extração supercrítica (LAOS/FEQ/UFPa).

A parte utilizada consiste basicamente de: (1) cilindro de CO₂ (99,0% de pureza, CARBOMAM, Belém-PA); (2) compressor de membrana (Andreas Hoffer, Mod. MKZ 120-50, Alemanha), com capacidade de elevar a pressão de 60 a 350 bar, a uma vazão de até 70 kg/h; (3) recipiente de aço inox com

capacidade para 1,0 L, com camisa de aquecimento (Metalwerkstatt, TUHH, Alemanha), usado como reator; (4) banho termostático (Haake Mess-Technik GmbH, Mod. N3, Alemanha); (5) unidade eletroeletrônica de controle (Elektrowerkstatt, TUHH, Alemanha); (6) recipiente de aço inox, dimensões, 19,7 cm de altura por 2,8 cm de diâmetro interno, usado como separador e (7) medidor de vazão (MOBRO Instrumentering). A temperatura do reator (T1) é medida com um termopar NiCr/Ni (SAB GmbH e Co., Mod. TEM-303, Alemanha), com precisão de $\pm 0,1$ °C, e a pressão (P1) por meio de um manômetro de Bourdon (Wika Alexander Wiegand GmbH, Mod. 332.30, 0-400 bar, Alemanha) com precisão de ± 5 bar.

O equipamento possui três manômetros (Wika Alexander Wiegand GmbH, Mod. 332.30, 0-400 bar, Alemanha) que fazem a leitura da pressão: um na saída do cilindro de CO₂ com precisão de ± 10 bar; o segundo na saída do compressor com precisão de ± 2 bar e o terceiro fornece a pressão dentro do extrator com precisão de ± 2 bar. O equipamento também possui duas válvulas de agulha (1/8”), uma para controlar a pressão de trabalho dentro do extrator e outra instalada na saída da linha do extrator para controlar a vazão.

Preparação do Leito de Extração

Nos experimentos foi utilizado um leito de aço inox, dimensões, 30 cm de altura por 8 cm de diâmetro interno, o qual foi adaptado no interior do extrator (3). O leito foi formado pelo empacotamento manual do material vegetal seco e moído (250 g) com auxílio de um funil e de uma haste metálica para comprimir o material. A fim de prevenir o arraste de partículas finas, um tampão de algodão e uma tela metálica foram colocados em cada extremidade do leito. O preparo do leito seguiu o mesmo procedimento para todas as extrações.

Operação da Planta de Extração Supercrítica

Após o fechamento da célula de extração, a unidade foi carregada com CO₂ proveniente do reservatório cilíndrico (1). Quando a pressão do extrator se igualou à pressão do cilindro de fornecimento de CO₂ (6,5 MPa), o compressor foi acionado para continuar o carregamento até atingir a pressão de trabalho.

Quando a pressão está próxima da pressão de trabalho, é aberta a válvula de retorno (V2) que é usada para regular o sistema manualmente até que as condições de pressão e temperatura fossem estabelecidas.

Para evitar o entupimento da linha na saída do extrator, causado pela solidificação do CO₂ durante a expansão, foi adaptado um sistema de aquecimento (E-1) que consiste na imersão da linha de saída do extrator em um recipiente com água, aquecida por uma resistência térmica. O volume de CO₂ que passou através do extrator foi determinado por um medidor de vazão (MOBRO Instrumentering) (7) a pressão e temperatura ambiente. Os parâmetros utilizados nas extrações estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Condições experimentais para avaliar o rendimento da extração da raiz de Timbó usando CO₂ supercrítico.

Espécie	Experimentos	t (min)	T (°C)	Q _m (L.min ⁻¹)	P (bar)
Raiz de Timbó (250 g)	E1				120
	E2	60	35	12	220
	E3				300
	E4				120
	E5	60	40	12	220
	E6				300
	E7				120
	E8	60	60	12	220
	E9				300

Avaliação Preliminar das Condições Experimentais

Nesta etapa, foram realizadas extrações em três temperaturas e três pressões totalizando nove ensaios que foram replicados. O tempo de processo de extração e a razão (S/F) entre a massa de CO₂ (S) e a massa de matéria-prima (F) alimentada na célula foram mantidos constantes. Os extratos foram coletados em tubos de ensaios previamente pesados, contidos dentro do separador (6), posteriormente, foram deixados na capela em temperatura ambiente (≈ 26 °C) por 30 minutos, para garantir que todo o CO₂ fosse removido do extrato.

As massas de extratos contidas nos tubos de ensaios foram pesadas em uma balança analítica (Sartorius Analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha) e transferidas para frascos de vidro âmbar e armazenados em freezer doméstico (Eletrolux, Modelo Cooler H-300) a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. O rendimento da extração foi calculado relacionando a massa total de extrato (M_{Extrato}) e a massa de alimentação de matéria-prima em base seca (M_{Amostra}) (Equação 3.5).

$$\text{Rendimento} = \left(\frac{M_{\text{Extrato}}}{M_{\text{Amostra}}} \right) \times 100 \quad (3.5)$$

Parâmetros Cinéticos de Extração

Durante a realização das extrações na condição C9, ocorria sempre o entupimento de parte da linha de extração, causado pela cristalização do extrato na entrada do separador e na válvula micrométrica, o problema foi resolvido com a adaptação de um sistema aquecimento entre a saída do extrator e do separador (E-1).

A preparação do leite seguiu o procedimento descrito no Item 3.2.3.3 (Preparação do Leite de Extração). Nestes ensaios, foram realizadas coletas em intervalos de tempo de 10 minutos. As massas de extratos contidas nos frascos foram pesadas em uma balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha), posteriormente, os extratos foram transferidos para frascos de vidro âmbar e armazenados em freezer doméstico (Cooler H-300 Eletrolux) a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

O rendimento global da extração (X_0) foi calculado relacionando a massa total de extrato (M_{Extrato}) e a massa de alimentação de matéria-prima em base seca (M_{Amostra}), de acordo com a Equação 3.6.

$$X_0 = \left(\frac{M_{\text{Extrato}}}{M_{\text{Amostra}}} \right) \times 100 \quad (3.6)$$

Para a determinação dos parâmetros cinéticos, t_{CER} (duração do período de taxa constante de extração: *CER*); M_{CER} (taxa de transferência de massa do período *CER*, kg/s); Y_{CER} (razão mássica de extrato na saída do leite); e R_{CER} (rendimento do período da taxa constante de extração: *CER*), foi utilizado um

aplicativo computacional utilizando a função PROJ.LIN (planilha de cálculo em Excel) que ajusta um *spline* linear de três retas às curvas cinéticas de extração.

Sucessivos valores do ponto de intersecção das três retas são avaliados a partir dos módulos em Visual Basic para Aplicação (VBA), maximizando o coeficiente de correlação das retas. A intersecção entre as duas primeiras retas determina o término do período de taxa constante de extração (t_{CER}) e a intersecção entre a segunda e terceira reta determina o final do período de taxa decrescente de extração (t_{FER}), onde a partir deste ponto inicia-se o período de extração difusional (SANTOS, 2007).

Os dados de entrada para o aplicativo são os dados experimentais obtidos das curvas globais de extração (OEC): a vazão de solvente, a densidade do sólido e a massa inicial de alimentação. O programa gera um gráfico dinâmico plotado em termos da razão entre a massa de extrato e a massa inicial de alimentação *versus* a razão entre a massa de solvente e massa inicial de alimentação.

3.2.4 Ensaios de Adsorção

3.2.4.1 Preparação do adsorvente

O tri-hidróxido de alumínio $Al(OH)_3$ fornecido pela Hydro Alunorte (Barcarena-PA, Brasil), foi usado como matéria-prima de partida para a obtenção da γ -alumina. A preparação da alumina (1000 g) consistiu de lavagem com água quente ($T \cong 100$ °C, duas lavagens de 1000 mL) para a retirada dos resíduos indesejáveis (NaOH e outras impurezas), secagem à temperatura ambiente por 24 horas, secagem em estufa (MARCONI, Modelo MA033/3) a 105 °C \pm 5 °C por 24 horas.

A alumina adsorvente foi obtida pela decomposição térmica do $Al(OH)_3$ (500 g) em um forno tipo mufla (LINN ELEKTRO THERM, LM 312.6 SO 1729), a 550 °C por 2 horas, e foi denominada AD550, após o resfriamento, o material calcinado foi armazenado em um dessecador e submetido a vácuo. A perda de massa por desidroxilação foi determinada pela diferença da massa antes da calcinação e da massa após calcinação.

3.2.4.2 Caracterização da alumina adsorvente

Difração de Raios-X (DRX)

As análises do material de partida e da alumina calcinada foram realizadas no Laboratório de Difração e Fluorescência de Raios-X do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará, pelo método do pó (0,5 g de cada amostras secas e pulverizadas), em Difratorômetro de Raios-X (X'PERT PRO MPD, PW 3040/60) da PANalytical, com Goniômetro PW3050/60 (Theta/Theta) e com tubo de Raios-X cerâmico, de ânodo de Cu ($K\alpha_1 = 1,540598 \text{ \AA}$), modelo PW3373/00, foco fino longo, 2200 W, 60 kv. Foi utilizado filtro $K\beta$ de Ni. O detector utilizado foi o X'Celerator, do tipo RTMS (*Real Time Multiple Scanning*), atuando no modo Scanning e com um active length de $2,122^\circ$.

As condições instrumentais foram: varredura de 5° a $75^\circ 2\theta$, voltagem: 40 kV, corrente: 30 mA, tamanho do passo: $0,02^\circ 2\theta$ e tempo/passo: 5s, fenda divergente de $1/2^\circ$ e anti espalhamento de 1° ; Máscara de 10 mm, movimento da amostra: *Spinning*, com 1 rotação/s. A aquisição dos dados foi realizada por meio do software X Pert Data Collector, versão 2.1a, e o tratamento dos dados com software X Pert High Score versão 2.1b, também da PANalytical, sendo utilizado o banco de dados PDF (*Powder Diffraction File*) do ICDD (*International Center for Diffraction Data*).

Espectroscopia de Raios-X por dispersão de energia (EDX)

As análises químicas quantitativa por EDX do material de partida e da alumina calcinada foram realizadas em um espectrômetro modelo EDX-7000/8000 (SHIMADZU), com tubos de Raios-X cerâmico, ânodo de ródio (Rh). As análises foram realizadas no Laboratório de Catálise e Oleoquímica do Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará.

Análise Termogravimétrica (TG) e Térmica Diferencial (DTA)

As condições para as análises oxidantes e não oxidantes foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Gasosa e Análise Térmica do Instituto de Geociências, com um modelo DTG-60AH, detector serial n°

C30595100098TK, em atmosfera oxidante com fluxo de 50 mL.min⁻¹, com alumina como padrão interno. A taxa de aquecimento 10 °C.min⁻¹ até 1000 °C; foram utilizados cubetas de alumina e massas iniciais de 3 mg.

Microscopia Eletrônica de Varredura/Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios-X (MEV/EDS)

As análises do material de partida e da alumina calcinada foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Instituto de Tecnologia da Universidade Federal do Pará, em um Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada (HITACHI, TM 3000), operando a 15 kVoltz com sistema acoplado para análise química semi-quantitativa por EDS, com software para análise *line scan* (análise química ao longo de uma linha dentro de uma região selecionada), operando sempre no modo elétrons retro espalhados (BSE – *backscattered secondary electrons*).

Isotermas de Fissiorção de N₂

As isotermas de fissiorção de N₂ foram obtidas utilizando um porosímetro MONOSORB QUANTACHROME, Modelo NOVA 1200. A medida da superfície específica do material de partida e da alumina calcinada (200 mg) foi realizada no Laboratório de Catálise e Oleoquímica do Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará.

A técnica consiste em passar um gás (adsorvato) em uma célula que contém a amostra de sólido de massa conhecida (adsorvente). Previamente, uma desgaseificação da amostra é efetuada a vácuo a temperatura de 200 °C. A massa de amostra desgaseificada é medida para o cálculo final da superfície específica. A isoterma é determinada pela introdução sequencial de pressões conhecidas (de 1 a 20 kPa) de gás nitrogênio na célula e pela medida da quantidade de gás adsorvido em função da pressão no sistema.

A porosidade externa (ϵ_{ext}), da partícula (ϵ_p) e a porosidade total (ϵ_{total}) foram determinadas pelas Equações 3.7 a 3.9, respectivamente.

$$\epsilon_{ext} = \frac{V_f}{V_c} \tag{3.7}$$

$$\epsilon_p = \frac{V_p}{V_c(1 - \epsilon_{ext})} \quad (3.8)$$

$$\epsilon_{total} = \epsilon_{ext} + \epsilon_p \cdot (1 - \epsilon_{ext}) \quad (3.9)$$

Determinação do pH do ponto de carga zero (pH_{PCZ})

O pH_{PCZ} do ponto de carga zero foi determinado de acordo com a metodologia adaptada de Van Raij e Peech (1972). Os ensaios foram realizados em Erlenmeyers (250 mL), contendo 300 mg do adsorvente e 30 mL de solução aquosa de NaCl 0,1 mol.L⁻¹, os pHs iniciais foram ajustados de 1 a 12 com soluções de HCl e NaOH 0,1 mol.L⁻¹.

As misturas foram deixadas sob à agitação em mesa agitadora (NEW LAB, Modelo NL-229-03) a 100 rpm na temperatura 25 °C, durante 24 horas. Após filtração, os pHs das soluções foram determinados por leitura direta em um titulador automático Titroline Plus (SCHOTT, D-85719, Germany), previamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.4.3 Preparação do adsorvato (5000 ppm)

Foram dissolvidos 10 g do extrato metanoico da raiz do Timbó obtido por percolação (EBP) em 2,0 L de metanol (P.A, CRQ, Brasil). A mistura resultante foi transferida para frasco de vidro âmbar e guardada ao abrigo da luz.

3.2.4.4 Adsorção em batelada

Os ensaios de isotermas de adsorção foram realizados em frascos Erlenmeyer (250 mL), contendo 10 g de alumina adsorvente (AD550) e 100 mL do adsorvato (C₀ = 625 mg.L⁻¹) sob agitação constante (120 rpm) por 30 horas em temperaturas de 30 °C (EBP30), 40 °C (EBP40) e 60 °C (EBP60), o pH inicial para todos os ensaios mantido em 5,4. Os ensaios foram realizados em triplicata. A quantidade de adsorvato adsorvidos em equilíbrio (q_e) foi calculada conforme a Equação 3.10.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{M_{Ads}} \cdot V \quad (3.10)$$

A porcentagem retida de extrato (%R) foi obtida utilizando a Equação 3.11.

$$\%R = \left[\frac{1 - (C_0 - C_e)}{C_e} \right] \cdot 100 \quad (3.11)$$

Onde q_e é quantidade adsorvida de extrato no equilíbrio ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), C_0 e C_e são as concentrações do extrato inicial e no equilíbrio ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), V e M_{Ads} são o volume do adsorvato (L) e a massa do adsorvente (g), respectivamente.

3.2.4.5 Estudo cinético

O estudo da cinética de adsorção do extrato EBP foi realizado em frascos Erlenmeyers (250 mL) contendo 100 mL do adsorvato ($C_0 = 625 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e 10 g do adsorvente AD550 em temperaturas de 30 °C (EBP30), 40 °C (EBP40) e 60 °C (EBP60), sob agitação constante de 120 rpm. O pH inicial para todos os ensaios mantido em 5,4.

Para a determinação da concentração no tempo t (C_t) foram retiradas alíquotas (1 mL) em intervalos de tempo pré-determinados e transferidas para frascos de vidro (5 mL) previamente pesados. Após a remoção do solvente em banho maria ($T = 70 \text{ °C}$) a massa residual foi determinada e a quantidade de adsorvato adsorvido no tempo t (q_t) foi determinada pela Equação 3.12. Os experimentos foram conduzidos em triplicata.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_t)}{M_{Ads}} \cdot V \quad (3.12)$$

Onde q_e é quantidade adsorvida de extrato no equilíbrio ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), C_0 e C_t são as concentrações do extrato inicial e no tempo t ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), V e M_{Ads} são o volume do adsorvato (L) e a massa do adsorvente (g), respectivamente.

Os parâmetros das isotermas de Langmuir e Freundlich e cinéticos dos ensaios de adsorção foram determinados pelo ajuste dos dados com a análise de regressão linear na planilha eletrônica Microsoft Office Excel 2013.

O ajuste das equações foi verificado de acordo com o coeficiente de correlação (R^2), juntamente com o erro médio relativo (E_{MR}) (Equação 3.13).

$$E_{MR} = \frac{100}{n} \cdot \sum_1^n \frac{(q_{exp} - q_{calc})}{q_{calc}} \quad (3.13)$$

Onde n é o número de pontos experimentais, q_{exp} e q_{calc} são os valores experimentais e estimados pelos modelos de Langmuir e Freundlich, respectivamente.

3.2.4.6 Adsorção em coluna de leito fixo

Para a realização dos ensaios de adsorção foi montado um aparato experimental (Figura 3.3) constituído de: coluna de vidro encamisada (40 cm de altura por 1,40 cm de diâmetro interno), acoplada a um banho termostático (SCHOTT, Modelo CT-52, Alemanha) e uma bomba peristáltica (SPETEC, Modelo Perimax 12, Alemanha).

O leito foi formado pelo empacotamento manual do adsorvente AD500 com auxílio de um funil de vidro. A fim de prevenir o arraste de partículas finas, um tampão de algodão foi colocado em cada extremidade do leito. A massa de adsorvente usada para cada ensaio foi de 10 g. Depois de montada a coluna de adsorção (3), foi acionada a bomba peristáltica (2) para bombear o extrato EBP (10 L, $C_0 = 2500 \text{ mg.L}^{-1}$) para o interior de modo descendente a uma vazão de alimentação de 4 mL.min^{-1} .

Foram coletadas amostras de 5 mL, em intervalos de tempo. Um pHmetro digital Titroline Plus (SCHOTT, Modelo D-85719, Alemanha), foi usado para medir o pH das frações coletadas. As amostras coletadas foram transferidas para frascos de vidro, capacidade, 10 mL, previamente pesados que posteriormente, foram submetidos a secagem em estufa na temperatura de $70 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ até peso constante.

Os ensaios foram realizados nas temperaturas de 40 e 60 °C, a partir da concentração de entrada (alimentação) e saída foram obtidas as curvas de ruptura (C_t/C_0) em função do tempo t . Os dados experimentais foram ajustados aos modelos de Thomas, Adams-Bohart e Yoon-Nelson (Item 2.3.5.1). O ajuste dos modelos foi verificado de acordo com o coeficiente de correlação (R^2), juntamente com o erro médio relativo (E_{MR}) (Equação 3.13).

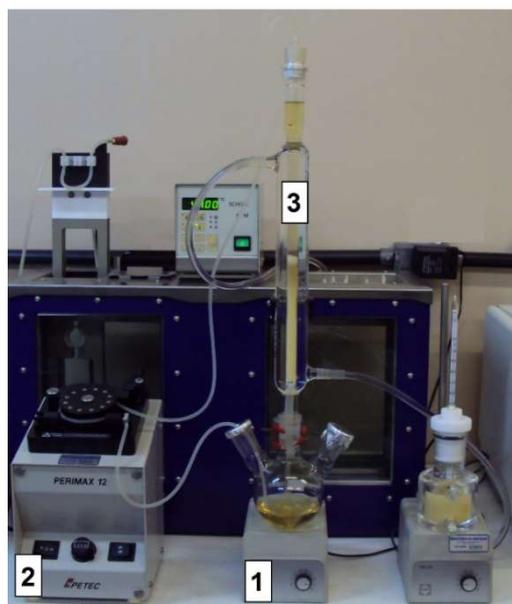


Figura 13. Montagem da coluna de adsorção em leito fixo usando alumina adsorvente (AD550).

3.2.5 Análises Químicas

As análises químicas e físicas foram realizadas nos Laboratórios das Faculdades de Química (ICEN), de Engenharia Química (ITEC), de Geologia (IG) da Universidade Federal do Pará e no Laboratório de Análises de Sistemas Sustentáveis da EMBRAPA, Amazônia Oriental.

3.2.5.1 Cromatografia de camada delgada (CCD)

Os perfis fitoquímicos dos extratos foram feitos por CCD, seguindo as metodologias descritas por Wagner e Bladt (1996). Foram usados padrões para alcalóides (Brucina 99%, Vetec, Brasil), flavonóides (Rutina 98%, Dyne, Brasil), terpenóides (Timol 99,5%, Vetec, Brasil) e cumarinas

(Esculina 98%, Vetec, Brasil). Os ensaios de CCD foram realizados em placas de sílica gel 0,2 mm de espessura kieselgel 60, com indicador de fluorescência ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ (MACHERE-NAGEL), ativadas a 105 °C. Os compostos eluídos foram examinados sob a luz visível e na câmara de ultravioleta (Spectroline, model CM-10) nas faixas de 254 e 365 nm e/ou com reveladores químicos, após a análise em três diferentes sistemas eluentes associados a quatro reveladores específicos.

3.2.5.2 Cromatografia de coluna por via úmida (CCVU)

Rota da Análise Fitoquímica do Extrato EBP

10 g do extrato metanoico da raiz do Timbó (EBP) foram fracionados em coluna de sílica eluída com as misturas de solventes em ordem crescente de polaridade: hexano/acetato de etila (8:2), hexano/acetato de etila (5:5), hexano/acetato de etila (2:8) e acetato de etila (1). Após concentração em evaporador rotativo, foram obtidas as frações: EBPFHAE1 (0,8306 g, óleo resinoso castanho escuro), EBPFHAE2 (3,0050 g, mistura pastosa amarela escura), EBPFHAE3 (3,3308 g, mistura pastosa castanho escura) e EBP-FAE4 (2,1734 g, sólido cristalino castanho escuro).

Isolamento dos Constituintes Químicos

2,0 da fração EBPFHAE2 (hexano/acetato de etila (5:5)) foram fracionados em coluna de sílica, utilizando-se solventes em gradiente crescente de polaridade (hexano/acetato de etila). Foram coletadas 22 frações de 50 mL e analisadas por CCD, foram reunidas as frações 6 a 16 (EBPFHAE2.1) resultando em uma massa cristalina amarela clara (1,3381 g). Parte desta fração (1,0 g) foi fracionada em coluna de sílica, utilizando-se solventes em gradiente crescente de polaridade (hexano/acetato de etila) (clorofórmio/éter de petróleo (4:1)). Foram coletadas 20 frações de 50 mL.

As frações foram analisadas por CCD e reunidas, as frações 4 a 9 (EBPFHAE2.2) na forma de cristais amarelo claro (0,3215 g) (**1**) e as frações 11 a 17 (EBPFHAE2.3) na forma de pó amorfo amarelo claro (0,1985 g) (**2**), após a recristalização com tetracloreto de carbono.

Rota da Análise Fitoquímica do Extrato SFE

5,0 g do extrato da raiz do Timbó obtido por CO₂ supercrítico (SFE) foram fracionados em coluna de sílica eluida com as misturas de solvente em ordem crescente de polaridade: hexano/acetato de etila (8:2), hexano/acetato de etila (5:5), hexano/acetato de etila (2:8) e acetato de etila (1). Após concentração em evaporador rotativo, foram obtidas as frações: SFEFHAE1 (0,8306 g, óleo resinoso castanho escuro), SFEFHAE2 (1,5219 g, mistura pastosa amarela escura), SFEFHAE3 (1,9817 g, mistura pastosa castanho escura) e SFEFAE4 (0,4389 g, sólido cristalino castanho escuro).

Isolamento dos Constituintes Químicos

1,0 g da fração SFEFHAE2 (hexano/acetato de etila (5:5)) foram fracionados em coluna de sílica, utilizando-se solventes em gradiente crescente de polaridade (hexano/acetato de etila). Foram coletadas 18 frações de 50 mL e analisadas por CCD, foram reunidas as frações 1 a 13 SFEFHAE2.1 resultando em uma massa cristalina amarela clara (0,5451 g). Parte desta fração (0,3 g) foi fracionada em coluna de sílica, utilizando-se solventes em gradiente crescente de polaridade (clorofórmio/éter de petróleo (4:1)). Foram coletadas 25 frações de 50 mL.

As frações foram analisadas por CCD e reunidas, as frações 5 a 13 SFEFHAE2.2 na forma de cristais amarelo claro (0,191 g) (**1**) e as frações 15 a 21 SFE-FHAE2.3 na forma de cristais amarelo claro (0,0774 g) (**2**), após a recristalização com tetracloreto de carbono.

3.2.5.3 Cromatografia de placa preparativa (CPP)

Os extratos e/ou frações provenientes do EBP e SFE que apresentaram boa separação, avaliados pelo fator de retenção (*R_f*), foram submetidos à CPP. As placas foram preparadas com aplicação da suspensão de sílica para placas preparativas MACHEREY-NAGEL e água destilada em placas de vidro de dimensões 20 cm x 20 cm. Após aplicação, as placas foram ativadas em estufa a 100 °C por 1 hora. Foram usados 2 mg de amostra (teste), em seguida, foram aplicadas nas placas preparativas com ajuda de capilar e eluidas em cuba

contido o sistema de eluição (fase móvel) definido por CPP. As placas foram reveladas em câmara UV com comprimento de onda de 254 nm.

As manchas que apresentaram o mesmo *R_f* foram selecionadas e raspadas com auxílio de uma espátula e transferidas para um cartucho PHENOMENEX ($\phi = 17$ mm) e poros de 0,45 μm e lavadas com o respectivo eluente. A mistura resultante foi seca a temperatura ambiente, posteriormente, pesadas e submetida a nova marcha analítica para a verificação da pureza da substância isolada.

3.2.5.4 Cromatografia gasosa (CG)

A composição química das frações hexânicas obtidas do extrato metanoico da raiz do Timbó (EBPFH) e dos extratos obtidos por fluido supercrítico (FHSFE) foi expressa em termos de ésteres metílicos, conforme o método oficial Ce 1F-96 ou Ce 1-62 da AOCS (1998).

As análises foram realizadas em um cromatógrafo gasoso VARIAN, modelo 3800, com detector de ionização de chama (FID). Foi utilizada uma coluna, marca Agilent T CP-Wax 52 CB (L = 30 m, DI = 0,32 mm, Filme = 0,32 μm e Limite de Temperatura = 20 – 250/265 °C) em gás Cromosorb Q na razão de 1,0 mL.min⁻¹. A programação de temperatura usada foi T180 °C por 2 min., R110 °C/min. T2 180 °C por 1 min., R2 10 °C/min., T3 250 °C por 5 min. A vazão de N₂ foi de 46 mL min⁻¹.

A identificação dos ácidos graxos foi obtida por comparação com os tempos de retenção de padrões cromatográficos de ésteres metílicos (C₄-C₂₄). A quantificação das substâncias foi feita pela conversão das porcentagens das áreas dos picos em porcentagem de massa, empregando-se a seguinte expressão para o cálculo da composição de cada ácido graxo (% AG), conforme a Equação 3.14.

$$\%AG = \frac{APAG}{\sum APAG} \quad (3.14)$$

Onde *APAG* é a área de cada pico de ácido graxo e $\sum APAG$ é o somatório de todas as áreas dos picos dos ácidos graxos.

3.2.5.5 Cromatografia Líquida de alta eficiência (HPLC)

As análises foram realizadas em um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência SHIMADZU PROMINENCE que é composto por uma bomba solenoide com quatro canais (modelo LC-20AT), detector de arranjo de diodo (modelo SPD-M20A), degaseificador de membrana (modelo DGU-20A), auto injetor de amostras (modelo SIL-20A), interface de comunicação (modelo CBM-20A) acoplado a um microcomputador Pentium IV com software de integração LC solution operando em comprimento de onda fixo de 293 nm, sistema isocrático H₂O (A) : ACN (B) 60% de B, sob vazão de 1 mL/min onde foi empregada uma coluna Gemini C18 (150 x 4,6 mm, 5 μ) com tempo total de análise de 9 min.

A água ultrapura utilizada na composição das fases móveis, foi obtida em um sistema Millipore Direct-Q₃[®] (18,2 M Ω .cm). A homogeneização das amostras em acetonitrila foi realizada em agitador vórtex (VERTEX[®] QL-901). Para pesagem dos padrões foi utilizada uma balança analítica Sartorius (modelo BP 210 S) com precisão de 0,0001 g.

Os solventes, grau HPLC foram adquiridos da TEDIA BRASIL. Antes da utilização, os solventes foram filtrados a vácuo em um sistema filtração (PHENOMENEX) com um funil de 300 mL e frasco coletor de 1 L, utilizando-se as membranas de nylon 47 mm de diâmetro e poros de 0,45 μ m e, posteriormente degaseificados em um ultrassom (BRANSON 2510).

No preparo de amostras por filtração, foram utilizados filtros PHENOMENEX (ϕ = 17 mm) e poros de 0,45 μ m. As amostras foram preparadas por SPE utilizando-se cartuchos Strata C18-E PHENOMENEX (Torrance, CA, USA) e 50 mg de fase estacionária e leito com capacidade para 1 mL.

a. Soluções Padrão

Rotenona e Deguelina (1000 μ g.mL⁻¹): 10 mg, foram pesados e transferidos quantitativamente para balões volumétricos (SATELIT A HS 542) de 10 mL, precisão de \pm 0,02. Os padrões foram solubilizados em acetonitrila e armazenados em freezer doméstico (Eletrolux, Modelo Cooler H-300) a -10 °C.

b. Soluções Estoque Padrão

A partir das soluções padrão foram preparadas soluções estoque nas seguintes concentrações: 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 µg/mL.

c. Obtenção das Curvas de Calibração por Padronização Externa

A partir das soluções padrão de calibração padrões (rotenona e deguelina) foram preparadas as curvas de calibração nas seguintes concentrações: 2,5, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µg/mL.

d. Preparação da Amostra

1,0 mg de amostra (extratos, frações e sub frações da raiz do Timbó) foram dissolvidos em 10 mL de acetonitrila (Grau HPLC, Tedia, Brasil). A solução foi aplicada em filtro de membrana de nylon (0,45 µm). De cada solução resultante, foram retiradas alíquotas de 20 µL e posteriormente injetadas diretamente no cromatógrafo.

3.2.5.6 Cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa (LC-MS)

Espectrômetro de massas LCQ Fleet da Thermo Analítica, equipado com um dispositivo de inserção direta da amostra via análise por injeção em fluxo contínuo (FIA). A amostra foi analisada no modo de ionização por electrospray (ESI) e as fragmentações em múltiplos estágios (M2, MS3) realizadas em uma interface do tipo *ion-trap* (IT).

O software Xcalibur versão 1.0 (Thermo Finigan®) foi utilizado durante a aquisição e processamento dos dados espectrométricos. Foi utilizada uma coluna Agilent Zorbax C-18 (3,5 x 50 mm, 3,5µ) da Agilent Technologies. Como fase móvel utilizou-se água acidificada (A, ácido fórmico a 15 v/v) e acetonitrila grau HPLC (B). O gradiente foi programado da seguinte maneira, 0 min (95% A e 5% B), 5 min (50% A e 50% B) e 20 min (95% A e 5% B), sob vazão de 0,32 mL/min, com um tempo total de análise de 20 minutos.

3.2.5.7 Ressonância magnética nuclear (NRM)

Os espectros de ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C (1D e 2D) foram obtidos de um espectrômetro VARIAN, modelo MERCURY-300 (300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C). O solvente usado para análise das amostras foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3 , 99,9%, Merck). Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em *ppm* com base na referência interna o sinal do TMS. Os dados obtidos foram comparados com os dados da literatura.

3.2.6 Metodologia dos Bioensaios

Os bioensaios para avaliação dos efeitos fitotóxicos foram realizados de acordo com metodologias descritas na literatura (MAPA, 2009).

3.2.6.1 Avaliação do potencial fitotóxico

O potencial fitotóxico foi avaliado sobre as sementes da planta invasora de áreas de pastagens *Mimosa pudica* L. (malícia), coletadas no município de Castanhal-PA. Foram analisados os seguintes parâmetros: percentual de germinação das sementes e alongamento da radícula (raiz do embrião que origina o sistema radicular) e do hipocótilo (região de transição entre a plúmula e a radícula) de plantas pré-germinadas (Figura 3.4).

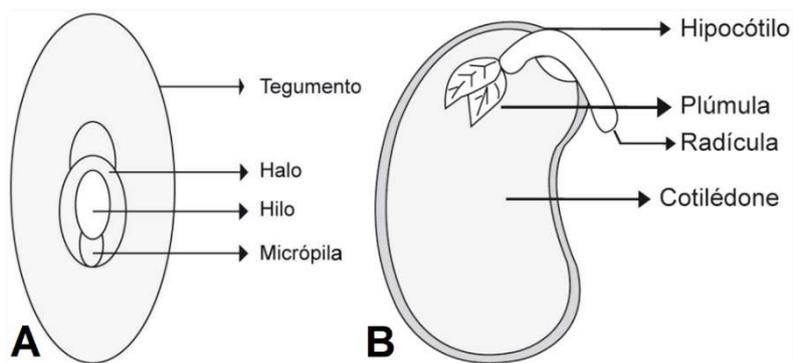


Figura 14. Estruturas interna (A) e externa da semente (B)
(Adaptado de EMBRAPA, 2014).

Germinação

Na germinação de sementes, foram usadas placas de Petri (90 x 15 mm), contendo um disco de papel de filtro qualitativo Whatman (90 mm), seguido

da adição de 3 mL da solução a ser testada a 1% (m/v). Após a evaporação do solvente, foi acrescentada água destilada esterilizada ao disco de papel, em seguida, foram colocadas de forma aleatória, 20 sementes da planta invasora de pastos, *Mimosa pudica* L. (malícia), previamente tratada para a quebra de dormência (SOUZA FILHO et al., 1998).

As placas foram levadas para câmara de germinação (Eletrolab, Modelo 122 FC), a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz e monitoradas durante 4 dias com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas. Foi considerada semente germinada aquela que apresentava extensão radicular igual ou superior a 2,0 mm. Para o tratamento (prova em branco) foi usado somente água destilada. Os ensaios foram realizados em triplicata.

No final do período, foi verificado o total das sementes em cada placa e calculada a média aritmética das sementes germinadas, juntamente com a média das sementes germinadas no tratamento (água destilada esterilizada), o percentual de inibição foi calculado de acordo com a Equação 3.15.

$$\%Inibição = \left[\left(\frac{SG_{Amostra} - SG_{Controle}}{SG_{Controle}} \right) \right] \times 100 \quad (3.15)$$

Onde $SG_{Amostra}$, é a quantidade de sementes germinadas e $SG_{Controle}$ é a quantidade de sementes germinadas na amostra de controle.

Desenvolvimento da Radícula e do Hipocótilo

O desenvolvimento de plântulas foi realizado nas mesmas condições dos testes de germinação. Foram utilizadas 6 sementes pré-germinadas da planta invasora de pastos, *Mimosa pudica* L. (malícia), com 3 dias de germinação, adicionadas em placas de Petri (90 x 15 mm). Ao final de um período de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo para determinar a variação de desenvolvimento.

Os extratos brutos e partições foram avaliados na concentração de 1% (m/v). A avaliação das substâncias químicas isoladas foi realizada na concentração de 150 ppm, utilizando como dispersante metanol. Foram adicionados em cada placa de Petri, 3 mL da solução a ser testada. Após a

evaporação do solvente adicionou-se água destilada e, durante o período voltava-se a acrescentar água destilada sempre que necessário. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.2.7 Atividade Antifúngica

Nos ensaios antifúngicos, foram usadas cepas de fungos fitopatogênicos: *Sclerotium rolsii* (isolado do caupi, Paragominas-PA); *Rhizoctonia solani* (isolado da roseira, Belém-PA); *Lasiodiplodia theobromae* (isolado do pião branco, Altamira-PA); *Corynespora cassiicola* (isolado do mamão, Belém-PA.); *Macrophomina phaseolina*, (isolado do girassol, Paragominas-PA); *Fusarium solani* (isolado da pimenta-do-reino, Castanhal-PA); *Crinipellis pernicioso* (isolado do cupuaçu, Belém-PA), inoculados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar) durante 7 dias em temperatura ambiente.

Na avaliação da atividade antifúngica, foram preparadas soluções dos extratos em metanol nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1% (m/v), em seguida, foram adicionados de forma homogênea, 1,0 mL da solução no meio de cultura (BDA), após a evaporação do solvente, foi colocado no centro da placa um disco da colônia fúngica (d = 5 mm).

O tratamento (controle) continha apenas o meio BDA, a solução teste foi substituída pelo mesmo volume do solvente (1,0 mL). A avaliação do crescimento micelial foi realizada por meio de medição do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), a cada 24 h de incubação, ou até o momento em que as colônias fúngicas (controle) atingissem a superfície total do meio de cultura (90 mm), conforme mostrado na Figura 3.5.

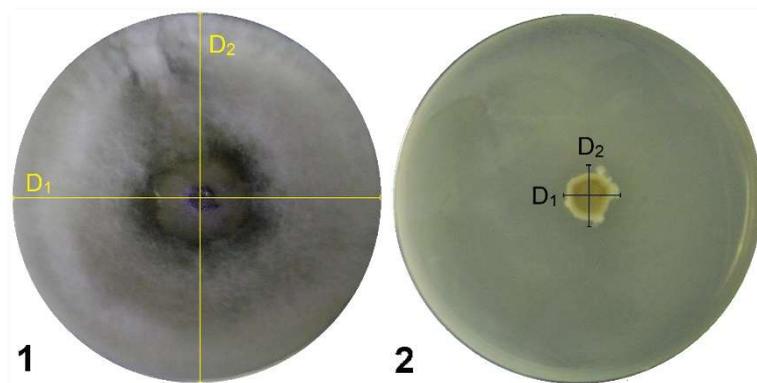


Figura 15. (1) Disco de controle (DFC) e (2) disco com amostra (DFA)

Os resultados são expressos em termos do diâmetro da atividade de crescimento do fungo na placa com a amostra (*DFA*), em relação ao diâmetro da atividade de crescimento do fungo na placa de controle (*DFC*), conforme a Equação 3.16.

$$\%Inibição = \left[\left(\frac{DFA - DFC}{DFC} \right) \right] \times 100 \quad (3.16)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CURVA DE SECAGEM DA RAIZ DO TIMBÓ

O teor de umidade e o rendimento em base úmida da raiz do Timbó “*in natura*” foi de 43,99 e 56,02%, respectivamente. O perfil da curva de secagem (Figura 4.1), indica que o primeiro período da taxa decrescente ocorreu em 96 horas. Com o aumento do tempo de secagem, a água ligada a parte interna da estrutura da raiz, apresenta nova configuração física do material vegetal, provocada pelo fechamento de seus poros, à medida que o material perde umidade, o fluxo de saída interna de água passa a ser mais lento, devido a taxa de evaporação da superfície ao ambiente é superior à taxa de reposição de umidade do interior à superfície do material (VAN BRACKEL, 1980).

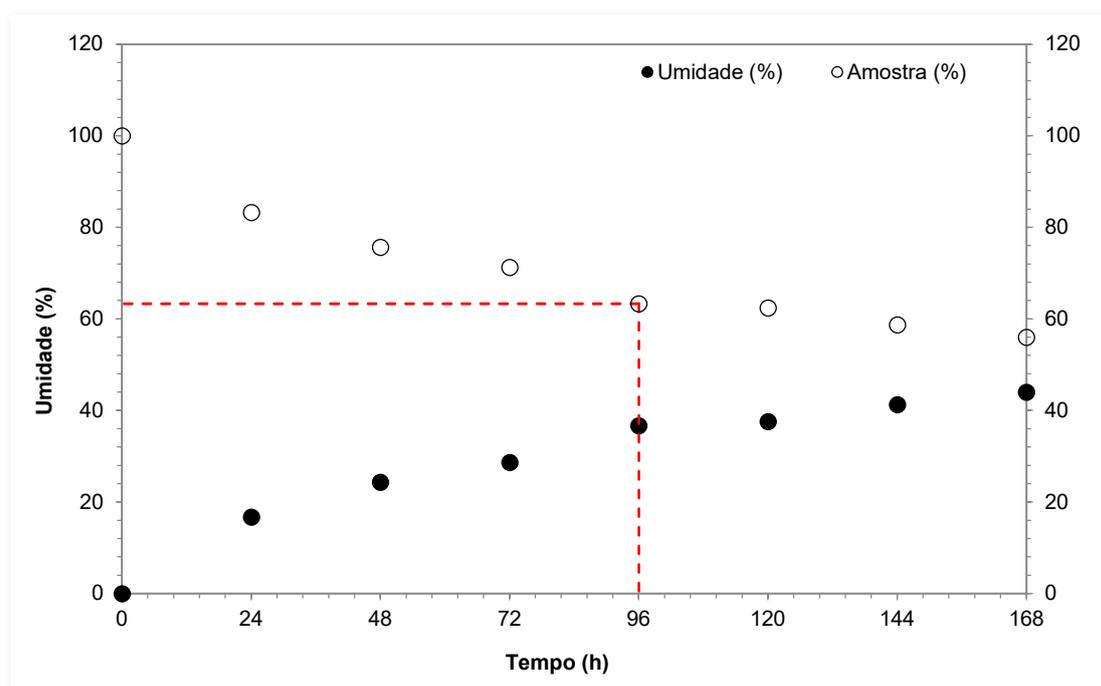


Figura 16. Perfil da curva de secagem da raiz do Timbó

($T = 40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{ar} = 0,5 \text{ m.s}^{-1}$).

4.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DA RAIZ DO TIMBÓ

Nos três processos de extração para a obtenção dos extratos da raiz do Timbó: percolação a frio (EBP), extração por Soxhlet (EBS) e por CO_2

supercrítico (SFE) foram utilizados o material vegetal com as seguintes características: diâmetro médio de partícula de 0,71 mm; densidade aparente de 0,4658 g.cm⁻³; densidade real de 0,4865 g.cm⁻³ e porosidade de 0,0433.

Os rendimentos médios para os dois primeiros processos foram de: 11,30% (96 h) e 23,77% (12 h), respectivamente. Por SFE (Tabela 4.1), o maior rendimento foi obtido na condição C9 (1,4%).

Tabela 6. Avaliação preliminar das condições experimentais da extração por fluido supercrítico da raiz de Timbó (t = 60 min e Q_m = 12 L.min⁻¹).

Ensaio	T (°C)	P (bar)	ρ (g.cm ⁻³)	Rend. (%)
C1		120	0,7671	0,2
C2	35	220	0,8882	0,43
C3		300	0,9291	0,45
C4		120	0,7178	0,58
C5	40	220	0,8651	0,76
C6		300	0,9099	0,95
C7		120	0,4344	1,03
C8	60	220	0,7647	1,2
C9		300	0,8297	1,4

Nas extrações por SFE, o aumento da pressão a temperatura constante, corresponde ao aumento da densidade do CO₂, por outro lado, o aumento da temperatura a pressão constante, conduz a uma diminuição na densidade do CO₂, diminuindo o poder de solvatação do solvente, conseqüentemente, aumenta a pressão de vapor do soluto. O efeito combinado de ambos determinará o comportamento da variação da solubilidade com a temperatura e pressão (KING e BOTT, 1993). Esta tendência é observada quando analisamos os perfis das curvas de extração das isotermas de rendimento (Figuras 4.2, 4.3 e 4.4).

Os resultados da composição química dos extratos da raiz de Timbó (em base seca) obtidos por EBP foram de 140,1 mg.100 g⁻¹ (rotenona) e 82,1 mg.100 g⁻¹ (deguelina); por EBS foram de 98,5 mg.100 g⁻¹ (rotenona) e 47,7 mg.100 g⁻¹ (deguelina); por SFE (Tabela 4.2) foram de 172,88 mg.100 g⁻¹ (rotenona) e 112,53 mg.100 g⁻¹ (deguelina), respectivamente.

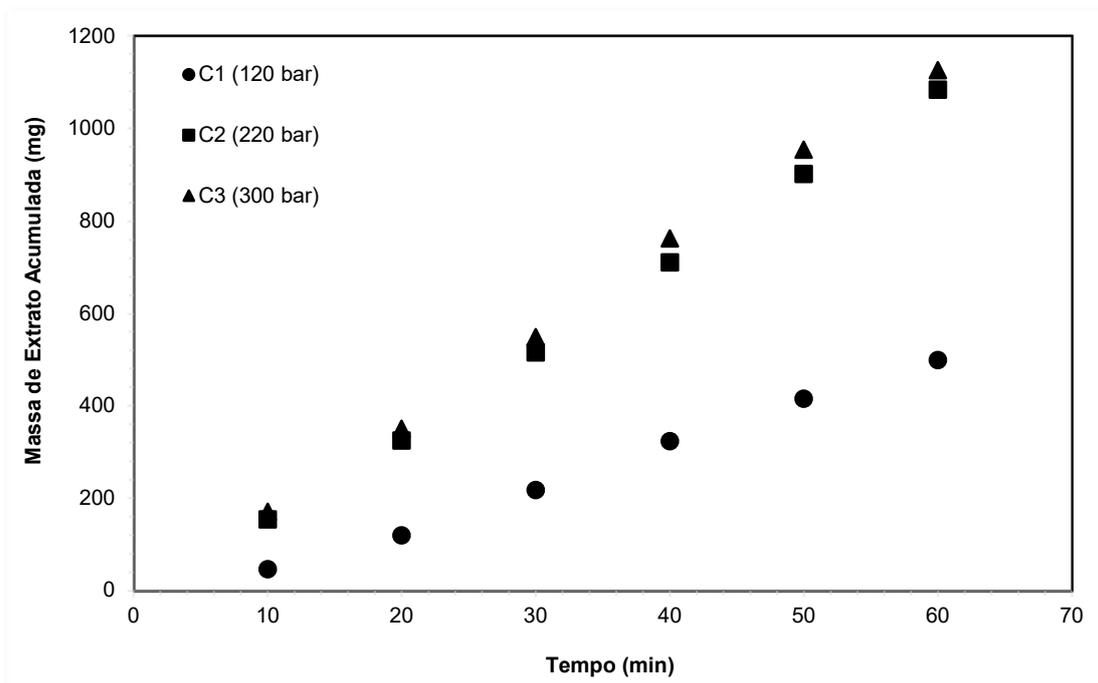


Figura 17. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó, obtidas com CO₂ pressurizado (T = 35 °C).

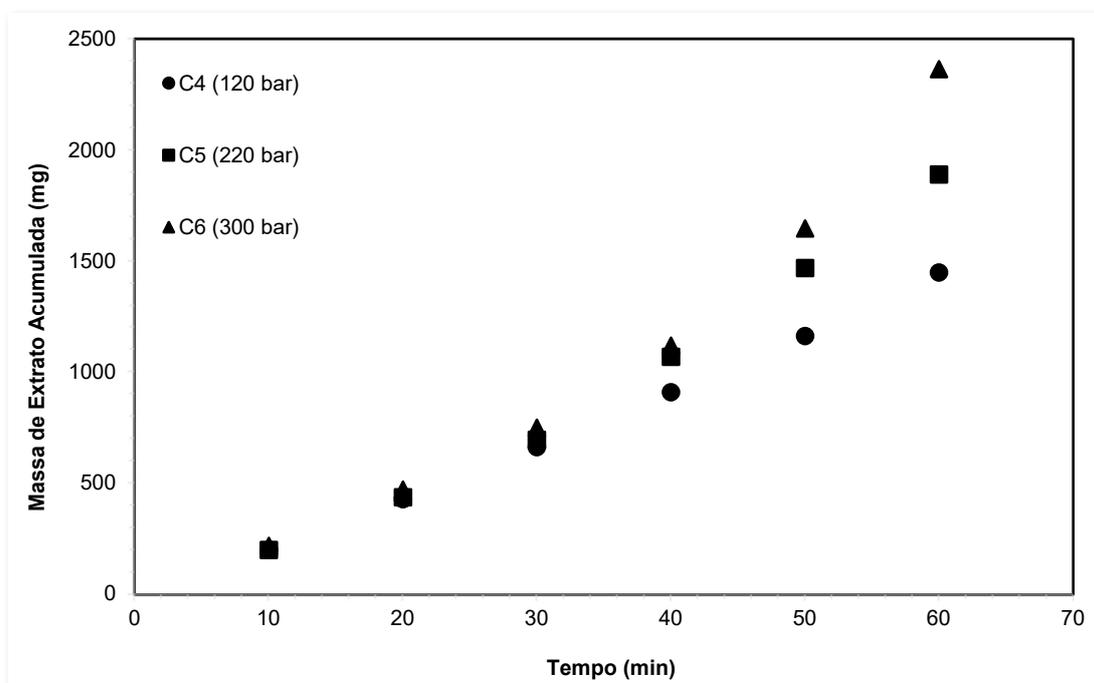


Figura 18. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó, obtidas com CO₂ pressurizado (T = 40 °C).

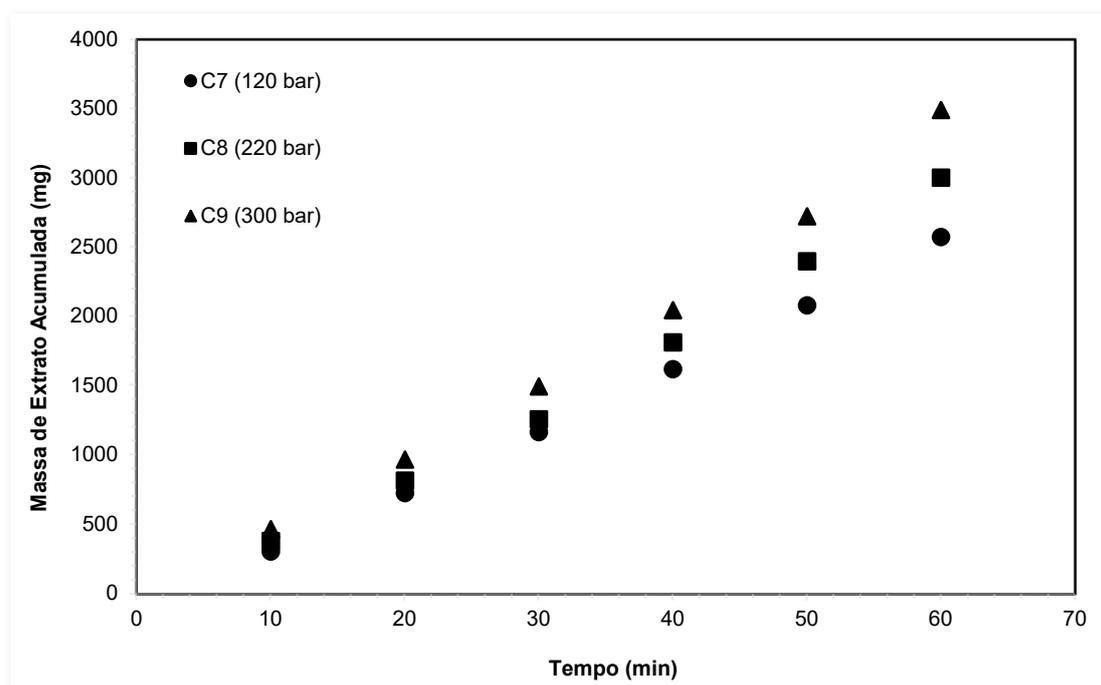


Figura 19. Isotermas de rendimento do extrato da raiz de Timbó obtidas com CO₂ pressurizado (T = 60 °C).

Tabela 7. Composição média de rotenona e deguelina obtidos por SFE.

Ensaio	T (°C)	Composição (%)		mg/100 Amostra (b.s.)	
		Rotenona	Deguelina	Rotenona	Deguelina
C1	35	0,68	1,28	3,91	7,35
C2		1,96	2,05	22,22	23,13
C3		2,42	1,76	29,58	21,56
C4	40	1,17	1,68	17	24,32
C5		1,7	1,91	32,09	36,09
C6		2,25	2,05	53,23	48,58
C7	60	1,45	1,52	39,01	40,9
C8		2,01	1,85	60,06	55,28
C9		5,3	3,45	172,88	112,53

Mediante a avaliação dos rendimentos e da composição química dos extratos da raiz de Timbó obtidos por SFE (Tabela 4.2), foram realizados novos experimentos, o tempo das extrações foi fixado em de 90 minutos. As coletas foram realizadas em intervalos de 15 (SFE15), 30 (SFE30), 60 (SFE60) e 90 minutos (SFE90). A composição média de rotenona e de deguelina por 100 g de

amostra (em base seca) foi de: 140,10 e 82,10 mg (EBP), 931,92 e 739,7250 mg (SFE) e de 276,59 e 297,92 mg (na torta após SFE), respectivamente. Na Figura 4.5 são apresentados os teores médios de rotenona e deguelina obtidos por percolação (EBP) e por CO₂ pressurizado.

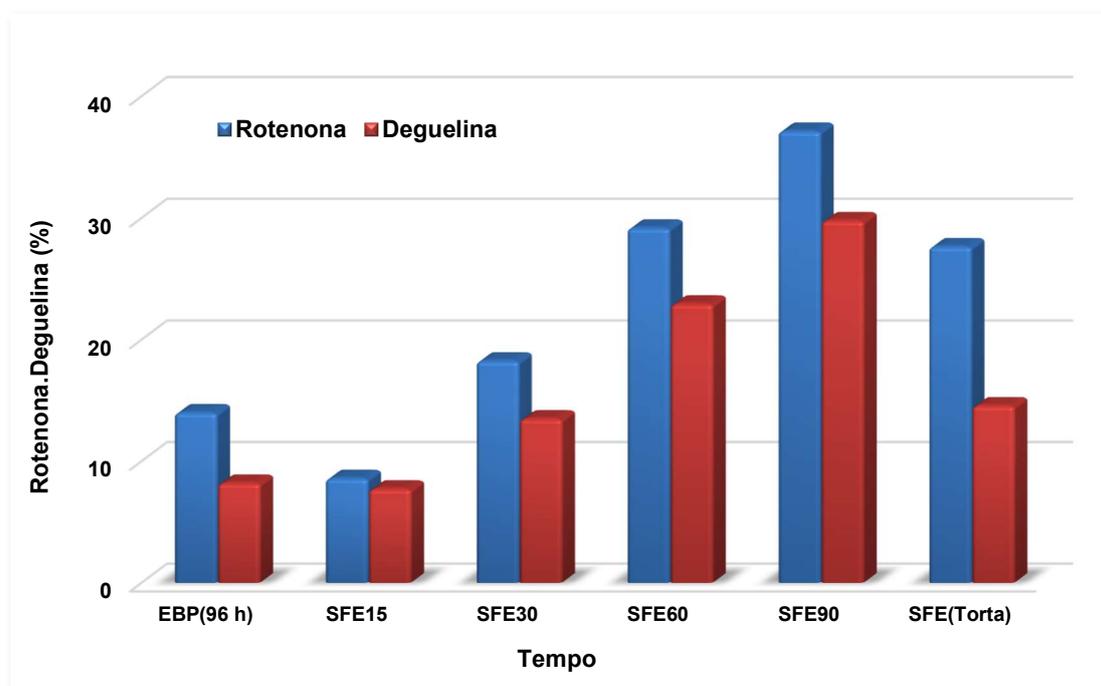


Figura 20. Teores da rotenona e deguelina nos extratos da raiz de Timbó obtidos por EBP, SFE e na torta após SFE.

A quantidade de rotenona e deguelina em função da massa de CO₂, condição C6, é mostrada na Figura 4.6. Os valores médios obtidos em cada tempo foram de: 270,5 mg (rotenona) e 243,42 mg (deguelina) (SFE15), 340,85 mg (rotenona) e 255,66 mg (deguelina) (SFE30), 745,20 mg (rotenona) e 585,87 mg (deguelina) (SFE60) e 797,43 mg (rotenona) e 639,58 mg (deguelina) (SFE90), respectivamente.

Em relação ao teor de rotenona, este resultado foi superior aos obtidos por D' Andrea et. al., 2007, que avaliaram a influência dos parâmetros de processo da extração da rotenona da raiz de *Derris elliptica* (Wallich) Benth, por fluido supercrítico, onde conseguiram um rendimento de 11,25% de rotenona na temperatura de 60 °C e pressão de 440 bar.

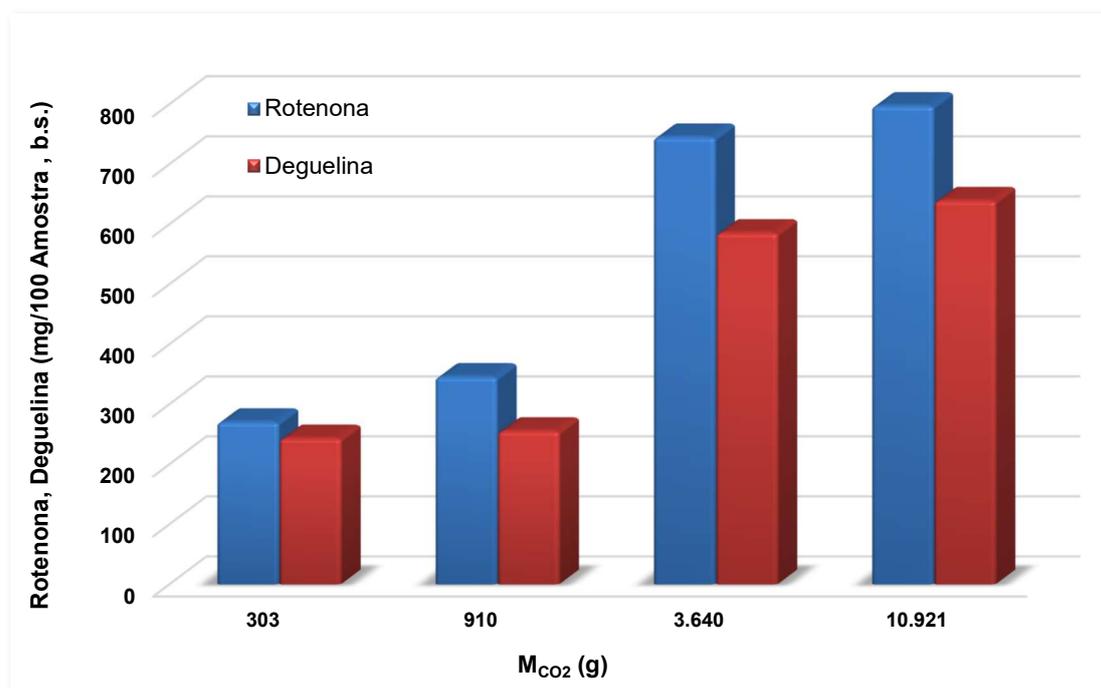


Figura 21. Quantidade extraída de rotenona e deguelina em função da massa de CO_2 pressurizado ($T = 60\text{ }^\circ C$, $P = 300\text{ bar}$).

A composição química do gênero *Derris* podem ser afetadas pelas condições climáticas e/ou ambientais, por exemplo, nas espécies *Derris trifoliata* Lour. (SUMERA e CONAT, 2006), *Derris amazônica* Killip. (ALÉCIO et al., 2005), *Derris elliptica* Benth. (SAITO e LUCHINI, 1998), *Derris urucu* Killip. e *Derris nicou* Aubl. (COSTA et al., 2009) apresentaram teores de rotenona de 0,019%, 3,7%, 5,5%, 3,7 e 4,2%, respectivamente. Na Figura 4.7, são apresentados os extratos da raiz de Timbó obtidos por percolação e por fluido supercrítico.

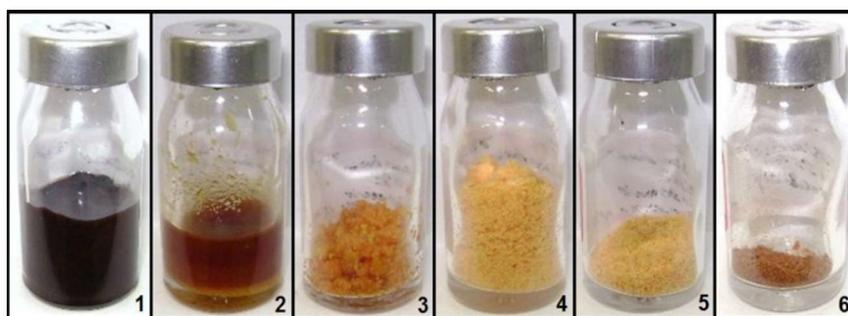


Figura 22. Extratos da raiz de Timbó obtidos por: (1) percolação (EBP), (2-5) SFE ($T = 60\text{ }^\circ C$, $P = 300\text{ bar}$, $Q_m = 12\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) e (6) da torta após SFE.

Na curva da extração do extrato da raiz de Timbó possui uma etapa inicial do extrato que está saindo do extrator, corresponde ao estado de equilíbrio termodinâmico. Nesta etapa, o solvente deixa o extrator saturado e a concentração do extrato no solvente, na saída do extrator, é igual a sua solubilidade no solvente. Numa segunda etapa, está sendo extraído o extrato contido dentro da matriz sólida o que faz com que a inclinação das curvas seja diminuída. Inicialmente se observa um período de taxa de extração constante, depois uma lenta diminuição desta com o tempo devido ao aumento do caminho difusional (Figura 4.8).

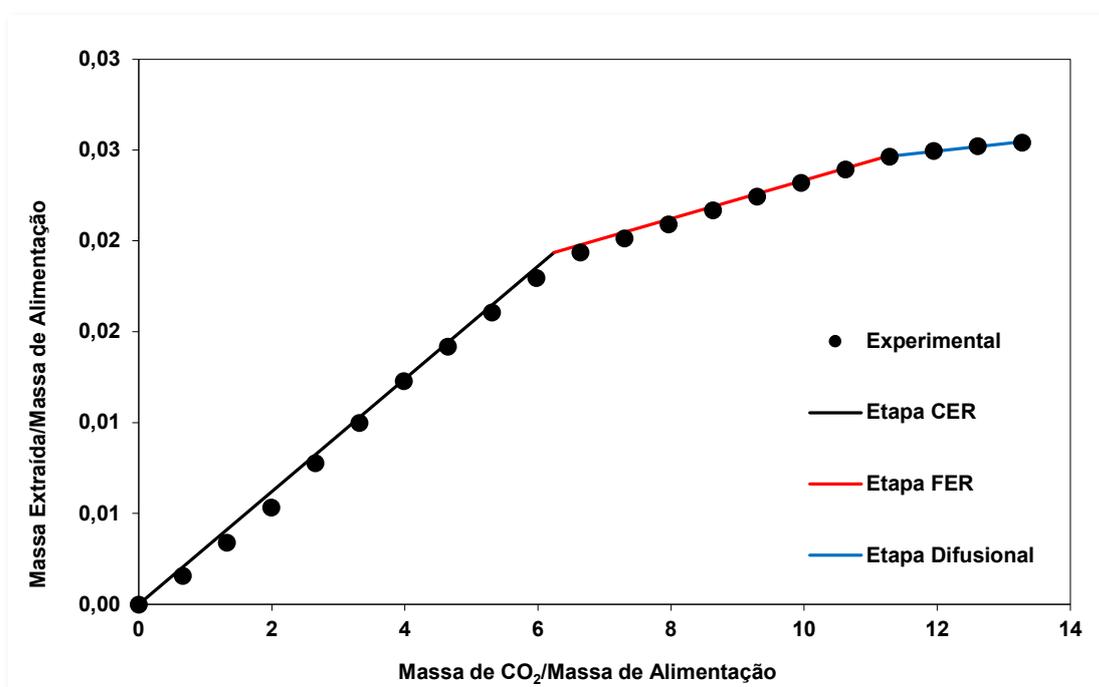


Figura 23. Ajustes dos dados de extração para três retas, sistema Timbó + CO₂ pressurizado.

Na Tabela 4.3, são apresentados os valores calculados do ajuste não linear com o aplicativo de três retas (Figura 4.8), foram considerados para o ajuste os seguintes dados: pressão de extração (300 bar), massa da amostra inicial (200,83 g), massa da amostra no final da extração (195,724 g), densidade do sólido (0,8297 g.cm⁻³), vazão média do solvente (13,33 g.min⁻¹) e a massa do extrato coletada (g) no seu respectivo tempo (min).

Tabela 8. Ajuste cinético para o aplicativo de retas, sistema Timbó + CO₂ pressurizado (P = 300 bar, T = 60 °C e Q_m = 12 L.min⁻¹).

Parâmetros	3 Retas
t _{CER} (min)	94
t _{FER} (min)	169
M _{CER} (g.min ⁻¹)	0,041359436
Y _{CER} (g _{Ext} /g _{CO2})	
b0	-0,0004097
b1	0,0031027
b2	-0,0019583
b3	-0,0007504
Erro Médio	---
DevPad	---
Faixa de Erro	---
R ²	0,9995505

Os resultados de t_{FER} calculados pelo aplicativo de três retas, apresentou um tempo de aproximadamente 170 minutos correspondente a 94% da massa extraível na etapa CER. Nos períodos que sucedem os valores de t_{CER}, percebe-se o aumento da massa de extrato chegar no período representado pelo valor de t_{FER}, permanecendo constante após esse período. Na Figura 4.9, são apresentados os extratos da raiz de Timbó obtidos por CO₂ supercrítico com coletas em intervalo de 10 minutos para cada fração.

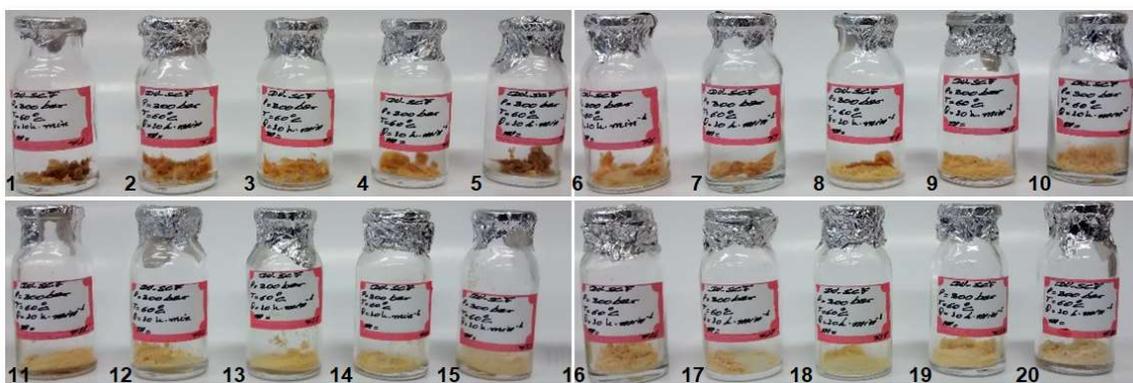


Figura 24. Extratos da raiz de Timbó obtidos por SFE (60 °C, 300 bar, 200 min).

Na Tabela 4.4, são apresentados os resultados da composição química das frações hexano obtidos por extração sólidos-líquido (Soxhlet) da raiz de Timbó (EBPFH) e do extrato obtido por fluido supercrítico (SFEFH). Os resultados mostraram um perfil químico diferente para os dois métodos de extração.

Tabela 9. Composição química expressa em ácidos graxos obtido das frações hexano (Soxhlet) e por CO₂ supercrítico da raiz de Timbó.

UIPAC	Nº Carbonos e Insaturações	Fórmula	CAS NUMBER	EBPFH	SFEFH
Ác. hexanóico	C6:0	CH ₃ (CH ₂) ₄ -COOH	---	30,782	17,536425
Ác. dodecanóico	C12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ -COOH	---	3,3649	---
Ác. tetradecanoico	C14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ -COOH	---	13,699	0,3872
Ác. hexadecanóico	C16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ -COOH	57-10-3	20,304	9,93735
Ác. cis-9-esadecenoico	C16:1, ω-7 cis	---	---	1,116	---
Ác. heptadecanoico	C17:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ -COOH	---	1,459	0,378725
Ác. octadecanoico	C18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ -COOH	57-11-4	2,483	8,038775
Ác. cis-9-octadecaenóico	C18:1, ω-9 cis	---	112-80-1	20,034	34,64425
Ác. cis-9-cis-12-octadecadienoico	C18:2	---	60-33-3	2,450	9,37795
---	C18:3	---	---	2,218	4,04945
Ác. Eicosanóico	C20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ -COOH	---	---	2,691675
---	C21:0	---	---	---	0,58125
Ác. docosanoico	C22:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ -COOH	---	---	4,350475
---	C22:1	---	---	---	---
---	C23:0	---	---	---	1,504525
Ác. tetracosanoico	C24:0	---	---	---	2,921275

Na fração EBPFH os ácidos graxos majoritários na forma de seus ésteres metílicos são: o ácido hexanóico (capróico, 30,78%), ácido hexadecanóico (palmítico, 20,31%), ácido cis-9-esadecenoico (palmitoleico, 20,03%) e o ácido tetradecanóico (mirístico, 13,69%). Na fração SFEFH do extrato obtido por CO₂ supercrítico, os ácidos graxos majoritários são: o ácido hexanóico (capróico, 17,54%), ácido hexadecanóico (palmítico, 20,31%), ácido cis-9-esadecenoico (oleico, 20,03%).

4.3 ENSAIOS DE ADSORÇÃO

4.3.1 Caracterização da Alumina Adsorvente

Perda de Massa Por Desidroxilação

O teor de umidade do trihidróxido de alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_3$) após secagem em estufa ($105\text{ }^\circ\text{C} \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h) foi de 34,18%. A perda de massa após tratamento térmico ($550\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, AD550) foi de 33,75%. Quando comparados os resultados de perda de massa teórica para a Gibbsita (34,62%) obtida pelo processo Bayer (MISRA, 1986) a perda de massa experimental correspondeu a 97,48%.

Densidade Aparente

A alumina AD550, apresentou densidade aparente de $2,3278\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ e está de acordo com os valores de $2,42\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ encontrados por Saalfeld e Wedde (1974). Isto sugere uma correlação entre a temperatura e a densidade de aluminas tratadas em diferentes temperaturas, quanto maior for a temperatura maior será sua densidade (WOOSLEY, 1990).

Difração de Raios X (DRX)

Os dados do DRX do material de partida ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e da alumina adsorvente AD550, são apresentados na Figura 4.10. A identificação das fases cristalinas foi de acordo com o ICDD-PDF (*The International Centre for Diffraction Data*) arquivos 01-074-1775 (gibbsita) e 00-010-0425 (AD550).

O material de partida apresentou picos agudos e bem definidos, atestando a boa cristalinidade, além de outras que identifica o material monoclinico, característicos da gibbsita ($\text{Al}(\text{OH})_3$). Foram registrados picos mais intensos (002, 200, -101, 101, -303).

Os parâmetros de rede indicaram valores de $a = 8,6760\text{ \AA}$, $b = 5,0700\text{ \AA}$, $c = 9,7210\text{ \AA}$ e $V = 426,24\text{ \AA}^3$. Após a calcinação a alumina adsorvente (AD550) não apresenta mais a face cristalina (gibbsita), sendo apenas composta de alumina de transição, identificada como alumina gama ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$). Foram registrados picos mais intensos (020, 021, 130, 150, 002). Os parâmetros de rede

indicaram valores de $a = 2,8735 \text{ \AA}$, $b = 12,2344 \text{ \AA}$, $c = 3,7007 \text{ \AA}$ e $V = 130,10 \text{ \AA}^6$. No Apêndice III, são apresentados os valores referentes as linhas de espaçamentos em (\AA) e as intensidades relativas para a gibbsita e a AD550.

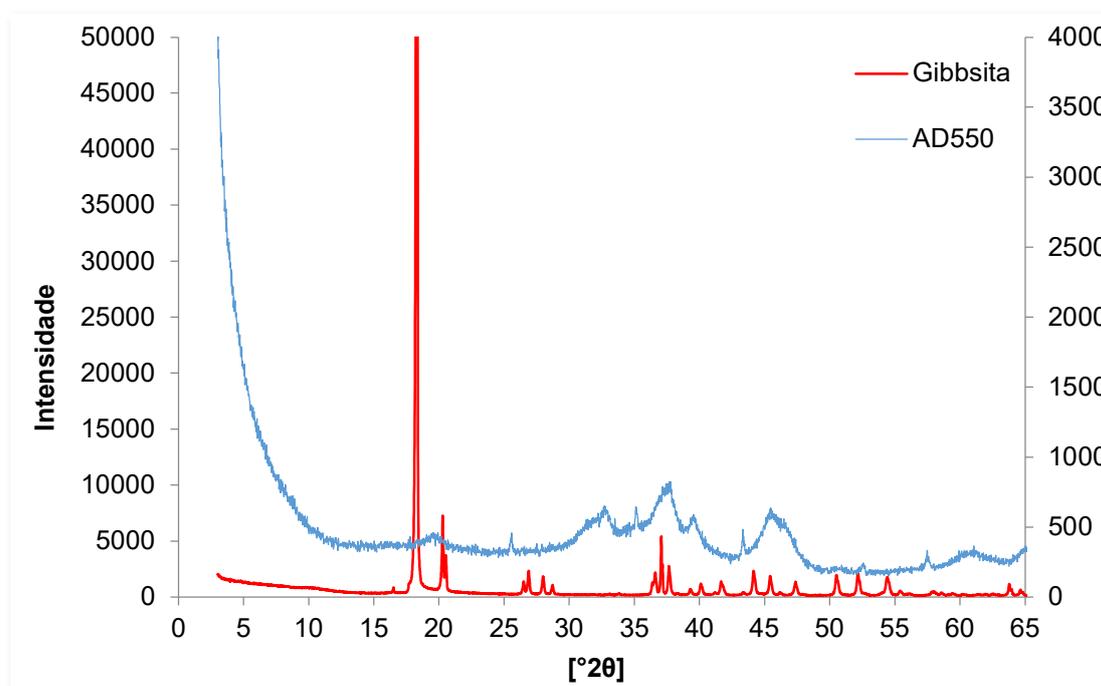


Figura 25. Difratogramas de raios X das amostras $(\text{Al}(\text{OH})_3)$ (gibbsita) e alumina adsorvente (AD550).

Análise Termogravimétrica (TG) e Térmica Diferencial (DTA)

Na Figura 4.11 são apresentadas as curvas típicas TG-DTA tri-hidróxido de alumínio $\text{Al}(\text{OH})_3$. A TG e a DTA são indicadas a partir das linhas azul e vermelha, respectivamente. Para a gibbsita, pode-se observar que a desidratação ocorre em duas etapas principais (aproximadamente em 300 e $525 \text{ }^\circ\text{C}$) (MISRA, 1986). O primeiro pico endotérmico observado pela curva DTA a $300 \text{ }^\circ\text{C}$ apresenta uma perda de massa de aproximadamente $28,21\%$, referente à remoção de moléculas de água fisiosorvida, na segunda etapa, observa-se um pico endotérmico correspondendo a perda de massa de $8,15\%$ e centrada em $525 \text{ }^\circ\text{C}$, referente à perda de grupos hidroxilas provenientes, provavelmente, da transformação de boemita em γ -alumina.

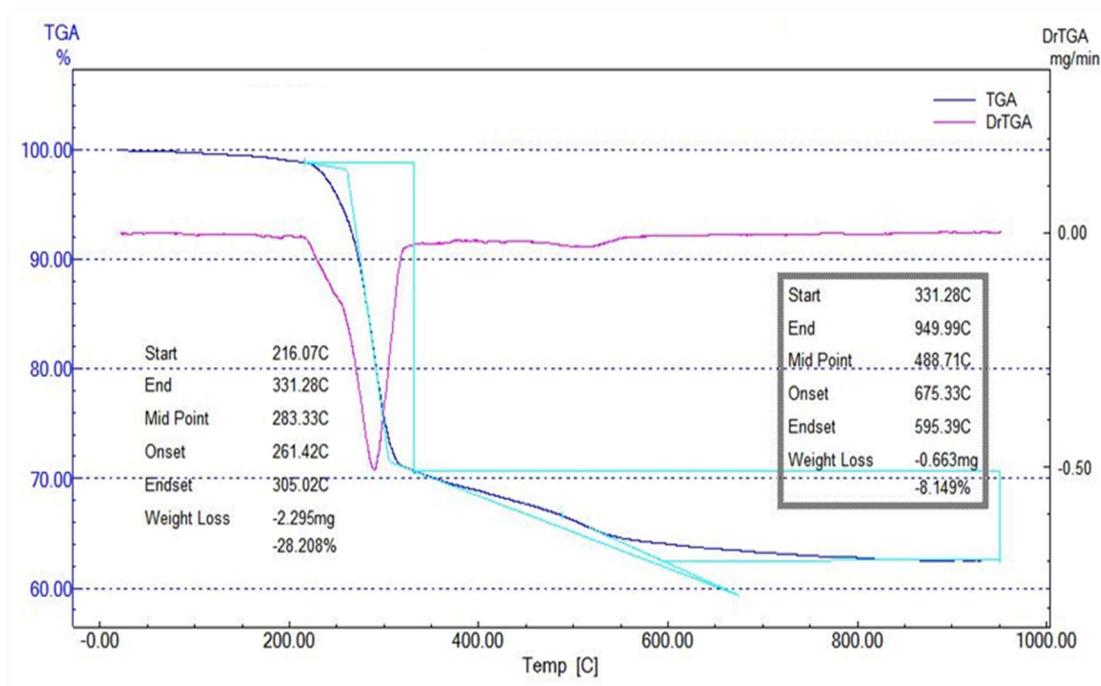


Figura 26. Curvas de análise térmica diferencial e gravimétrica da alumina.

A perda de massa de 8,15% ocorrida nessa etapa é inferior ao valor esperado pela literatura de 15%, na transformação de fase Boemita para γ -alumina (MISRA, 1986), a partir desta temperatura até 1000°C observa-se a perda de 2%. A perda de peso total observada na análise termogravimétrica foi de 36,36%.

Microscopia Eletrônica de Varredura/Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios-X (MEV/EDS)

Na Figura 4.12, são apresentadas as micrografias do tri-hidróxido de alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e da alumina adsorvente (AD550). As micrografias A e B, apresentam aglomerados formando placas hexagonais na cristalização do $\text{Al}(\text{OH})_3$, após a decomposição térmica, ocorreu a mudança de fases, conseqüentemente, alterando a morfologia (amorfo) e a textura superficial na alumina adsorvente (A e B).

A análise química semiquantitativa por EDS (Tabela 4.5), registrou os seguintes elementos (média) para o $\text{Al}(\text{OH})_3$: Al (67,19%) e O (32,82%). Para a alumina adsorvente (AD550): Al (71,30%) e O (28,70%).

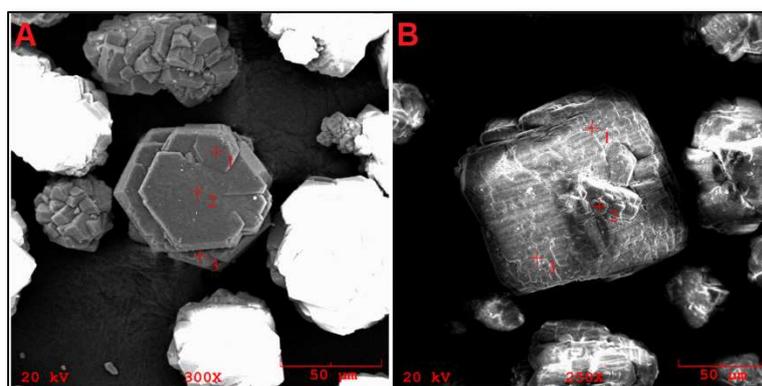


Figura 27. Micrografias do tri-hidróxido de alumínio $\text{Al}(\text{OH})_3$ e AD550: (A) Ampliação de 300x e (B) Ampliação de 250x, 20kV).

Tabela 10. Análise química semiquantitativa do hidróxido de alumínio $\text{Al}(\text{OH})_3$ (gibbsite) e da alumina adsorvente (AD550).

Ponto	$\text{Al}(\text{OH})_3$			AD550		
	Al (%)	O (%)	Total	Al (%)	O (%)	Total
1	65,513	34,487	100	71,790	28,210	100
2	68,863	31,137	100	77,699	22,301	100
3	67,179	32,821	100	64,401	35,599	100

Na Tabela 4.6, são apresentados os resultados da área específica (BET) do tri-hidróxido de alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e da alumina adsorvente (AD550). A área específica para AD550 apresentou um aumento de 660 vezes em relação a área do material de partida.

Tabela 11. Área Específica (BET) do $\text{Al}(\text{OH})_3$ (gibbsite) e da alumina adsorvente (AD550).

Alumina	Área Específica ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
$\text{Al}(\text{OH})_3$	0,22
AD550	145,40

4.3.2 Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH_{PCZ})

O pH do ponto de carga zero (pH_{PCZ}) é definido como sendo o pH do adsorvente no qual o balanço entre cargas positivas e negativas é nulo. Neste

estudo, o intervalo do pH_{PCZ} foi de 8,25 a 8,37 (Figura 4.13). O efeito observado, é causado pela dissociação de íons da solução na superfície da partícula. Quando o pH for superior ao pH_{PCZ} , o adsorvente tem carga negativa, favorecendo a adsorção de cátions, abaixo deste valor, a superfície é positiva, favorecendo a adsorção de ânions (TAGLIAFERRO et al., 2011).

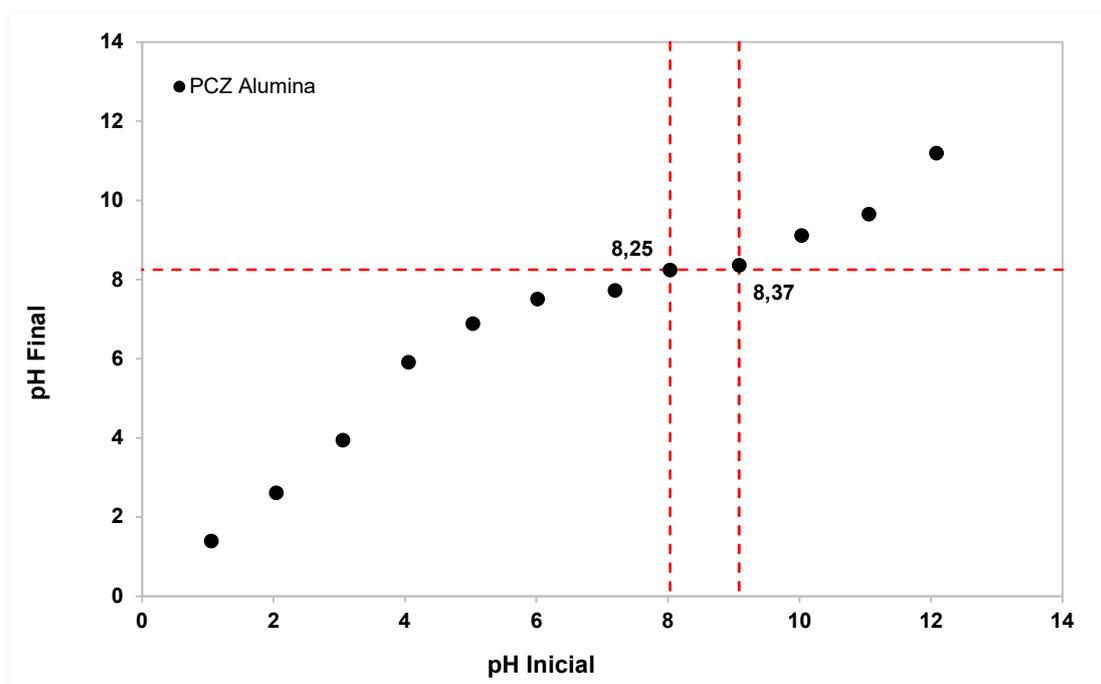


Figura 28. Ponto de carga zero (pH_{PCZ}) da alumina adsorvente (AD550).

4.3.3 Efeito da Temperatura na Adsorção do Extrato Metanoico da Raiz de Timbó

A Figura 4.14 representa o efeito da temperatura na adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP). A taxa de adsorção aumenta nas vinte primeiras horas do tempo de contato foi de: 65,33% (EBP30), 89,28% (EBP40) e 97,93% (EBP60). Após vinte horas a taxa diminui até atingir uma concentração constante (no equilíbrio), indicando a saturação do adsorvente AD550 (24 h), no final do experimento (30 h), a percentagem retida foi de 68,03% (EBP30), 90,86% (EBP40) e 99,70% (EBP60), respectivamente.

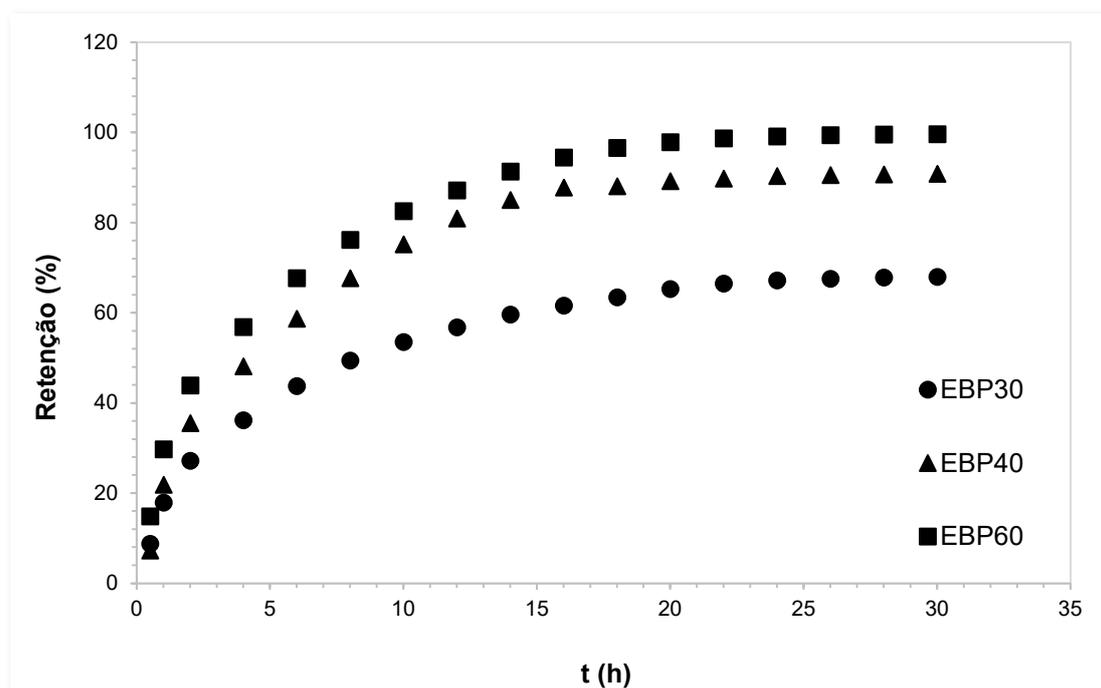


Figura 29. Retenção do extrato bruto da raiz de Timbó em alumina adsorvente (AD550) ($C_0 = 625 \text{ mg.L}^{-1}$, $AD550 = 0,1 \text{ g.mL}^{-1}$, 120 rpm, pH 5,4).

Os ensaios de adsorção foram realizados em pH inicial de 5,4 e sem tamponamento. A variação do pH (médio) em condições de equilíbrio (Figura 4.15) foi de 9,89 (EBP30), 9,20 (EBP40) e 9,20 (EBP60). Este comportamento pode ser explicado pelo pH do ponto de carga zero ($pH_{PCZ} = 8,25$ a $8,37$) do adsorvente AD550 (Figura 4.13). pH acima do pH_{PCZ} , a superfície do adsorvente fica carregada negativamente, favorecendo o aumento da adsorção de cátions positivamente carregados por meio da força de atração eletrostática do adsorvato. A adsorção máxima (90,86% EBP40 e 99,70% EBP60) em $pH > 9$ pode ser devido a dissociação dos grupos funcionais carboxílicos ou fenólicos que são fortemente dependentes do pH.

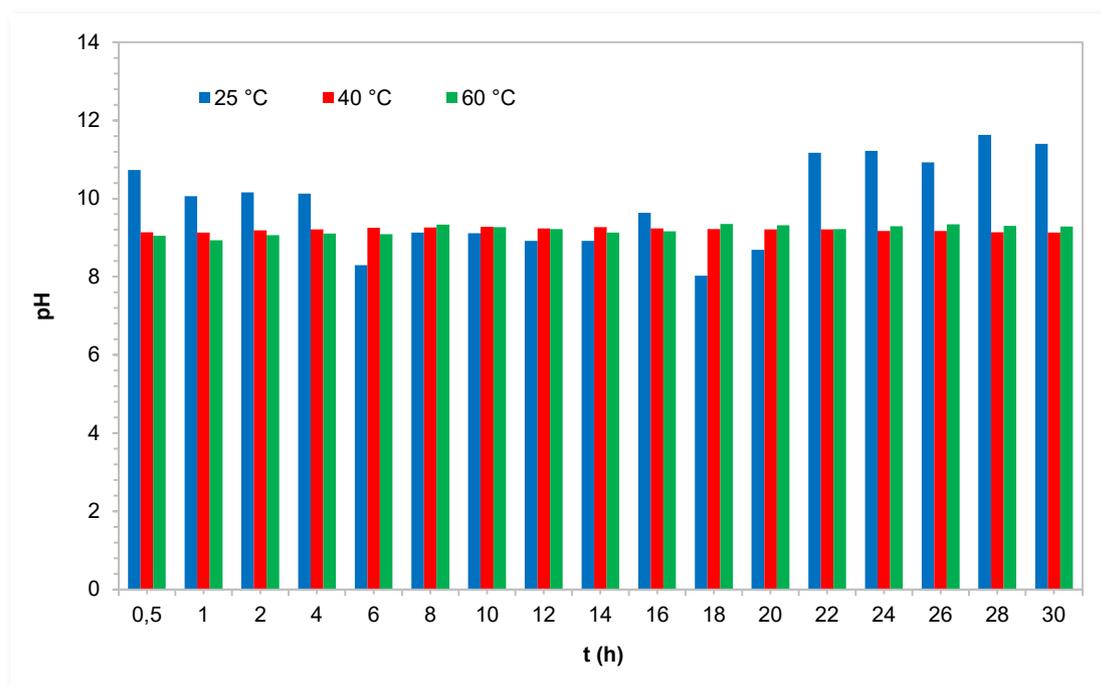


Figura 30. Variação do pH na adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó ($C_0 = 625 \text{ mg.L}^{-1}$, $AD550 = 0,1 \text{ g.mL}^{-1}$, 120 rpm, pH 5,4).

4.3.4 Isotermas de Adsorção

As constantes de Langmuir (Equação 2.4) e Freundlich (Equação 2.7) obtidas para a adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em alumina adsorvente (AD550) em diferentes condições (EBP30, EBP40 e EBP60) são apresentadas na Tabela 4.7 e representados nas Figuras 4.16, 4.17 e 4.18.

O ajuste das equações foi verificado de acordo com o coeficiente de correlação (R^2). Os dados experimentais se ajustaram aos modelos não linear de Langmuir ($R^2 > 0,900$), com exceção na temperatura de 30 °C ($R^2 = 0,6696$). A constante K_L indicou afinidade do adsorvato EBP pelo adsorvente AD550, todos os valores do fator de separação (R_L) encontram-se no intervalo de 0 e 1, indicando a adsorção favorável (SIVARAJ, et al., 2001).

O modelo de Freundlich (modelo empírico) não mostra claramente nenhuma conclusão em relação à capacidade de adsorção, os valores das constantes K_F e n , indicam a capacidade e a intensidade da adsorção. Para valores de n muito pequenos, a ligação na adsorção será forte, com q_e variando significativamente para pequenas concentrações de C_e , indicando uma adsorção

favorável (SATYANARAYANA et al., 1999). Os valores de K_F foram de $1,8347E^{-4}$ $(L.g^{-1})^{1/n}$ (EBP30), $1,9019E^{-1}$ $(L.g^{-1})^{1/n}$ (EBP40) e $2,5765E^{-1}$ $(L.g^{-1})^{1/n}$ (EBP60), respectivamente. Todos os valores de n ficaram abaixo da unidade.

Tabela 12. Constantes de isotermas não linear da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó.

Modelo	Parâmetros	Amostras		
		EBP30	EBP40	EBP60
Langmuir	$q_{e,exp}$ (mg.g ⁻¹)	42,52	56,79	62,31
	$q_{max,calc}$ (mg.g ⁻¹)	38,69	53,25	61,45
	K_L (L.mg ⁻¹)	1,1989E-07	3,9700E-03	4,00E-03
	R^2	0,6696	0,9785	0,9922
	E_{MR}	0,5823	0,3911	0,0824
Freundlich	K_F (mg.g ⁻¹)(L.g ⁻¹) ^{1/n}	1,8347E-04	1,9019E-01	2,5765E-01
	n	0,6632	0,6390	0,5914
	R^2	0,8071	0,9426	0,9747

De acordo com a equação de Langmuir, o extrato metanoico da raiz de Timbó (ABP), apresentou a seguinte ordem de afinidade em relação a alumina adsorvente (AD550): EBP60 > EBP40 > EBP30. Quando comparados os valores de R^2 obtidos no ajuste dos dados experimentais para os dois modelos, o que apresentou o melhor resultado foi o de Langmuir na temperatura de 60 °C (EBP60, 62,31 mg.L⁻¹). As isotermas de adsorção são do tipo I, da classe *Langmuir*, que é caracterizada por uma suave aproximação da capacidade de adsorção limitante que corresponde à formação de uma monocamada saturada de moléculas na superfície do adsorvente (BRUNAUER et al., 1938).

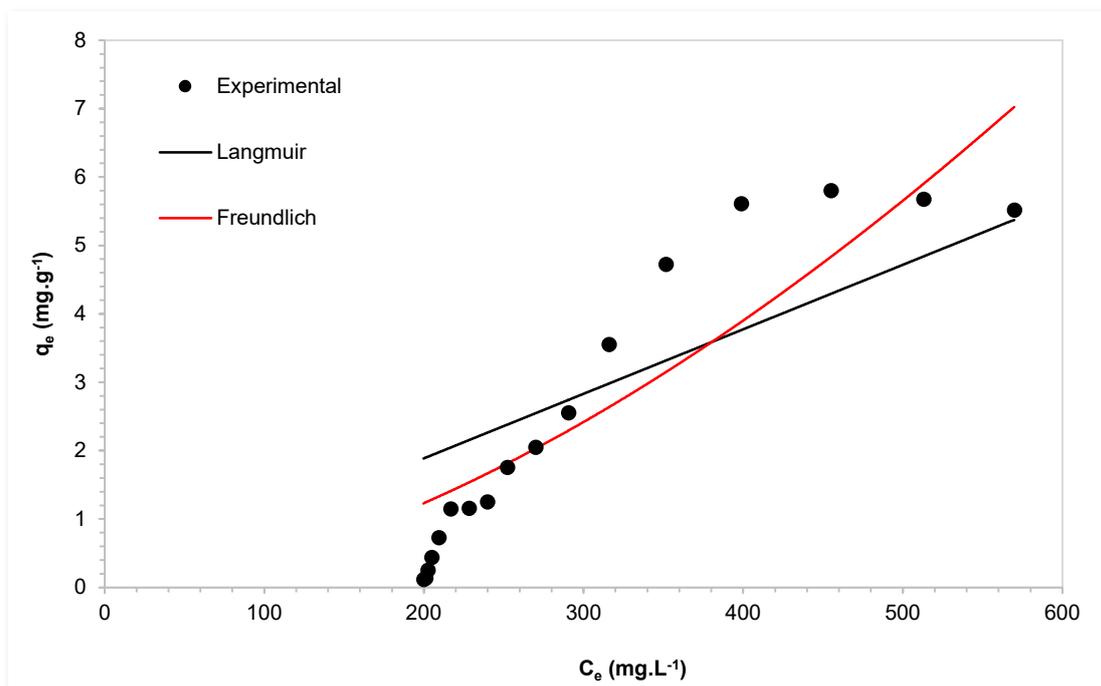


Figura 31. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP30) em alumina adsorvente (AD550).

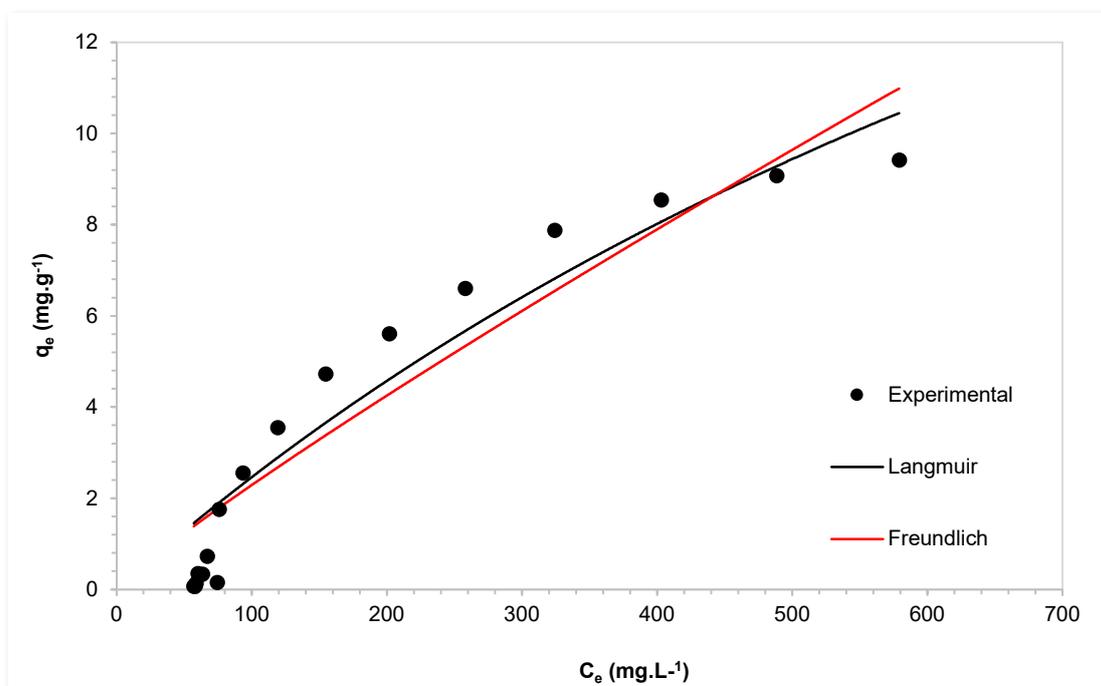


Figura 32. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40) em alumina adsorvente (AD550).

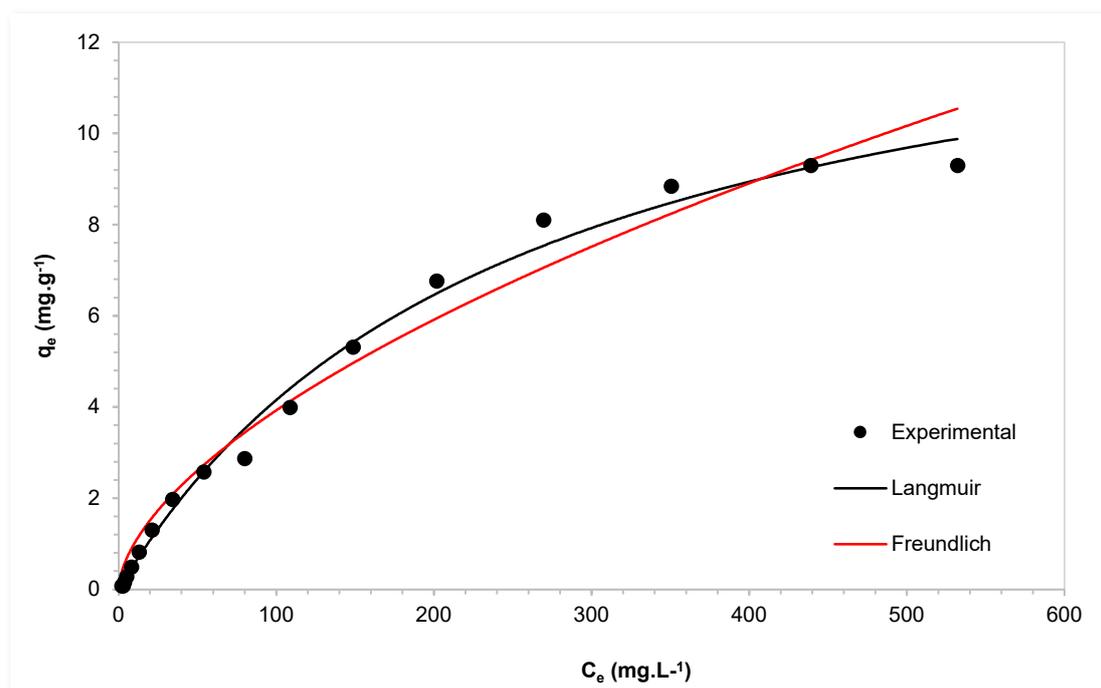


Figura 33. Isotermas de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60) em alumina adsorvente (AD550).

4.3.5 Cinética de Adsorção

Para estudar as etapas limitantes da taxa de adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em alumina adsorvente (AD550) foram utilizados os modelos cinéticos, pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e o modelo de difusão intrapartícula, os parâmetros calculados são apresentados na Tabela 4.8 e representados nas Figuras 4.19, 4.20 e 4.21.

A constante de velocidade de equilíbrio do modelo de pseudo segunda ordem (k_2) diminuem de $4,9211E^{-3}$ mg.g⁻¹.min⁻¹ (EBP30), $4,4198E^{-3}$ mg.g⁻¹.min⁻¹ (EBP40) e $4,2361E^{-3}$ mg.g⁻¹.min⁻¹ (EBP60) com o aumento da temperatura. A equação de pseudo segunda ordem ajustou bem os dados experimentais com um coeficiente de correlação (R^2) próximo à unidade, indicando o caráter químico da adsorção (HO e McKAY, 1999). A adsorção passa por várias etapas envolvendo o transporte do adsorvato da fase metanoica para a superfície adsorvente e a difusão do adsorvato para o interior dos poros adsorventes, o que é um processo lento.

Tabela 13. Parâmetros cinéticos determinados por regressão linear a partir dos dados experimentais da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em alumina adsorvente (AD550).

Modelo Cinético	Parâmetros	Amostras		
		EBP30	EBP40	EBP60
Pseudo-primeira ordem	$q_{e,exp}$ (mg.g ⁻¹)	42,52	56,79	62,31
	$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	37,16	58,76	58,51
	k_1 (min ⁻¹)	1,4500E-01	1,9706E-01	1,8436E-01
	$t^{1/2}$ (min)	4,78	3,52	3,76
	R^2	0,9582	0,9839	0,9757
	E_{MR}	0,8482	-0,1975	0,3823
Pseudo-segunda ordem	$q_{e,cal}$ (mg.g ⁻¹)	48,76	59,43	60,25
	k_2 (mg.g ⁻¹ .min ⁻¹)	4,9211E-03	4,4198E-03	4,2361E-03
	$t^{1/2}$ (min)	3,26	3,26	3,26
	R^2	0,9985	0,9980	0,9986
	E_{MR}	-0,7530	-0,2616	0,2014
Difusão intra-partícula	K_d (mg.g ⁻¹ .min ^{-1/2})	7,4429	10,4230	10,5100
	R^2	0,9339	0,8966	0,9062

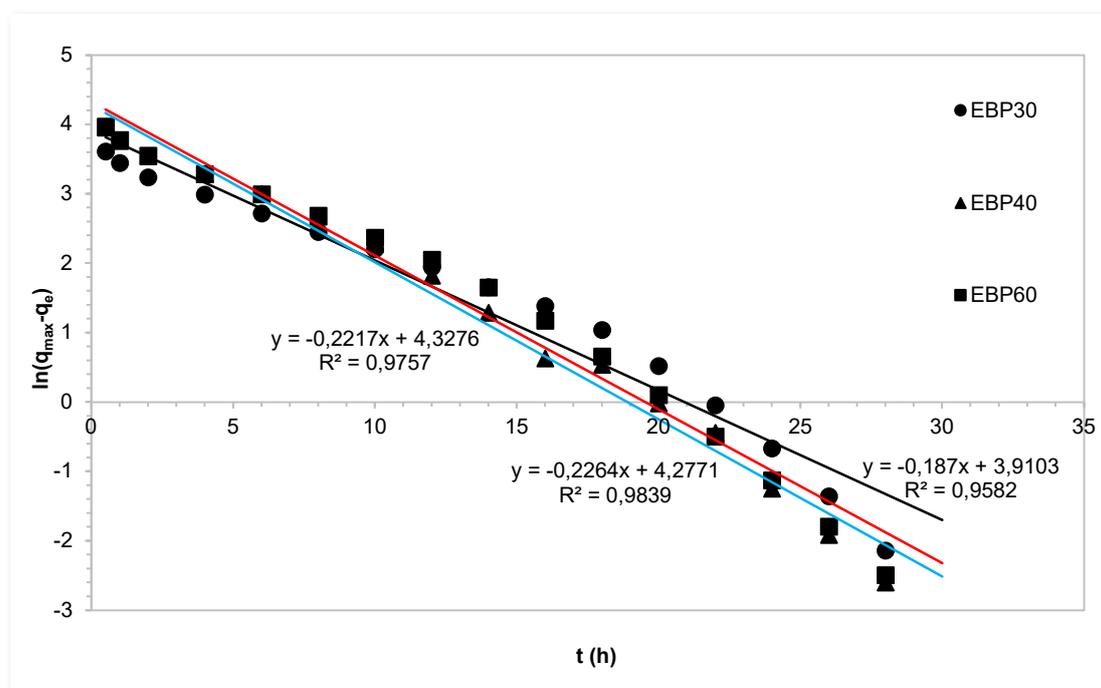


Figura 34. Cinética de pseudo primeira ordem da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).

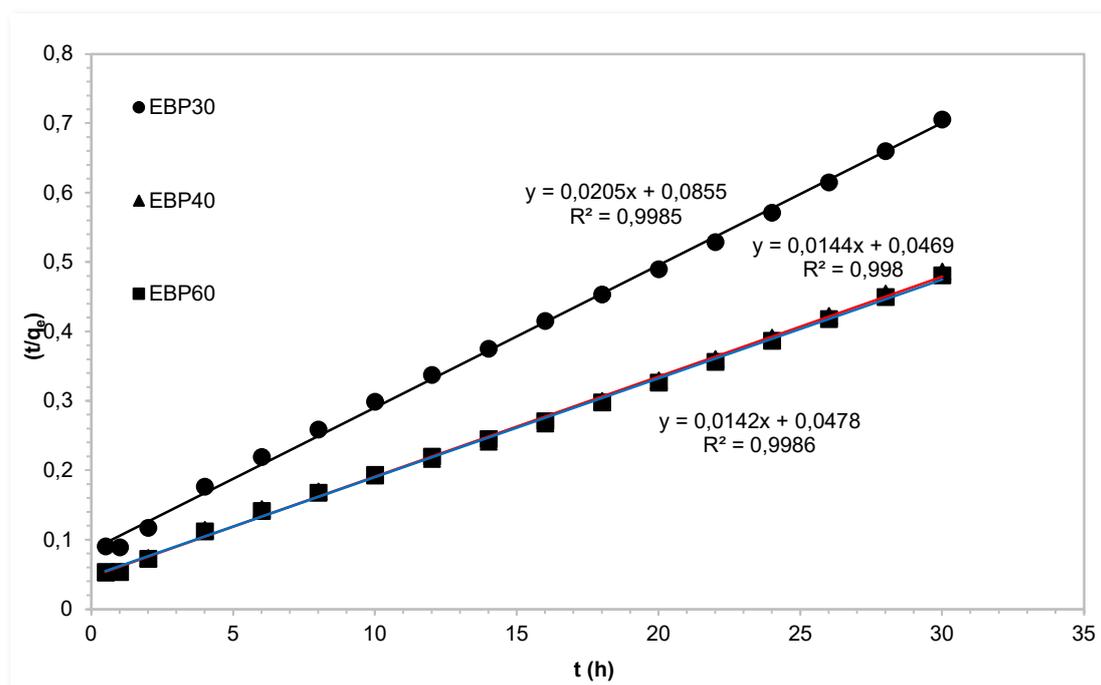


Figura 35. Cinética de pseudo segunda ordem da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).

Em um sistema líquido-sólido, a adsorção do soluto na partícula varia de acordo com uma fração da difusividade (D) dentro da partícula. O modelo de difusão intrapartícula (WEBER e MORRIS, 1963) foi aplicado para descrever a adsorção do EBP em AD550. Os valores da constante de velocidade (k_D) aumentam com o aumento da temperatura (Tabela 4.8), o que indica que a taxa de difusão é maior, favorecendo a disponibilidade de sítios ativos no processo de adsorção do EBP.

O gráfico de difusão intrapartícula (Figura 4.21) é curvado em um pequeno limite de tempo, pode ser devido ao efeito de transferência de massa. Na porção inicial da curva, indica o efeito de difusão do filme ou da camada limite, na porção linear, indica o efeito de difusão intrapartícula. A porção linear da parcela para uma ampla faixa de tempo de contato entre o adsorvente e o adsorvato não passa pela origem, o que sugere que a adsorção na superfície é significativa e que os poros adsorptivos estão na superfície do material adsorvente (GUPTA e BHATTACHARYYA, 2011). Essa variação da origem ou quase

saturação pode ser devida à variação da transferência de massa inicial e final na adsorção (PANDEY et al., 1986; MOHANTY et al., 2005).

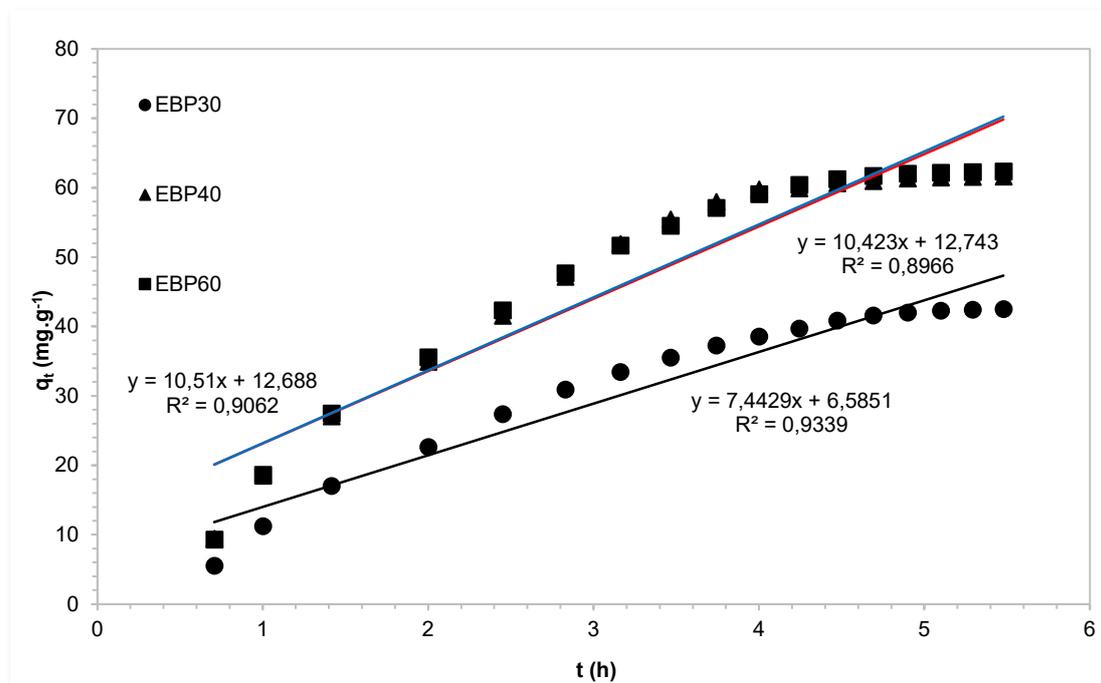


Figura 36. Difusão intrapartícula da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em AD550 a diferentes temperaturas.

4.3.6 Termodinâmica do Processo de Adsorção

Os parâmetros termodinâmicos, variação da energia livre de Gibbs (ΔG^0), variação de entalpia (ΔH) e variação de entropia (ΔS) a diferentes temperaturas (30, 40 e 60 °C) foram determinados a partir da inclinação e intercepção do gráfico de $\ln k_D$ versus $1/T$ (Figura 4.22), os resultados são apresentados na Tabela 4.9.

Os valores negativos de ΔG^0 para todas as condições de temperatura, indicam a natureza espontânea do processo de adsorção (HORSFALL et al., 2004). Valores positivos de ΔH^0 indicam a natureza endotérmica do processo de adsorção, ou seja, a capacidade de adsorção aumenta com o aumento da temperatura. Valores positivos de ΔS^0 , indicam a afinidade entre adsorvato/adsorvente e sugere um aumento do grau de desordem na interface

sólido-líquido com mudanças estruturais no adsorvato e no adsorvente (CHEN et al., 1994; YANG et al., 2005).

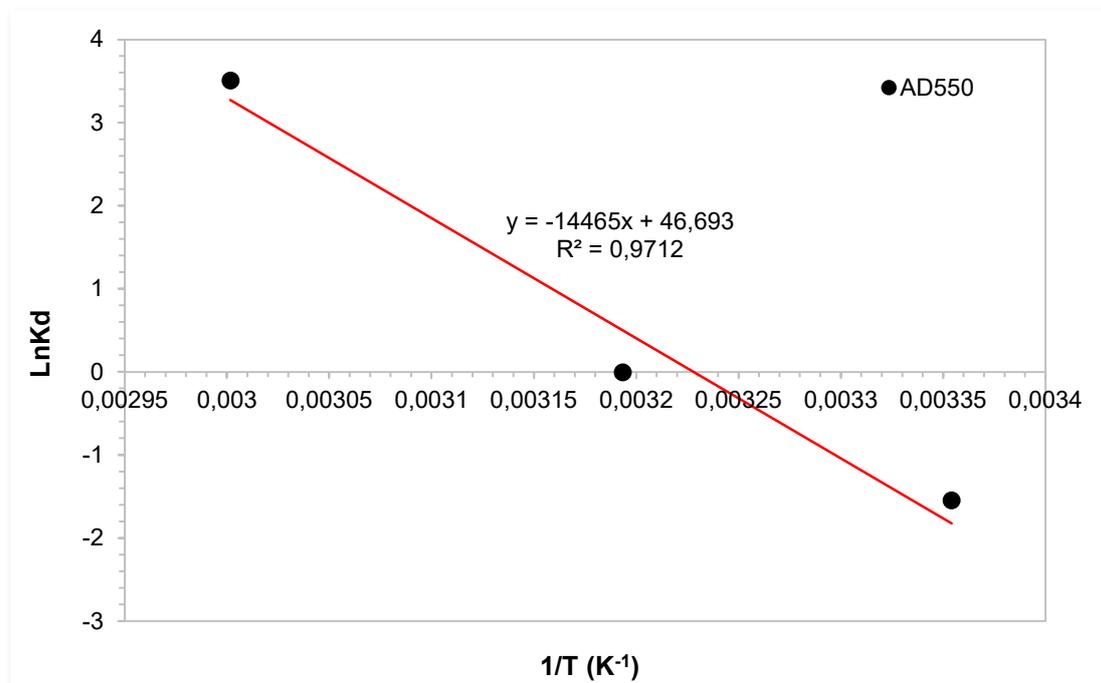


Figura 37. Determinação dos parâmetros termodinâmicos da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).

Tabela 14. Parâmetros termodinâmica da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP).

Amostra	T (K)	ΔG° (kJ.mol ⁻¹)	ΔS° (kJ.mol ⁻¹)	ΔH° (kJ.mol ⁻¹)	R ²
EBP30	303,15	-0,016			
EBP40	313,15	-3,965	0,3882	120,2620	0,9712
EBP60	333,15	-9,7079			

4.3.7 Adsorção em Coluna de Leito Fixo

4.3.7.1 Parâmetros do leito fixo

Na adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) usando alumina ativada (AD550) como adsorvente, curvas de saturação foram obtidas experimentalmente em duas temperaturas, 40 °C (EBP40) e 60 °C (EBP60). Os parâmetros tempo de ruptura (t_b), tempo de saturação (t_s), tempo de exaustão (t_e) e zona de transferência de massa (H_{MTZ}), aumentaram com o aumento da temperatura. A capacidade de adsorção a 50% da capacidade de ruptura ($t_{0,5}$), aumentou de 45.049,5 para 54.324 mg.g⁻¹ (Tabela 4.10).

O tempo de ruptura (t_b) diminuiu com o aumento da temperatura, por outro lado, houve aumento do tempo de saturação (t_s), da quantidade adsorvida (m_{total}), da porcentagem de remoção e do volume total. Isso sugere que os sítios ativos de ligação do AD550 foram ocupados pelo adsorvato, resultando na saturação do adsorvente com o aumento do tempo de saturação (t_s) do EBP. As curvas de avanço para a adsorção do EBP são mostradas na Figuras 4.23 e 4.24.

Tabela 15. Parâmetros da curva de avanço para a adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo.

Parâmetros	EBP40	EBP60
q_b (mg.g-1)	124,83	110,78
q_s (mg.g-1)	2.246,78	2.250,00
V_b (L)	2,18	1,98
V_s (L)	6,01	7,31
t_b (min)	736,80	703,20
t_s (min)	421,80	1.637,40
t_e (min)	2.002,20	2.414,40
$t_{0,5}$ (mg.g-1)	45.049,50	54.324,00
H_{MTZ} (cm)	5,69	6,38
m_{total} (mg)	2.286,25	2.321,75
%Removal	91,45	92,87

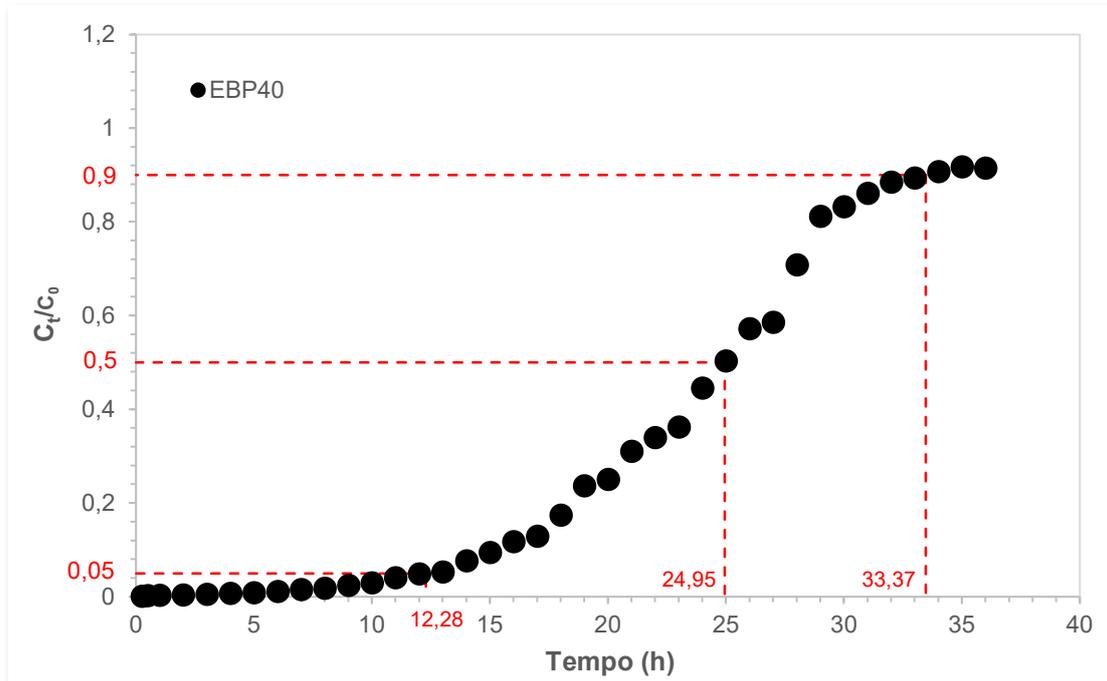


Figura 38. Curvas de avanço da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$).

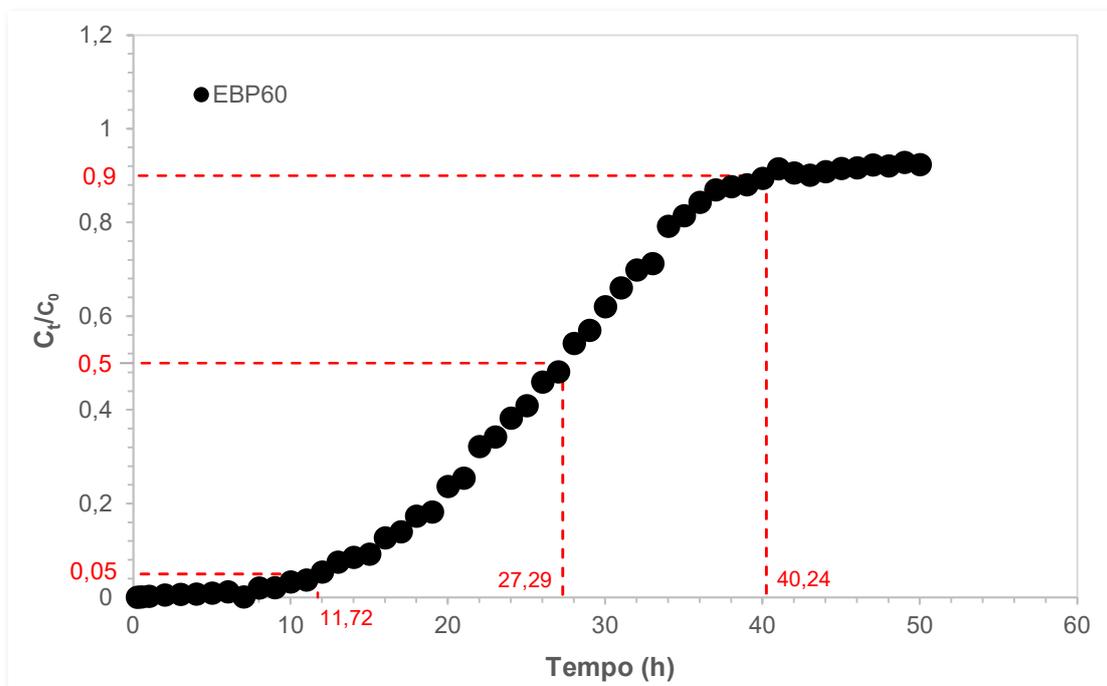


Figura 39. Curvas de avanço da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) em coluna de leito fixo ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4.3.7.2 Estudo Dinâmico da Coluna

Os dados experimentais das curvas de avanço (Breakthrough) foram ajustados usando os modelos linear de Thomas, Adams-Bohart e Yoon-Nelson. Os parâmetros para os diferentes modelos ajustados e as condições avaliadas, juntamente com o coeficiente de determinação (R^2) são mostrados na Tabela 4.11.

Tabela 16. Parâmetros de adsorção em coluna de leito fixo das amostras EBP40 e EBP60

Modelos	Parâmetros	EBP40	EBP60
	Thomas	$q_{e,exp}$ (mg.g ⁻¹)	2.286,25
$q_{0,calc}$ (mg.g ⁻¹)		2.042,56	2.432,46
K_{Th} (L.mg ⁻¹ .h ⁻¹)		9,57E-05	7,19E-05
R^2		0,9962	0,9617
E_{MR}		0,3140	-0,0962
Bohart-Adams	K_{AB} (L.mg ⁻¹ .min ⁻¹)	2,15E-03	2,35E-03
	N_0 (mg.g ⁻¹)	2501,01	2501,01
	R^2	0,9550	0,8424
	E_{MR}	-0,2260	-0,1463
Yoon-Nelson	K_{YN} (min ⁻¹)	6,96E-03	1,22E-02
	$t_{(0,5)exp}$ (min)	34,38	19,22
	$t_{(0,5)calc}$ (min)	14,05	6,46
	R^2	0,9962	0,9617
	E_{MR}	3,8100	3,8005

O modelo de Thomas pressupõe um comportamento do leito em fluxo contínuo e usa a isoterma de Langmuir para o equilíbrio e a cinética de reação de segunda ordem. A capacidade máxima calculado pelo modelo Thomas (q_{Th}) é menor na temperatura de 40 °C (EBP40) e maior na temperatura de 60 °C em relação aos valores experimentais. Os valores de R^2 variaram de 0,9617 (EBP40) e 0,9962 (EBP60). Os valores da taxa de adsorção diminuíram com o aumento da temperatura. Isso sugere que a força motriz para a adsorção é a diferença nas concentrações entre o EBP no adsorvente e na solução. A forma

linear do modelo de Thomas nas diferentes condições (EBP40 e EBP60) é mostrada nas Figuras 4.25 e 4.26.

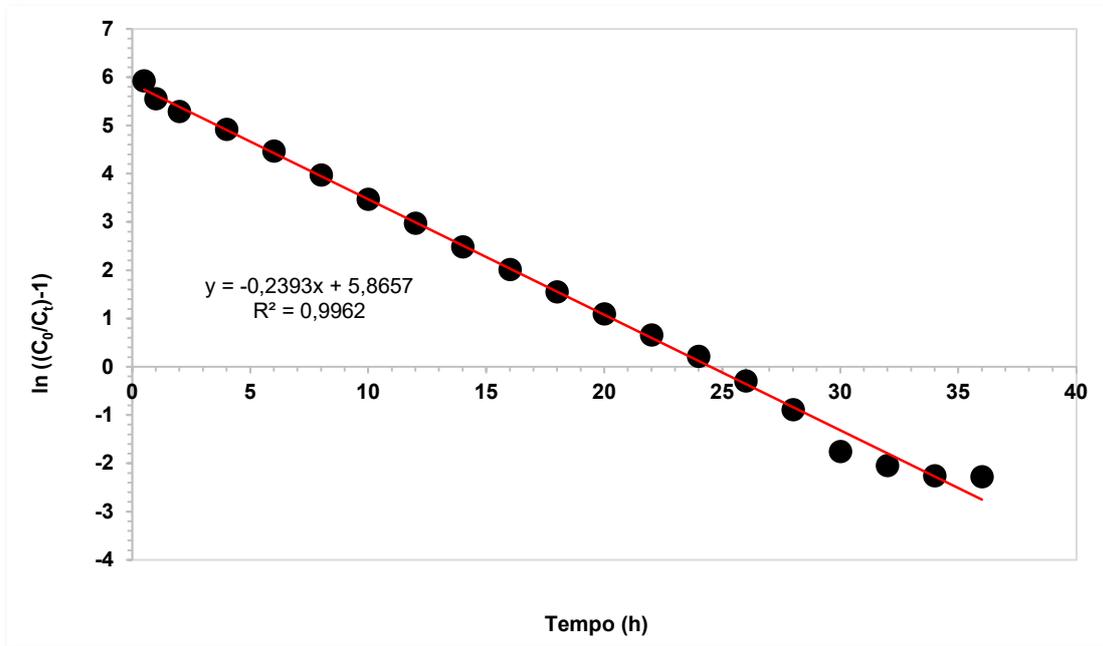


Figura 40. Linearização do modelo de Thomas da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).

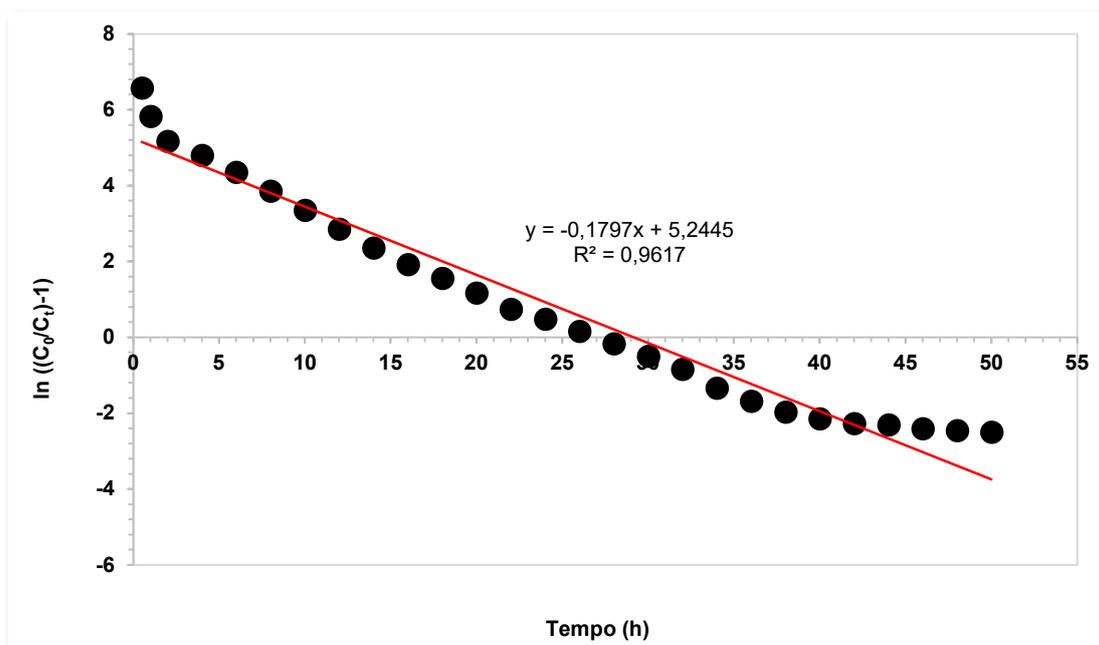


Figura 41. Linearização do modelo de Thomas da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60).

O modelo de Adams-Bohart é adequado para reproduzir o comportamento inicial da curva de avanço, neste estudo, o ajuste foi realizado para 5% da concentração inicial (2500 mg.L^{-1}). O gráfico linear do modelo nas duas condições estudadas EBP40 e EBP60 é mostrado nas Figuras 4,27 e 4,28. Os resultados da regressão linear (Tabela 4.11), juntamente com os coeficientes de correlação (R^2), mostram o aumento da capacidade de adsorção (N_0) e a constante cinética (k_{AB}) aumentaram com o aumento da temperatura.

Os dados que melhor se ajustaram ao modelo foram obtidos na temperatura de 40°C (EBP40). Os valores de R^2 variaram entre 0,9550 (EBP40) e 0,8424 (EBP60). Para este modelo, um bom ajuste dos dados experimentais indica que a difusão da superfície é o passo limitante do processo de adsorção. O modelo fornece uma abordagem simples e abrangente para a avaliação dos testes de coluna de adsorção, é limitado às condições utilizadas experimentalmente. Os dados sugerem que a cinética da adsorção do EBP é de segunda ordem, reversível e dominada pela transferência de massa externa sem dispersão axial.

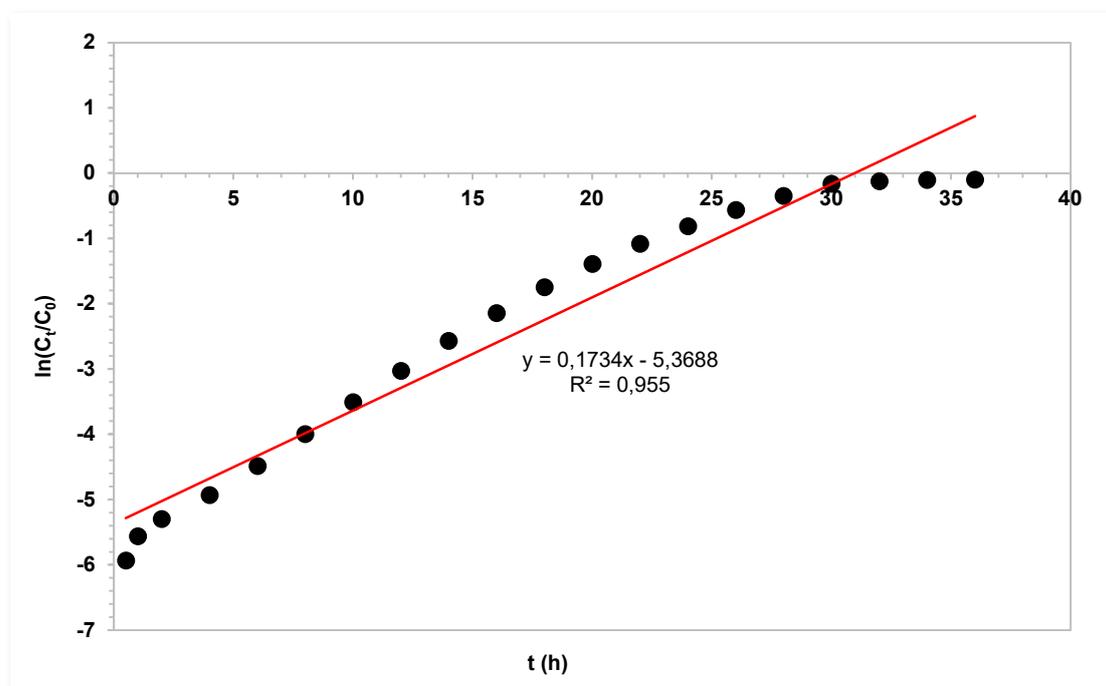


Figura 42. Linearização do modelo de Adams-Bohart da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).

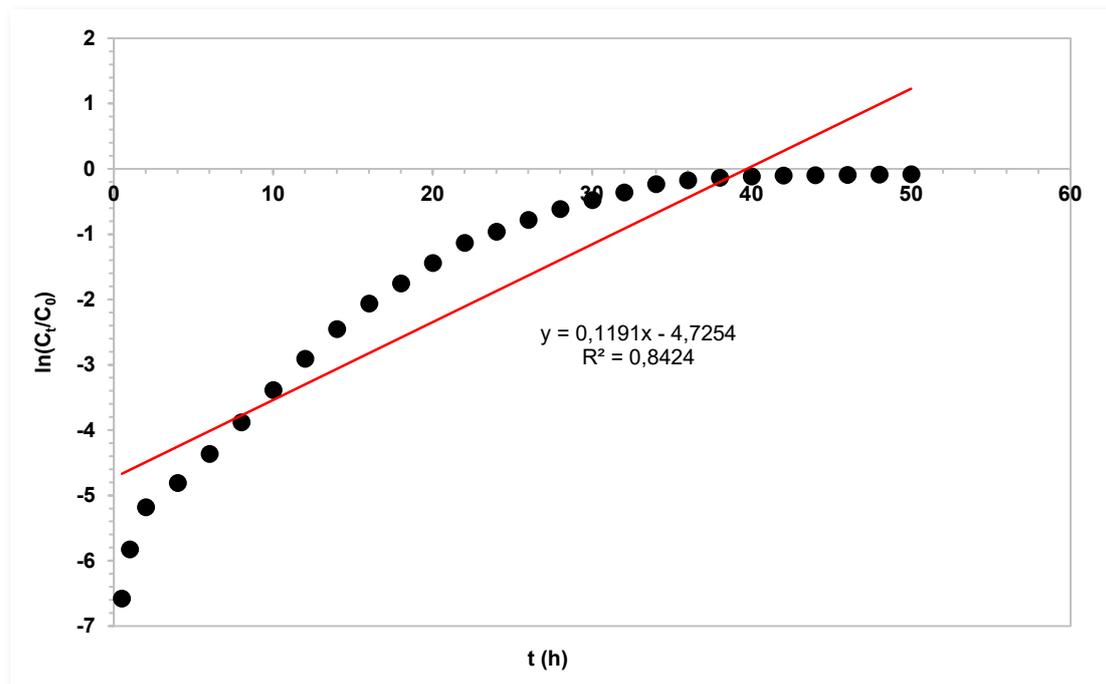


Figura 43. Linearização do modelo de Adams-Bohart da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60)

O modelo de Yoon-Nelson pressupõe que a taxa de redução da probabilidade de adsorção da molécula adsorvente seja proporcional à probabilidade de adsorção do adsorvente e à concentração de adsorvente no momento da ruptura. Sua utilização permite determinar o tempo requerido para o adsorvente em leito atingir a saturação de 50% sem a necessidade de dados específicos do sistema como características do adsorvato/adsorvente assim como as propriedades físicas do leito de adsorção.

Na Tabela 4.11 são mostrados os parâmetros obtidos no ajuste do modelo. O aumento da constante cinética (k_{YN}) para o EBP40 e EBP60 pode estar associado ao aumento da competição das moléculas do EBP pelos sítios adsorptivos com a maior concentração de moléculas em solução, provocando a redução do tempo de saturação ($t_{0,5}$) de 34,38 min (EBP40) para 19,22 min (EBP60). Outra possibilidade, é o aumento da dispersão (D) no sistema, o que tende a provocar a redução do tempo de ruptura. Os dados experimentais se justaram ao modelo com coeficientes de correlação entre 0,9962 (EBP40) e 0,9617 (EBP60), respectivamente.

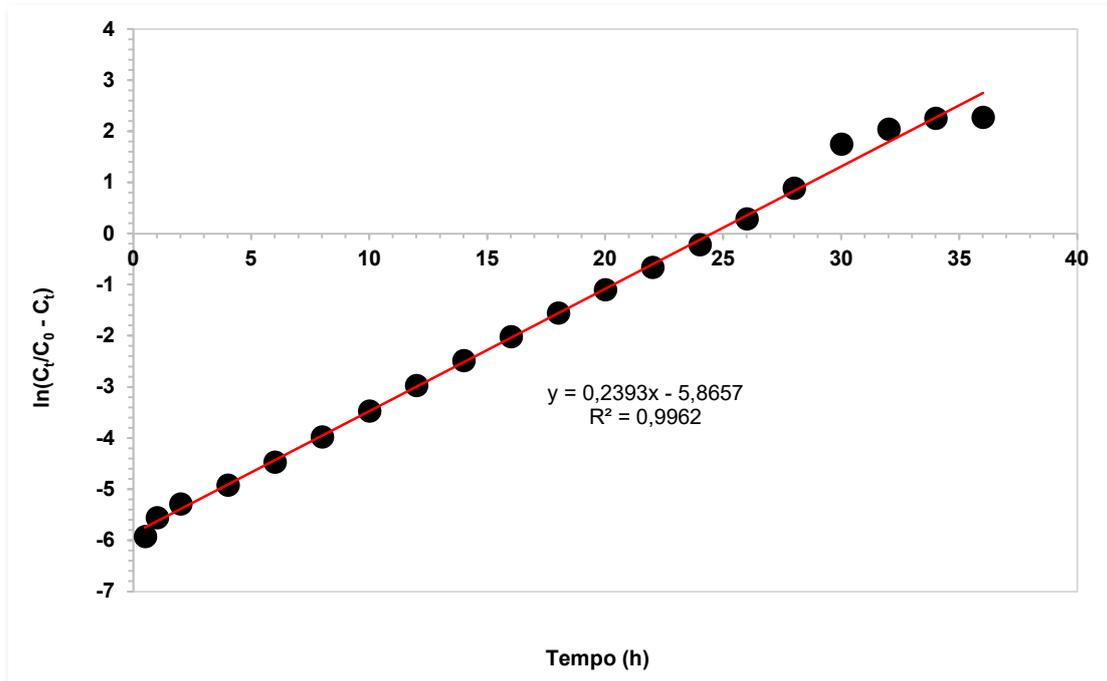


Figura 44. Linearização do modelo de Yoon-Nelson da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP40).

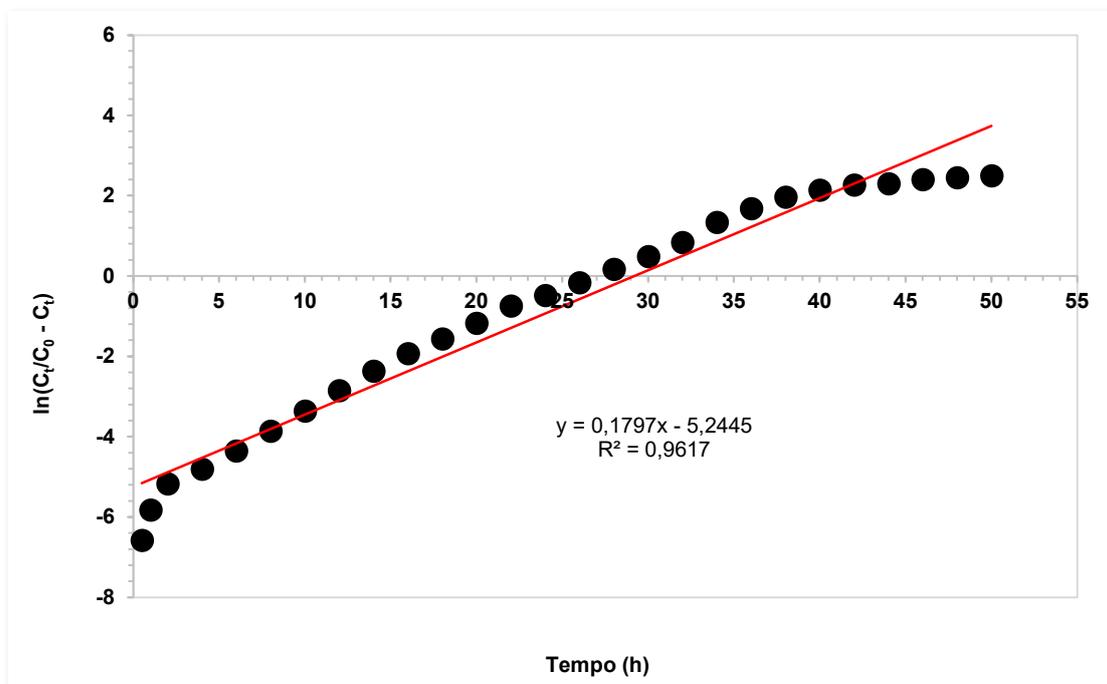


Figura 45. Linearização do modelo de Yoon-Nelson da adsorção do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP60).

4.3.8 Análise Química

Com o objetivo de se comparar a composição química dos extratos antes e depois da realização dos experimentos de adsorção, foi realizado um gradiente exploratório, conforme descrito no item 3.2.5.6. Nas Figuras 4.31 e 4.32, são mostrados os perfis cromatográficos do EBP ($C_0 = 2500 \text{ mg.L}^{-1}$), antes e depois dos experimentos de adsorção após h , para as condições EBP40 e EBP60.

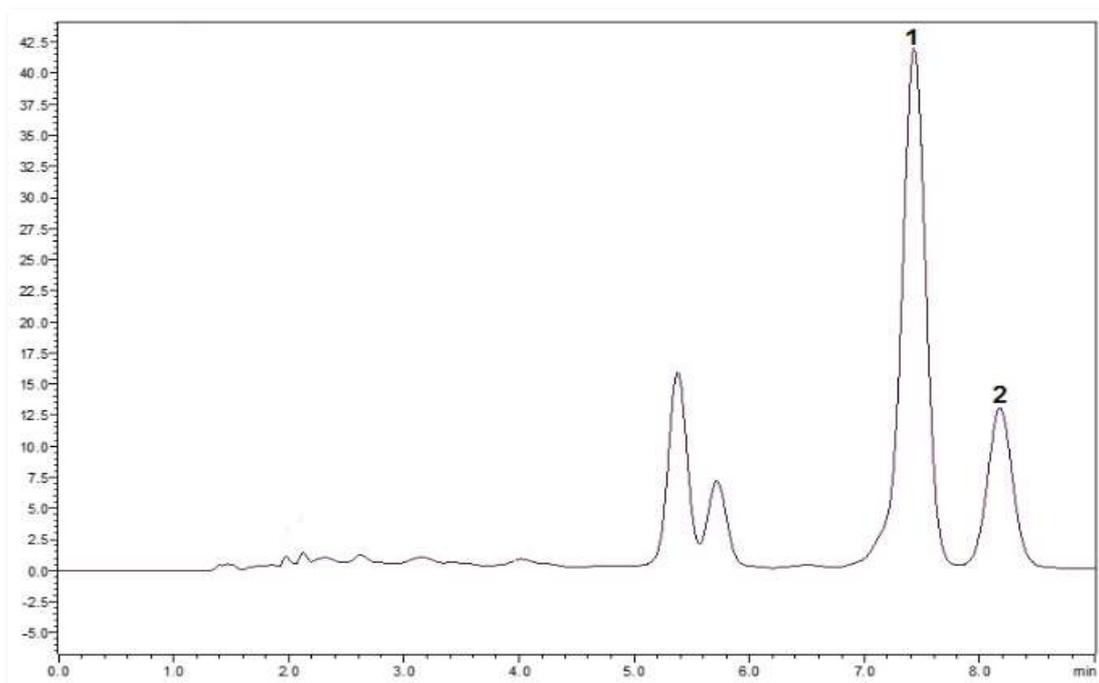


Figura 46. Perfil cromatográfico do EBP. (1) Rotenona e (2) Deguelina
Detecção de UV ($\lambda = 293 \text{ nm}$).

Conforme pode ser observado na Figura 4.31, mostra uma boa separação para as substâncias **1** e **2**, com um tempo de análise curta ($T_R > 10 \text{ min}$), a diferença quantitativa para um pico em torno de 7,5 min (rotenona) em relação ao em torno de 8,3 min (deguelina), quando comparado ao cromatograma da Figura 4.32, que apresentaram tempo de retenção (t_R) muito próximos, eluindo em 8,07 e 8,49 min (rotenona e deguelina) (EBP40) e 6,90 e 7,43 (EBP60) rotenona e deguelina), respectivamente. Após os testes de adsorção em coluna em leito fixo, a percentagem retida foi de 262,5 mg.100 g^{-1} (rotenona) e 140,02 mg.100 g^{-1} (deguelina) para a condição EBP40 e de 311,61

mg.100 g⁻¹ (rotenona) e 169,23 mg.100 g⁻¹ (deguelina) para a condição EBP60, respectivamente.

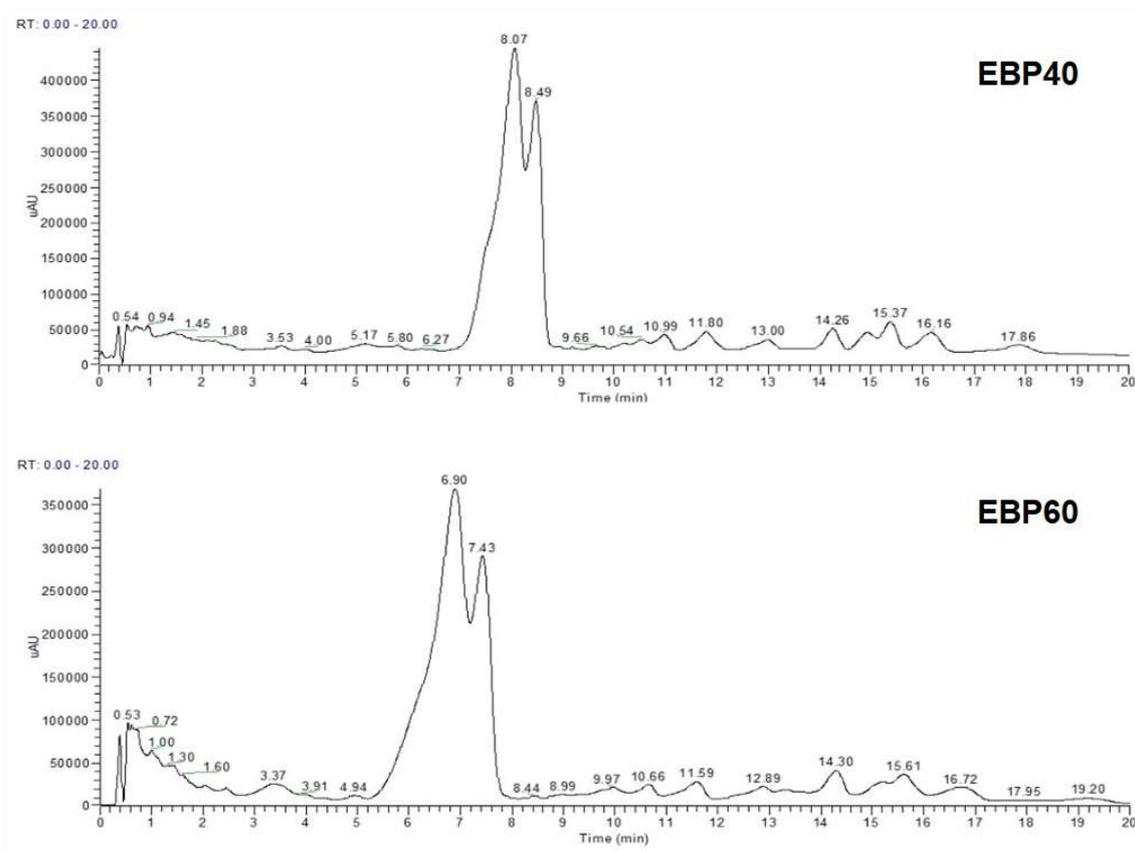


Figura 47. Perfil cromatográfico do EBP após testes de adsorção para as amostras EBP40 e EBP60. Detecção de UV ($\lambda = 293$ nm).

A análise por espectroscopia de massa das amostras EBP40 e EBP60 (Figura 4.33), apresentou 5 valores de m/z para C1: $m/z = 152,76$, $m/z = 180,68$, $m/z = 224,22$, $m/z = 1367,19$ e $m/z = 393,93$ (rotenona), e 4 valores de m/z para C2: $m/z = 224,10$, $m/z = 316,4$, $m/z = 393,23$, $m/z = 293,23$ (rotenona) e $m/z = 410,59$.

A rotenona é uma molécula em forma de V com um ângulo de 78,7 (DI DONNA, et al., 2005), essa conformação espacial resulta em tensão molecular levando à clivagem nas posições 6 e 12 compatíveis com os íons de fragmentação m/z 192 e 203 (YANG et al., 2003). Os mesmos íons de fragmentação foram observados para a deguelina, sugerindo a mesma conformação espacial em forma de V. Para a rotenolona, em contraste,

observamos intensa fragmentação de íons de $m/z = 365$, 336 e 334 correspondendo a diferentes clivagens do íon $m/z 393$.

As transições mais intensas foram escolhidas para permitir a detecção seletiva dos rotenóides nos extratos EBP, EBP40 e EBP60. As transições de íon precursor-produto monitoradas foram $m/z 395 \rightarrow 192$ para rotenona e deguelina, $m/z 393 \rightarrow 365$ para rotenolona, e $m/z 397 \rightarrow 192$ para o SI.

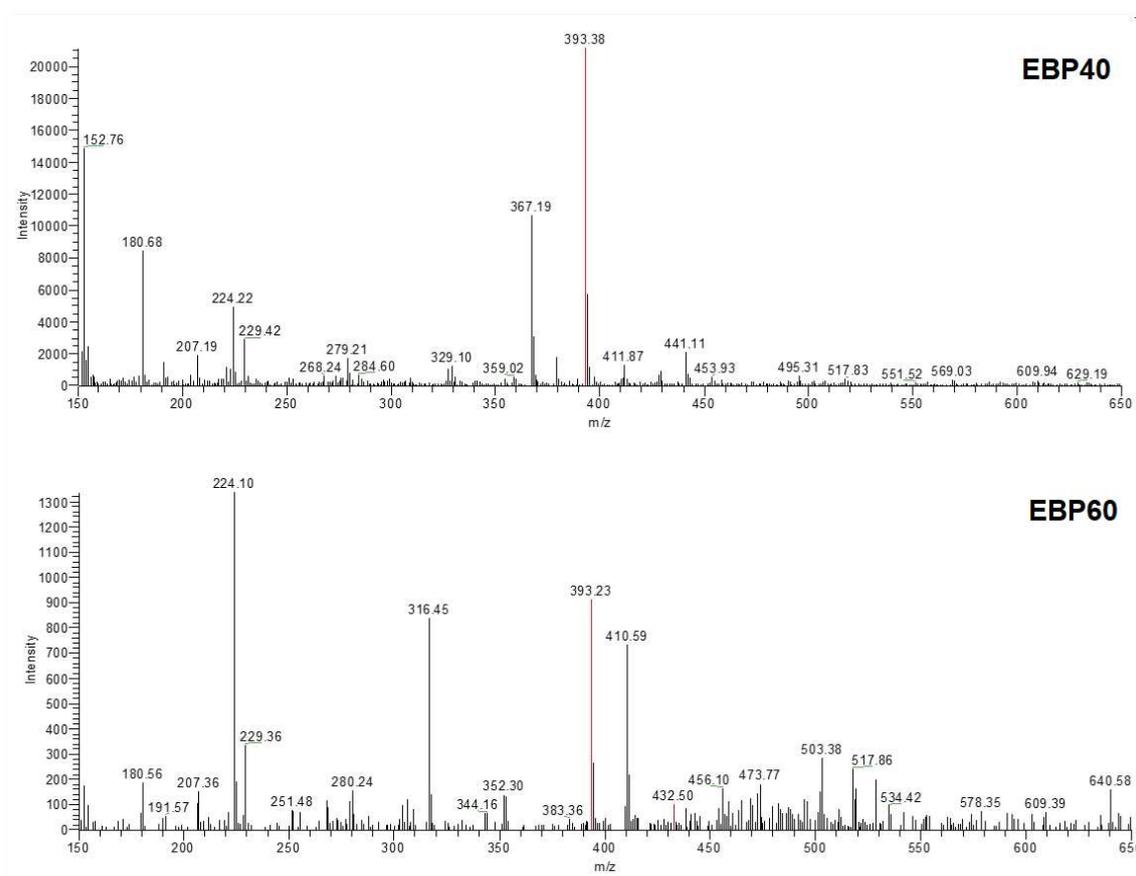
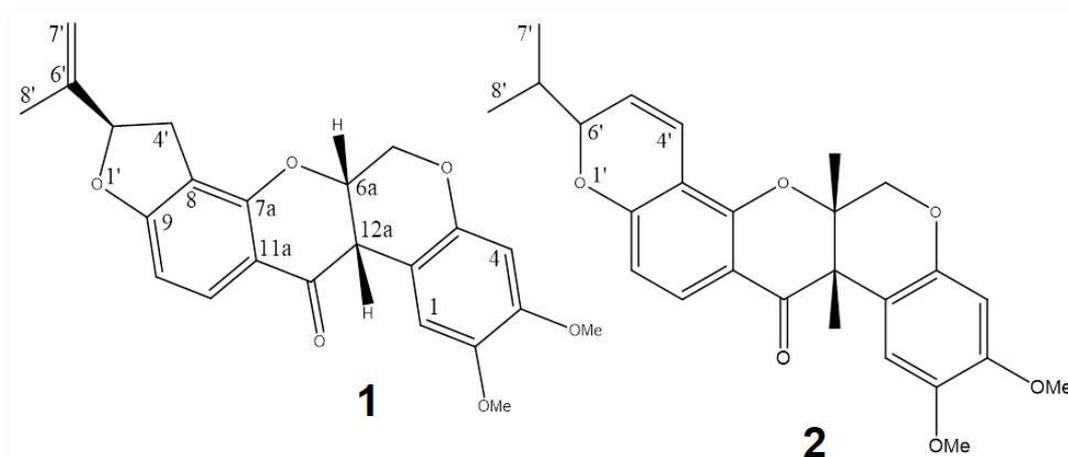


Figura 48. Espectro de massa do EBP após testes de adsorção para as amostras EBP40 e EBP60.

4.4 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS 1 E 2

As substâncias isoladas das frações hexano/acetato de etila (5:5) dos extratos obtidos por percolação (EBPFHAE2) e por fluido supercrítico (SFEFHAE2) da raiz do Timbó foram identificadas como rotenona (1), pó branco morfo e deguelina (2), pó amarelo amorfo. As substâncias **1** e **2** tiveram sua estrutura elucidada a partir das análises de dados de RMN ^1H e ^{13}C .



O espectro de RMN ^1H da substância **1** (Figuras 4.34, 4.35) exibe sinais em dupletos na região de δ 5,24 ppm (1H, t, $J = 9,3$ Hz), exibe um sinal correspondente a um hidrogênio na posição 5'. Os sinais em δ 4,92 e 3,84 ppm (s, d, $J = 4,2$ Hz) são atribuídos aos hidrogênios olefínicos na posição *cis*. Na região de δ 3,76 e 3,81 ppm (1H, s), exibe sinais atribuídos a hidrogênios de dois grupos metoxílicos (OMe-2 e OMe-3), em δ 1,76 ppm um singlete referente a um hidrogênio da posição 8'.

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 4.36), exibe um sinal em δ 188,98 ppm, atribuído a uma carbonila. Os sinais em δ 129,99, 110,22, 104,91, 100,85, 87,85, 72,18 e 44,58 ppm, são atribuídos a carbonos metínicos. O sinal em δ 72,18 ppm corresponde a um carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado e o sinal em δ 66,27 ppm a um carbono metilênico e os sinais em δ 105,08; 109,45 e 113,12 a carbonos insaturados não hidrogenados.

Os sinais em δ 56,28 e δ 55,85 evidenciaram a presença de carbonos sp^3 oxigenados de grupos metoxila ligados a anel aromático (FURUKAWA, YOGO e WU, 1983), sendo associados aos sinais em δ 3,76 e 3,81 (3H, s) no espectro de RMN ^1H . Os sinais em δ 17,12 e δ 112,60 ppm, atribuídos a sinais de metilas, correlacionaram com os sinais em δ 1,76 e 5,07 ppm (H, s), respectivamente. Com base na análise desses espectros em conjunto com dados de RMN ^{13}C da literatura foi possível dizer que **1** como sendo a rotenona. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C são apresentados na Tabela 4.12.

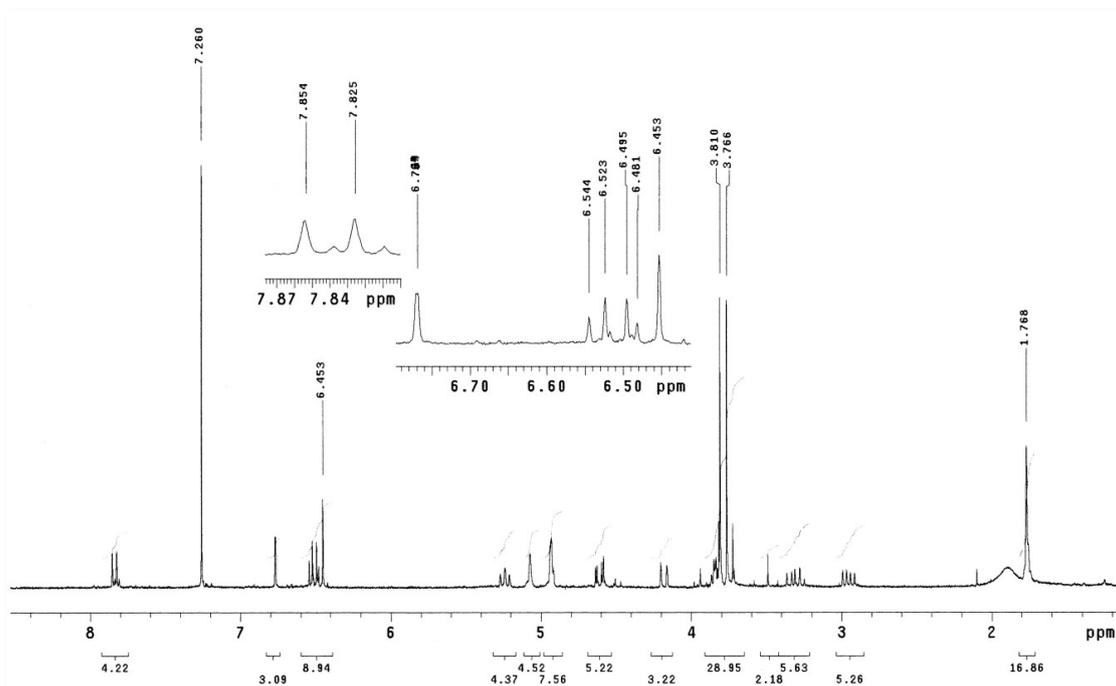


Figura 49. Espectro de RMN de ^1H da substância **1** (CDCl_3 , 300 MHz).

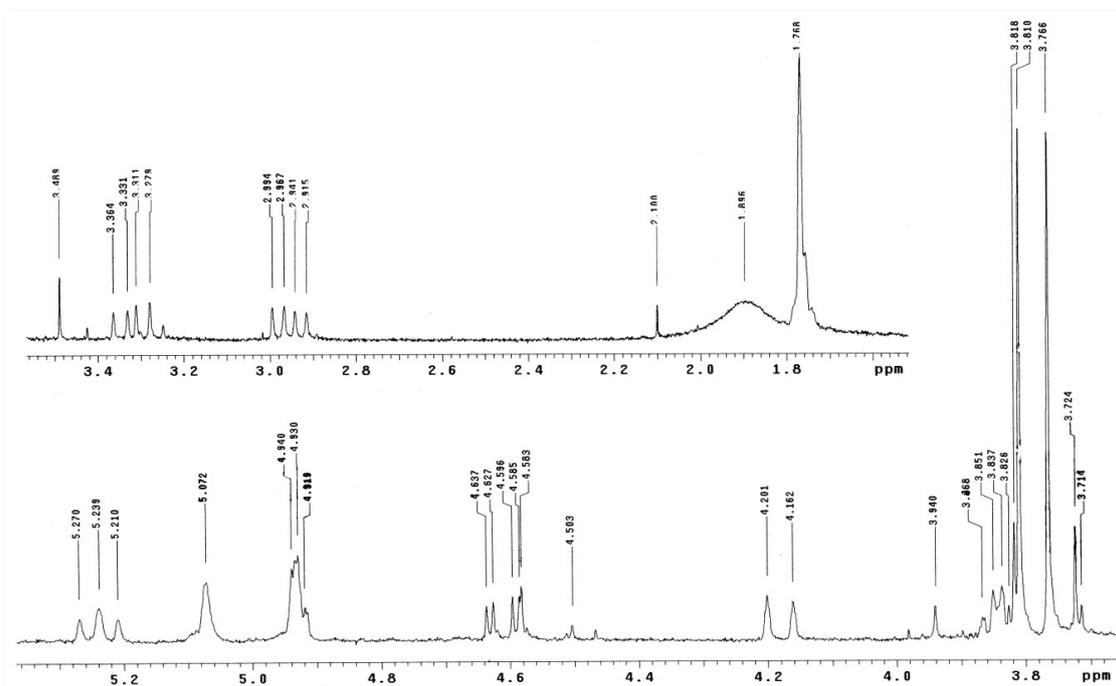


Figura 50. Espectro de RMN ^1H expandido da substância **1** (CDCl_3 , 300 MHz).

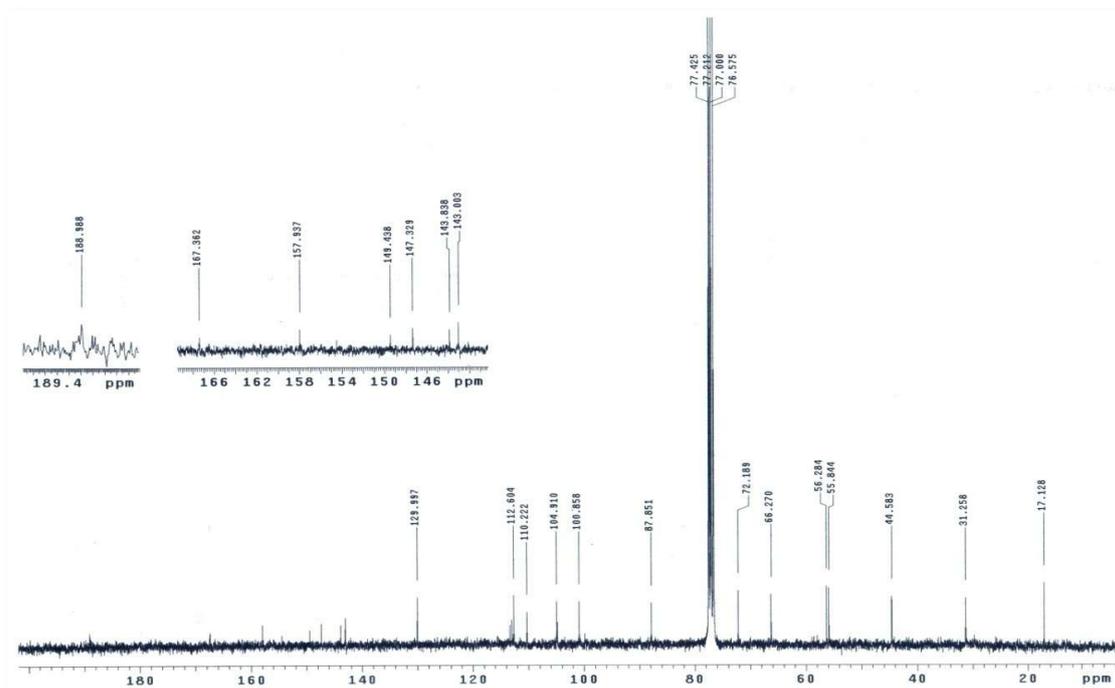


Figura 51. Espectro de RMN de ¹³C da substância 1 (CDCl₃, 75 MHz).

Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para a substância 1.

H/C	$^1\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$^2\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$^1\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$^2\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1a	-	-	104,90	104,80
1	6,76 (s)	6,77 (s)	110,22	110,40
2	-	-	143,83	143,90
3	-	-	143,43	149,50
4	6,45 (s)	6,45 (s)	100,85	100,90
4a	-	-	147,32	147,40
6 α	4,60 (dd, $J = 3$ e 12,6 Hz)	4,61 (dd, $J = 3,1$ e 12,0 Hz)	66,27	66,30
6 β	4,18 (d, $J = 11,7$ Hz)	4,18 (d, $J = 12,0$ Hz)	-	-
6a	4,92 (m)	4,92 (m)	72,18	72,20
7a	-	-	157,93	158,00
8	-	-	112,60	113,00
9	-	-	167,32	167,40
10	6,50 (d, $J = 8,4$ Hz)	6,50 (d, $J = 8,6$ Hz)	104,91	104,9
11	7,84 (d, $J = 8,7$ Hz)	7,84 (d, $J = 8,6$ Hz)	129,99	130,00
11a	-	-	112,60	113,40
12	-	-	188,98	189,00
12a	3,84 (d, $J = 4,2$ Hz)	3,84 (d, $J = 4,0$ Hz)	44,58	44,60
4'	3,32 (dd, $J = 9,9$ e 15,6 Hz)	3,32 (dd, $J = 9,8$ e 15,8 Hz)	31,25	31,30
	2,95 (dd, $J = 8,1$ e 15,9 Hz)	2,95 (dd, $J = 8,2$ e 15,8 Hz)	-	-
5'	5,24 (t, $J = 9,3$ Hz)	5,24 (t, $J = 9,0$ Hz)	87,85	87,90
6'	-	-	143,00	143,00
7'	5,07 (s)	5,07 (s)	112,60	112,30
	4,93 (s)	4,93 (s)	-	-
8'	1,76 (s)	1,77 (s)	17,12	17,20
2-OMe	3,76 (s)	3,77 (s)	56,28	56,30
3-OMe	3,81 (s)	3,81 (s)	55,85	55,90

(2) LAWSON, 2006.

O espectro de RMN ^1H da substância **2** (Figuras 4.37, 4.38) exibe sinais em dupletos na região entre δ 6,65 e 5,55 ppm (1H, d, $J = 10,2$ Hz), atribuídos aos hidrogênios olefínicos na posição *cis*. Esses dupletos são indicativos da presença do sistema dimetilcromeno na estrutura do composto. Os sinais em δ 4,20 ppm (1H, d, $J = 12,0$ Hz) e 4,64 ppm (1H, dd, $J = 3,3$ e 12,0), são atribuídos a um grupamento oximetileno, além de dois dupletos em δ 7,75 e 6,50 ppm (1H, $J = 9,2$ Hz), atribuídos aos hidrogênios H-10 e H-11. Na região de δ 3,76 ppm, exibe um sinal atribuído a uma metoxila (Ome-3), em δ 1,38 e 1,45 ppm (3H, s), atribuídos a sinais de metilas.

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 4.39), exibe um sinal em δ 189,4 ppm, atribuído a uma carbonila. Os sinais em δ 128,66, 128,55, 115,74, 111,48, 110,29, 100,87, 72,40 e 44,35 ppm, são atribuídos a carbonos metínicos. O sinal em δ 72,40 ppm corresponde a um carbono sp^3 oxigenado e hidrogenado e o sinal em δ 66,28 ppm a um carbono metilênico. Os sinais em δ 56,26 e δ 55,84 evidenciaram a presença de carbonos sp^3 oxigenados de grupos metoxila ligados a anel aromático (FURUKAWA, YOGO e WU, 1983), sendo associados aos sinais em δ 3,77 e 3,80 (3H, s) no espectro de RMN ^1H .

Os sinais em δ 28,48 e δ 28,13 ppm, atribuídos a sinais de metilas, correlacionaram com os sinais em δ 1,38 e 1,45 ppm (3H, s), respectivamente. Com base na análise desses espectros em conjunto com dados de RMN ^{13}C da literatura foi possível dizer que **2** como sendo a deguelina. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C são apresentados na Tabela 4.13.

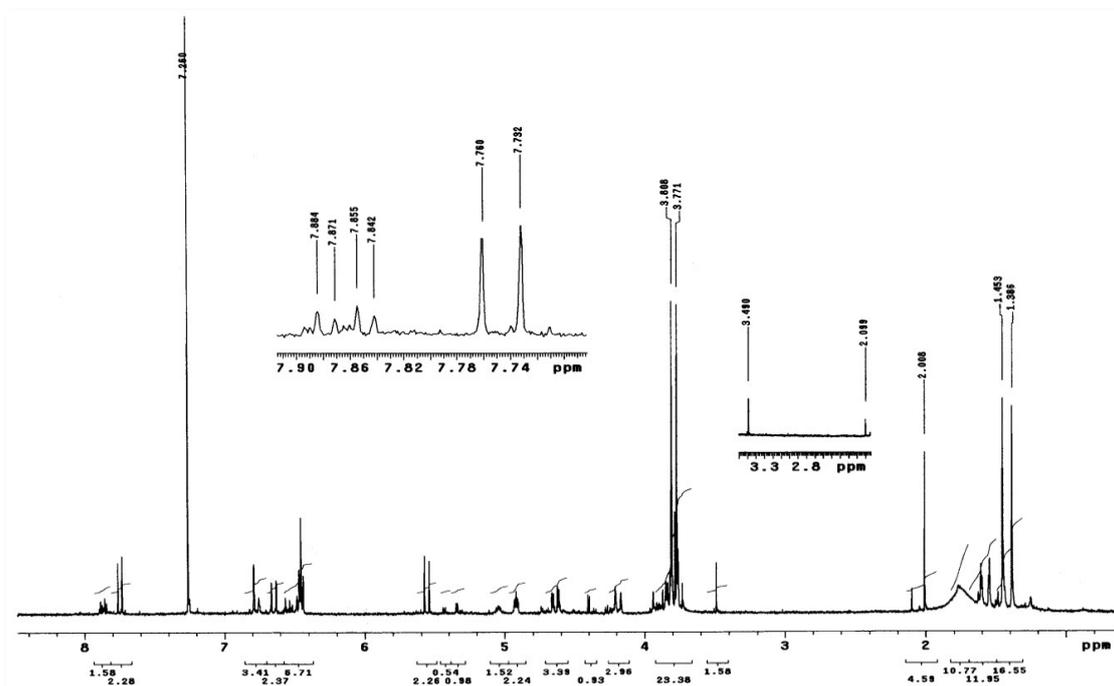


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H da substância 2 (CDCl_3 , 300 MHz).

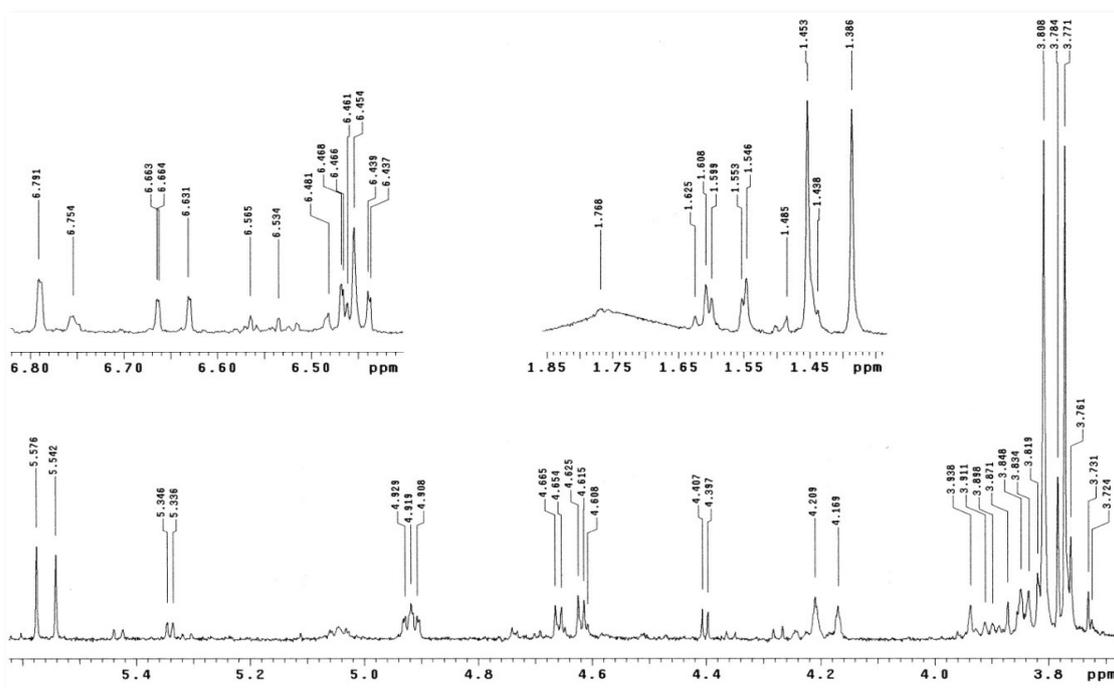


Figura 53. Espectro de RMN ^1H expandido da substância 2 (CDCl_3 , 300 MHz).

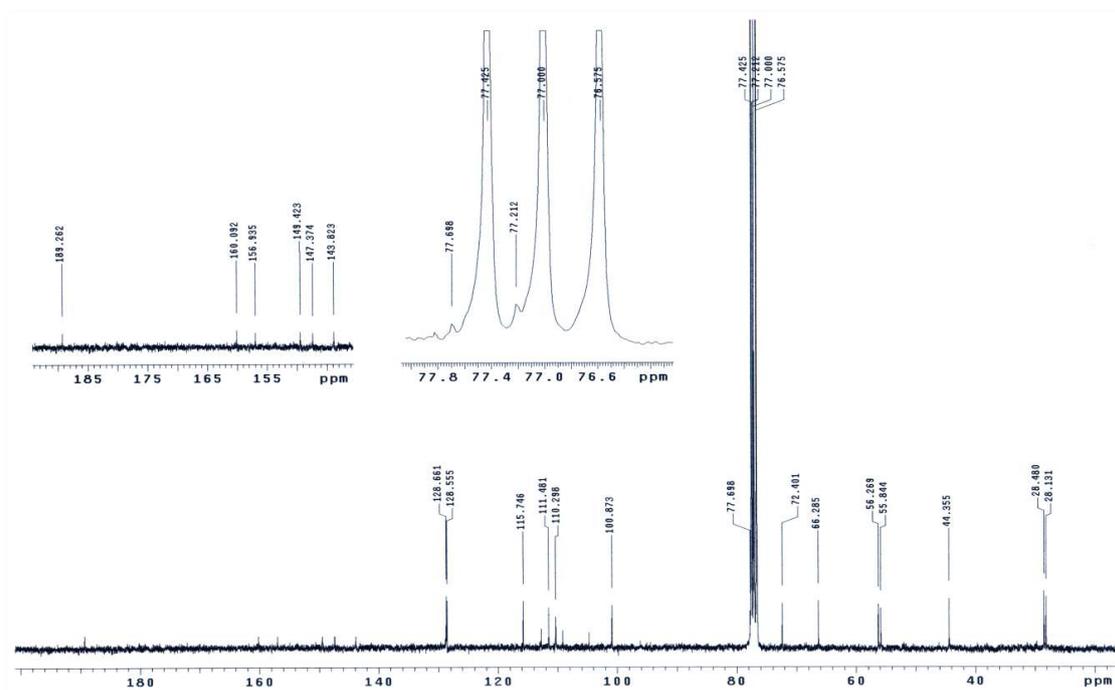


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 2 (CDCl_3 , 75 MHz).

Tabela 18. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para a substância **2**.

H/C	$^1\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$^2\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$^1\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$^2\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1a	-	-	104,90	104,80
1	6,79 (s)	6,79 (s)	110,29	110,40
2	-	-	143,82	143,90
3	-	-	149,42	149,50
4	6,45 (s)	6,45 (s)	100,87	101,00
4a	-	-	147,37	147,40
6 α	4,60 (dd, $J = 3,3$ e $12,0$ Hz)	4,64 (dd, $J = 3,1$ e $12,0$ Hz)	66,28	66,30
6 β	4,20 (d, $J = 12,0$ Hz)	4,18 (d, $J = 12,0$ Hz)	-	-
6a	4,91 (m)	4,92 (m)	72,40	72,40
7a	-	-	156,93	157,00
8	-	-	110,29	109,00
9	-	-	160,09	160,01
10	6,50 (d, $J = 8,7$ Hz)	6,45 (d, $J = 8,7$ Hz)	111,48	111,50
11	7,75 (d, $J = 8,4$ Hz)	7,75 (d, $J = 8,7$ Hz)	128,55	128,60
11a	-	-	112,90	112,80
12	-	-	189,26	189,20
12a	3,84 (d, $J = 4,2$ Hz)	3,84 (d, $J = 4,0$ Hz)	44,35	44,60
4'	6,65 (d, $J = 9,6$ Hz)	6,65 (d, $J = 10,1$ Hz)	115,74	115,80
	-	-	-	-
5'	5,55 (d, $J = 10,2$ Hz)	5,56 (d, $J = 10,1$ Hz)	128,66	128,70
6'	-	-	77,69	77,70
7'	1,38 (s)	1,39 (s)	28,13	28,20
	-	-	-	-
8'	1,45 (s)	1,45 (s)	28,48	28,50
2-OMe	3,77 (s)	3,77 (s)	56,26	56,30
3-OMe	3,80 (s)	3,81 (s)	55,84	55,90

(2) LAWSON, 2006.

4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FITOTÓXICO

4.5.1 Atividade Alelopática

Na Tabela 4.14, são apresentados os resultados dos ensaios alelopáticos de germinação de sementes e do desenvolvimento da radícula e do hipocótilo da planta invasora de pastagem *Mimosa pudica* (malícia), conforme metodologia descrita no Item 3.2.6.1. Foram submetidos a estes testes, o extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) e as frações, hexano/acetato de etila (8:2) (EBPFHAE1), hexano/acetato de etila (5:5) (EBPFHAE2), hexano/acetato de etila (2:8) (EBPFHAE3) e acetato de etila (1) (EBPFHAE4) na concentração de 1% (m/v). Os dados experimentais encontram-se no Apêndice X.

Tabela 19. Efeito inibitório do extrato metanoico das raízes de raiz de Timbó obtido por percolação e de suas respectivas frações sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia).

Extratos	Inibição (%)		
	Germinação	Radícula	Hipocótilo
EBP	55,17 ± 2,31	61,00 ± 0,07	55,97 ± 0,09
EBPFHAE1	1,72 ± 1,00	8,00 ± 0,14	6,92 ± 0,05
EBPFHAE2	46,55 ± 2,08	55,00 ± 0,07	42,77 ± 0,02
EBPFHAE3	44,83 ± 1,53	46,00 ± 0,09	61,01 ± 0,00
EBPFHAE4	5,17 ± 1,15	7,00 ± 0,02	6,29 ± 0,02

De acordo com os resultados apresentados no teste de germinação de sementes, o extrato metanoico apresentou a maior atividade de inibição (55,17%). Os efeitos observados das inibições sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo foram de 61,00 e 55,00%, resultados referentes ao extrato metanoico. As frações hexano/acetato de etila (5:5) e hexano/acetato de etila (1) inibiram o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo em 55,00 e 61,01%, respectivamente. As inibições observadas sobre esses dois parâmetros para o extrato metanoico e para as frações acetato de etila (5:5) e (1) foram superiores às observadas sobre a germinação.

Na Tabela 4.15, são apresentados os resultados dos ensaios alelopáticos dos extratos da raiz de Timbó, obtidos por fluido supercrítico (SFE).

Foram submetidos a estes testes, extratos metanoicos das frações coletadas nos tempos de 15 (SFE15), 30 (SFE30), 60 (SFE60) e 90 (SFE90) minutos na concentração de 1% (m/v). Os dados experimentais encontram-se no Apêndice V.

Tabela 20. Efeito inibitório dos extratos da raiz de Timbó, obtidos por fluido supercrítico sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia).

Extratos	Inibição (%)		
	Germinação	Radícula	Hipocótilo
SFE15	39,66 ± 1,53	51,00 ± 0,07	50,94 ± 0,05
SFE30	48,28 ± 1,73	53,00 ± 0,02	52,83 ± 0,07
SFE60	56,90 ± 1,15	69,00 ± 0,02	60,38 ± 0,02
SFE90	63,79 ± 2,00	72,00 ± 0,05	65,41 ± 0,02

De acordo com os resultados apresentados no teste de germinação de sementes, os melhores resultados de atividade de inibição foram para os extratos das frações coletadas nos tempos de 60 (56,90%) e 90 minutos (63,79%). Em relação ao desenvolvimento da radícula e do hipocótilo houve variação no efeito de inibição para todos os extratos, sendo estes mais expressivos para as frações coletadas nos tempos de 60 e 90 minutos.

Na Tabela 4.16, são apresentados os resultados do perfil cromatográfico por CCD dos extratos das frações obtidos por fluido supercrítico, conforme descrito no Item 3.2.5.1. A análise química não apontou diferenças nas classes químicas entre o extrato metanoico e por fluido supercrítico.

Tabela 216. Perfil químico por CCD dos extratos da raiz de Timbó, obtidos por fluido supercrítico a T = 60 °C e P = 300 bar.

Espécie	Grupos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
EBP	+	-	+	+	+	-	-	-
Nota. (1) Terpenóides	(2) Alcalóides		(3) Cumarinas			(4) Flavonóides		
(5) Ácidos graxos	(6) Antraceno		(7) Triterpenóides			(8) Esteróides		

Na Tabela 4.17, são apresentados os resultados da composição química obtida por HPLC do extrato metanoico da raiz de Timbó, e das frações acetato de etila, bem como, dos extratos obtidos por fluido supercrítico, conforme descrito no Item 3.1.8.5. Os dados experimentais encontram-se no Apêndice X.

Tabela 227. Composição química dos extratos da raiz de Timbó submetidos aos ensaios alelopáticos sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia).

Amostra	Percolação		Amostra	CO ₂ Supercrítico	
	Rotenona (%)	Deguelina (%)		Rotenona (%)	Deguelina (%)
EBP	14,01	8,21	SFE15	8,60	7,73
EBPFHAE1	–	0,80	SFE30	18,26	13,50
EBPFHAE2	16,24	32,87	SFE60	29,19	22,95
EBPFHAE3	15,52	10,31	SFE90	37,14	29,79
EBPFHAE4	1,14	2,21	–	–	–

Quando comparado os resultados dos testes de germinação e do desenvolvimento da radícula e do hipocótilo com a composição química dos extratos e/ou frações obtidas por percolação e por fluido supercrítico, é possível dizer que os efeitos de inibição estão relacionados aos teores de rotenona e deguelina. Os resultados mais expressivos foram obtidos com o extrato da fração coletada no tempo de 90 minutos (extração supercrítica).

4.5.2 Atividade Antifúngica

Na Figura 4.40, são apresentados os resultados dos bioensaios antifúngicos do extrato metanoico da raiz de Timbó (EBP) e das frações, hexano/acetato de etila (8:2) (EBPFHAE1) hexano/acetato de etila (5:5) (EBPFHAE2), hexano/acetato de etila (2:8) (EBPFHAE3) e acetato de etila (1) (EBPFHAE4) na concentração de 1% (m/v). Os dados experimentais encontram-se no Apêndice X.

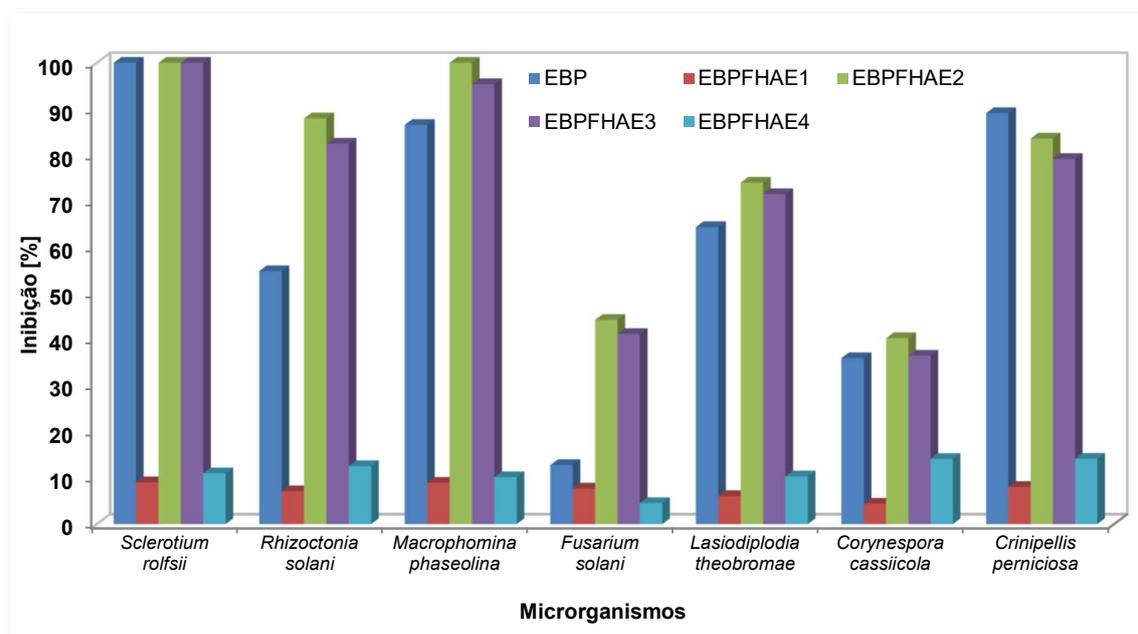


Figura 55. Efeito antifúngico do extrato metanolico da raiz de raiz de Timbó e das frações acetato de etila.

A atividade de inibição do extrato metanolico para os fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina* e *Crinipellis perniciosa* variou entre 54,91 e 89,11%, sendo total para o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*.

Para a fração hexano/acetato de etila (5:5), a atividade de inibição variou entre 74,07 e 87,96% para os fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Crinipellis perniciosa* e *Rhizoctonia solani*, sendo total para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*.

Para a fração hexano/acetato de etila (2:8), a atividade de inibição variou entre 71,57 e 95,37% para os fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Crinipellis perniciosa*, *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*, sendo total para o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*.

Os extratos das frações hexano/acetato de etila (8:2) e acetato de etila (1) submetidos à avaliação antifúngica apresentaram atividade de inibição abaixo de 10 e 15%, respectivamente.

A seguir, serão apresentados os resultados dos bioensaios antifúngicos dos extratos provenientes da extração por fluido supercrítico. Foram submetidos

a estes testes, os extratos das frações coletadas nos tempos de 15, 30, 60 e 90 minutos na concentração de 1% (m/v). Os dados experimentais encontram-se no Apêndice V, p.107 e V, p.108.

Para o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, todos os extratos das frações apresentaram atividade de inibição total. Na fração coletada no tempo de 15 minutos (Figura 4.41), os resultados mais expressivos de inibição foram para os fitopatógenos *Macrophomina phaseolina* (86,61%), *Lasiodiplodia theobromae* (85,93%), *Rhizoctonia solani* (66,76%) e *Crinipellis perniciosa* (61,67%).

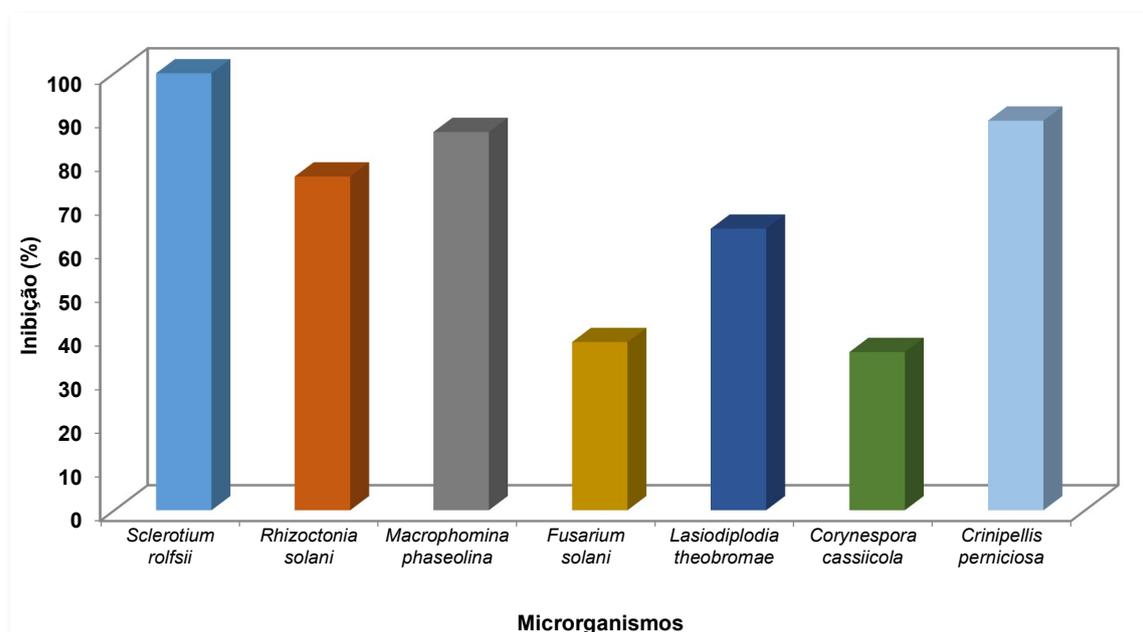


Figura 56. Atividade antifúngica do extrato da raiz de raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE15).

Na fração coletada no tempo de 30 minutos (Figura 4.42), os resultados mais expressivos de inibição foram para os fitopatógenos *Rhizoctonia solani* (100%), *Lasiodiplodia theobromae* (89,35%), *Macrophomina phaseolina* (88,89%), *Crinipellis perniciosa* (86,17%) e *Corynespora cassiicola* (60,36%). Na fração coletada no tempo de 60 minutos (Figura 4.43), os resultados mais expressivos de inibição foram para os fitopatógenos *Macrophomina phaseolina* (90,56%), *Lasiodiplodia theobromae* (87,69%) e *Crinipellis perniciosa* (84,09%). Na fração coletada no tempo de 90 minutos (Figura 4.44), os resultados mais

expressivos de inibição foram para os fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae* (83,80%), *Crinipellis perniciosa* (76,07%) e *Rhizoctonia solani* (65,00%).

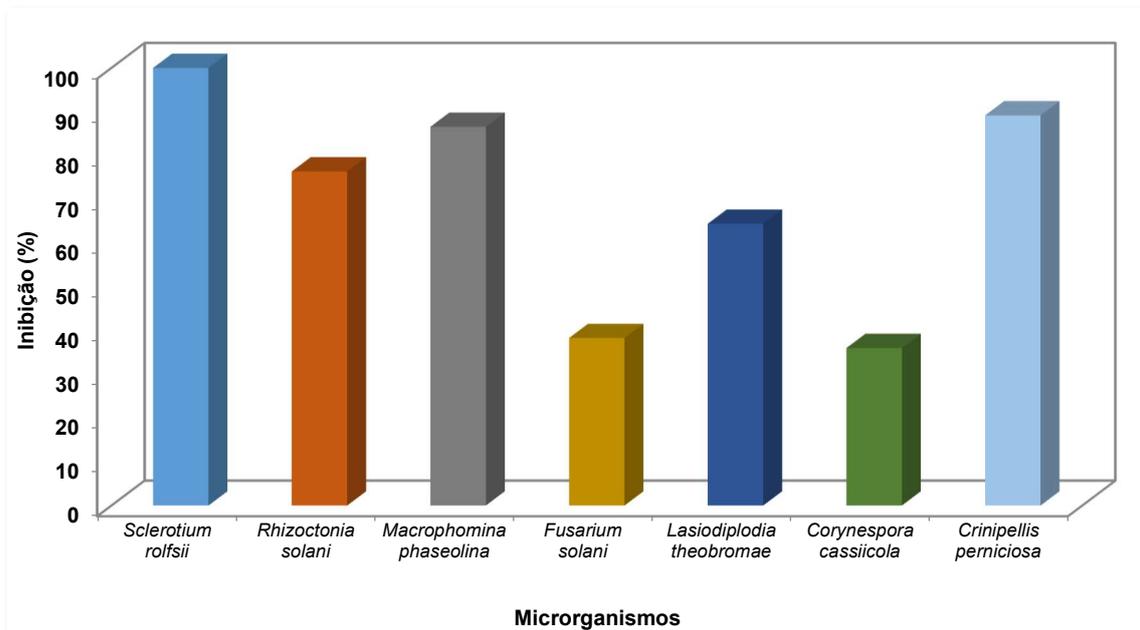


Figura 57. Atividade antifúngica do extrato da raiz Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE30).

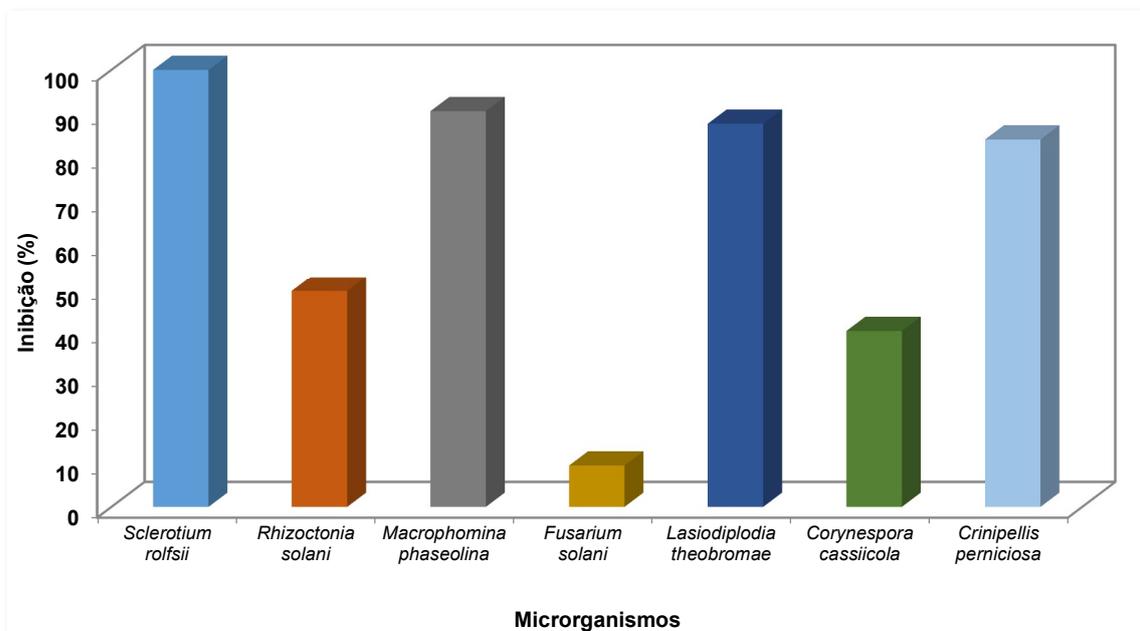


Figura 58. Atividade antifúngica do extrato da raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE60).

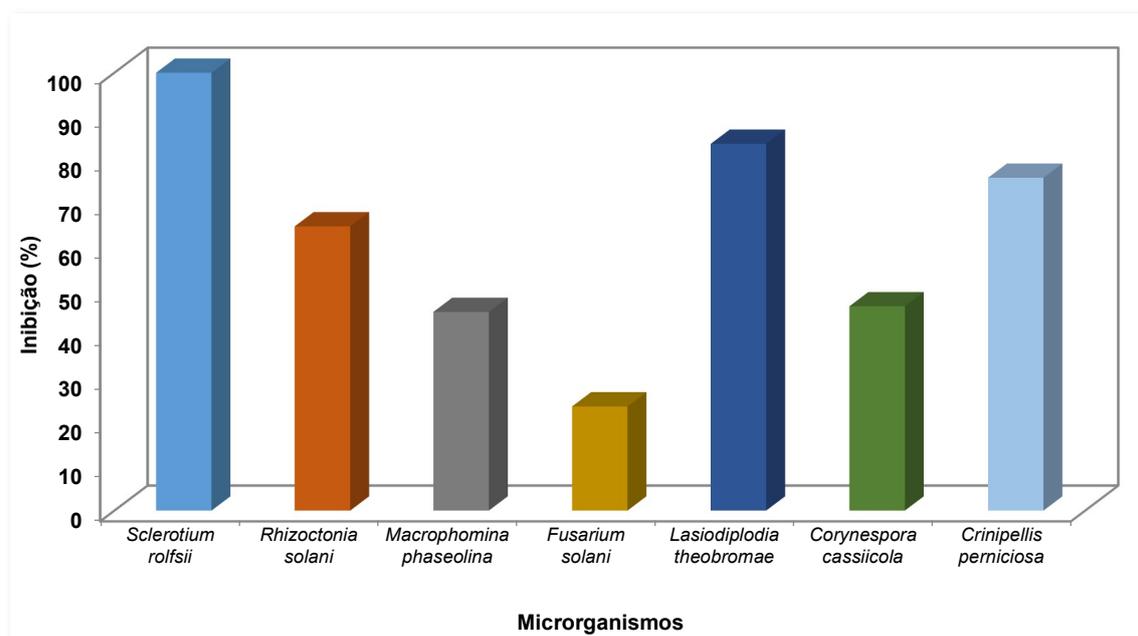


Figura 59. Atividade antifúngica do extrato da raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (SFE90).

As frações hexano/acetato de etila (5:5) e (2:8) provenientes do extrato metanoico da raiz de Timbó apresentaram valores de atividade de inibição superior para a maior parte dos fitopatógenos, sendo este igual ou menor para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* e *Crinipellis perniciosa*.

Para os extratos das frações provenientes da extração por fluido supercrítico, houve variação nos valores de atividade de inibição quando comparado ao extrato metanoico, com exceção para o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* que apresentou atividade de inibição total para todas as frações.

Na Tabela 4.18 são apresentados os resultados dos bioensaios antifúngicos das subfrações EBPFHAE2.1 e SFEFHAE2.1 das frações hexano/acetato de etila (5:5), provenientes do extrato metanoico e do obtido por fluido supercrítico da raiz de Timbó na concentração de 1% (m/v). Os dados experimentais encontram-se no Apêndice XV.

Para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Crinipellis perniciosa* os extratos das subfrações EBPFHAE2.1 e SFEFHAE2.1 apresentaram atividade de inibição total. Para os fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium solani* e *Corynespora*

cassicola, os resultados de inibição foram superiores para a subfração SFEEBPFHAE21.

Tabela 23. Efeito antifúngico das sub frações EBPFHAE2.1 e SFEFHAE2.1 das frações hexano/acetato de etila (5:5) do extrato alcoólico e do obtido por fluido supercrítico da raiz de Timbó.

Microrganismos	Inibição (%)	
	EBPFHAE21	SFEFHAE21
<i>Sclerotium rolfsii</i>	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Rhizoctonia solani</i>	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Macrophomina phaseolina</i>	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
<i>Fusarium solani</i>	47,52 ± 0,09	50,89 ± 0,09
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	79,72 ± 0,08	80,14 ± 0,06
<i>Corynespora cassicola</i>	44,60 ± 0,06	48,91 ± 0,16
<i>Crinipellis pernicioso</i>	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

4.5.3 Atividade Inibitória das Substâncias 1 e 2

Efeito Alelopático

Na Tabela 4.19 são apresentados os resultados referentes aos ensaios de germinação de sementes e do desenvolvimento da radícula e do hipocótilo da planta invasora de pastagem *Mimosa pudica* (malícia). O procedimento segue conforme descrito no Item 3.2.6.1. Foram submetidas a estes testes, soluções das substâncias identificadas **1** e **2** na concentração de 150 ppm. Os dados experimentais encontram-se nos Apêndices XXII e XXIII.

Tabela 24. Efeito inibitório das substâncias **1** e **2** sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia). Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

Substâncias	Inibição (%)		
	Germinação	Radícula	Hipocótilo
1	25,00 ± 2,12	13,00 ± 0,00	12,26 ± 0,04
2	27,59 ± 0,00	11,50 ± 0,00	13,21 ± 0,07

Nota: **1** (rotenona) e **2** (deguelina).

De acordo com os resultados apresentados no teste de germinação de sementes, as substâncias **1** e **2** apresentaram atividade de inibição de 25,00 e 27,59%, respectivamente. Em relação ao desenvolvimento da radícula e do hipocótilo, houve pouca variação no efeito de inibição das substâncias, ficando abaixo de 15%.

Efeito Antifúngico

Na Tabela 4.20, são apresentados os resultados dos bioensaios antifúngicos, conforme metodologia descrita no Item 3.2.7. Foram submetidas a estes testes, soluções das substâncias identificadas **1** e **2** na concentração de 150 ppm. Os dados experimentais encontram-se nos Apêndices XXII e XXIII.

Quando comparados os resultados dos bioensaios antifúngicos das substâncias **1** e **2** (Tabela 4.13) com os resultados obtidos com as subfrações EBPFAE2.1 e SFEFAE2.1, observou-se uma redução no efeito de inibição para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Crinipellis perniciosa* e um aumento da atividade de inibição para os fitopatógenos *Fusarium solani*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Corynespora cassiicola*.

Tabela 25. Efeito antifúngico das substâncias **1** e **2**.

Microrganismos	Inibição (%)	
	(1)	(2)
<i>Sclerotium rolfsii</i>	83,19 ± 0,14	84,03 ± 0,11
<i>Rhizoctonia solani</i>	82,64 ± 0,11	85,28 ± 0,09
<i>Macrophomina phaseolina</i>	82,08 ± 0,13	82,92 ± 0,09
<i>Fusarium solani</i>	63,84 ± 0,09	64,64 ± 0,09
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	81,25 ± 0,09	82,08 ± 0,07
<i>Corynespora cassiicola</i>	49,04 ± 0,09	51,44 ± 0,13
<i>Crinipellis perniciosa</i>	83,19 ± 0,06	81,67 ± 0,05

Nota: **1** (rotenona) e **2** (deguelina).

De acordo com a análise dos resultados dos bioensaios alelopáticos e antifúngicos, é possível dizer que o efeito de inibição das substâncias **1** e **2** não foi significativamente expressivo, como aqueles obtidos com as subfrações

EBPFHAE2.1 e SFEFHAE2.1. Isto sugere um possível efeito da concentração ou uma ação sinérgica de duas ou mais substâncias que quando atuam de forma separada em uma planta receptora ou em um microrganismo, não reproduzem o mesmo efeito que tinham numa mistura.

5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou avaliar os parâmetros do processo de extração dos princípios ativos da raiz de Timbó por diferentes métodos de extração, convencional (percolação a frio e Soxhlet) e por fluido supercrítico (CO₂). O rendimento médio dos extratos variou entre os métodos de extração, percolação a frio (11,30%), Soxhlet (23,77%) e CO₂ supercrítico (2,54%).

Nos extratos da raiz de Timbó foram identificados e quantificados por técnicas cromatográficas (CCD, CCVU, HPLC, LC-MS) e por espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C dois compostos principais, rotenona (**1**) e deguelina (**2**), sendo a composição média de: (**1**) 82,10 e (**2**) 40,10 mg.100 g⁻¹ (percolação), (**1**) 98,5 e (**2**) 47,7 mg.100 g⁻¹ (Soxhlet) e (**1**) 931,92 e (**2**) 739,73 mg.100 g⁻¹ (CO₂ supercrítico).

Na extração por fluido supercrítico, os teores de rotenona (37,14%) e deguelina (29,79%) foram de 11,35 e 18,45 vezes maior (60 °C, 30 Mpa, 3 h) em relação aos obtidos por percolação. No estudo da cinética de extração do sistema CO₂ + raiz de Timbó, permitiram constatar que no tempo de processo (*t_P*) estimado pela intersecção das retas da etapa *CER* e *DC*, foi possível extrair 94% de extrato (*t_{FER}* = 169 min).

No processo de adsorção em batelada, descreveu-se por meio de isotermas a capacidade de adsorção do extrato bruto da raiz de Timbó, em alumina ativada a 550 °C (AD550). Os dados experimentais se ajustaram bem aos modelos de Langmuir e Freundlich em todas as temperaturas estudadas (30, 40 e 60 °C) sendo o melhor resultado obtido para a amostra EBP60 (60 °C) com capacidade de adsorção de 61,45 mg.g⁻¹ (*R*² = 0,9922, 97,70%). A capacidade de adsorção do extrato metanoico raiz de Timbó, apresentou a seguinte ordem de afinidade em relação ao adsorvente AD550: EBP60 > EBP40 > EBP30.

A cinética da adsorção foi avaliada segundo os modelos de pseudo primeira e segunda ordem e de difusão intrapartícula, sendo o melhor ajuste encontrado pelo modelo de pseudo segunda nas três temperaturas 30 °C (*R*² = 0,9985), 40 °C (*R*² = 0,998) e 60 °C (*R*² = 0,9986), indicando o caráter químico da adsorção. Os valores negativos de ΔG° indicaram a natureza espontânea do

processo de adsorção. Os valores positivos de ΔH° e ΔS° indicaram a natureza endotérmica do processo de adsorção e afinidade entre adsorvato/adsorvente e sugere o aumento do grau de desordem na interface sólido-líquido com mudanças estruturais no adsorvato e no adsorvente.

A modelagem para coluna de leito fixo foi realizada pelos modelos de Thomas, Bohart-Adams e Yoon-Nelson, o modelo de Thomas o que melhor ajustou os dados experimentais a 60 °C ($R^2 = 0,9962$) foi obtido o melhor resultado. O adsorvente AD550 apresenta potencial para a remoção da rotenona (311,61 mg.100 g⁻¹) e deguelina (169,23 mg.100 g⁻¹) do extrato da raiz de Timbó, com aumento da temperatura de (EBP60).

As substâncias **1** e **2**, foram submetidas aos bioensaios de alelopatia frente a planta invasora de pastagens a *Mimosa pudica* (malícia), visando a inibição da germinação das sementes, do desenvolvimento da radícula e do hipocótilo, na concentração de 150 ppm. Nos testes de atividade alelopática os resultados mais expressivos foram obtidos por percolação a frio: germinação (55,17%), radícula (61%) e hipocótilo (61,01%), subfração hexano/acetato de etila (2:8) (EBPFHAE3).

Por fluido supercrítico a fração coletada em 90 minutos apresentou os seguintes resultados: germinação (63,79%), radícula (72%) e hipocótilo (65,41%). Nos testes germinação e do desenvolvimento da plântula as substâncias **1** e **2**, isoladas dos extratos obtidos por percolação a frio e por CO₂ supercrítico apresentaram os resultados abaixo de 30%.

Nos testes antifúngicos os extratos das subfrações EBPFAE21 e SFEFHA21 apresentaram atividade de inibição total (100%) para os fitopatógenos, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Crinipellis perniciososa*. Nos testes antifúngicos as substâncias **1** e **2** apresentaram resultados acima de 80% para os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina faseolina*, *Lasiodyplodia theobromae* e *Crinipellis perniciososa*.

6 RECOMENDAÇÕES

Com base nos resultados obtidos no estudo, são propostas as seguintes recomendações:

- A modelagem dos dados experimentais, utilizando modelos de transferência de massa;
- Determinar a composição química dos extratos obtidos em todos os pontos da curva de extração para avaliar a influência do tempo de extração;
- Avaliar os custos de processo para a extração com fluido supercrítico; Realizar um estudo da etapa de separação do sistema CO₂ + raiz de Timbó para obter uma fração de extrato rica em rotenona e deguelina e outros rotenóides.
- Realizar experimentos de adsorção e dessorção em meio supercrítico. Essa informação é relevante para aprimorar a separação e purificação dos compostos desejados.

REFERÊNCIAS

- ADAK, A., BANDYOPADHYAY, M. and PALI, A. "Fixed bed column study for the removal of crystal violet (C. I. Basic Violet 3) dye from aquatic environment by surfactant-modified alumina", *Dyes. Pigments*, 69(3), 245-251, 2006.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Regras para análise de sementes, MAPA: Brasília, 2009.
- ADSORBENTS: Fundamentals and Applications, Edited by Ralph T. Yang. ISBN 0-471-29741-0. Copyright 2003 John Wiley & Sons, Inc.
- AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of flavonoids (studies in organic chemistry series, no. 39). Elsevier, Amsterdam, 1989. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 28(6), 562–563. doi:10.1002/mrc.1260280620
- AKSU, Z.; GÖNEN, F. Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves, *Process Biochemistry*, Volume 39, Issue 5. P. 599-61. ISSN 1359-5113. 2004.
- ALBADARIN, A. B.; MANGWANDI, C.; AL-MUHTASEB, A. H.; WALKER, G. M.; ALLEN, S. J.; AHMAD M.M. Kinetic and thermodynamics of chromium ions adsorption onto low-cost dolomite adsorbent. *Chem. Eng. J.*, v.179, p.193-202, 2012.
- AL-DEGS, Y. S., KHRAISHEH, M. A. M., ALLEN, S. J., & AHMAD, M. N. (2009). Adsorption characteristics of reactive dyes in columns of activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 165(1–3), 944–949. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.10.081>
- ALÉCIO, M. R.; ALVES, S. B.; GONZAGA, A. D.; RIBEIRO, J. D.; CORREA, R. S. 2005. Avaliação do potencial inseticida in vitro do extrato aquoso de raízes de timbó (*Derris rariflora*) sobre *Sitophilus zeamais* Mots. In: I Jornada Amazonense de Plantas Mediciniais, Manaus.
- AI-JABARI, M. Kinetic models of supercritical fluid extraction. *Journal of Separation Science*, v.25, p.477-489, 2002.
- Allelopathy Journal an International Journal. Disponível em: <http://www.allelopathyjournal.org/allelopathy/>. Acesso: 02/2014
- ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; REUCK, K. M. Carbon Dioxide: International Thermodynamic Table Fluid State. Pergamon Press, New York, v.3, p. 266, 1976.
- APG II (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*. v.141. p.399-436, 2003.

- ARAGÃO, J. A.; VALLE, J. R. Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjania*, *Derris* e *Tephrosia*. *Ciência e Cultura*, v.25: p.12-14, 1973.
- ASAE. Standards Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving. ASAE, S319.3, p.547, 1998.
- Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 16^a ed., 3^a rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.
- BALADRIN, M. F. KLOCKE, J. A., WURTELE, E. S., BOLLINGER, W. H. Natural Plant Chemical: Sources of Industrial and Medicinal Materials. *Science*, v.228, p.1154-60, 1985.
- BARROSO, G. M., MORIM, M. P., PEIXOTO, A. L., ICHASSO, C. L. F. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa - MG: Imprensa Universitária, 1999.
- BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; KAUR, S. Crop allelopathy and its role in ecological agriculture, p.121-162, 2001.
- BETARBET, R.; SHERER, T. B.; GREENAMYRE, J. T. Animal models of Parkinson's disease. *Bio Essays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, v. 24, n. 4, p. 308–18. 2002.
- BOHART, G. S., ADAMS, E. Q. Some aspects of the behavior of charcoal with respect to chlorine. *Journal of the American Chemical Society*, 42, 523-544 (1920).
- BORBA, C. E. Modelagem da remoção de metais pesados em coluna de adsorção de leito fixo. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2006.
- BRAGA, M. Obtenção de compostos bioativos de *Curcuma longa* L. e *Lippia Alba* M. por tecnologia supercrítica: rendimento global, cinética de extração, composição química e aproveitamento do resíduo amiláceo. Campinas, 2005, Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Instrução Normativa Nº 154, 1 de março de 2007. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/cnia/index.php?id_menu=66>. Acesso em: 12 abr 2012.
- BRINKER, C. J. Hydrolysis and Condensation of Silicates: Effects on Structure. *Journal of Non-Crystalline Solids* 100 (1988) 31-50 31 North-Holland, Amsterdam.

- BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. Sol-Gel Science, The Physics and Chemistry of Sol-gel processing. Academic Press. San Diego. 1990.
- BROGLE, H. CO₂ in solvent extraction. Chemistry and Industry, n.12, p.385-390, 1982.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H. & TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. J. Am. Chem. Soc., 60:309-319, 1938.
- BRUNNER, G. An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes. Alemanha: Darmstadt, 1994.
- CALLAWAY, R. M. The detection of neighbors by plants. Trends in Ecology & Evolution, v.17, p.104-105, 2002.
- CARVALHO, P.C.F. A estrutura da pastagem e o comportamento digestivo de ruminantes em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 2. 1997, Maringá. Anais... Maringá: Universidade Estadual de Maringá, p.25-52. 1997.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; CUNHA, M.; DETMANN, K.S.C.; PAULINO, M. F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.1, p.130-138, 2009.
- CAVAS, L., KARABAY, Z., ALYURUK, H., DOGAN, H. and DEMIR, G. K. "Thomas and artificial neural network models for the fixed-bed adsorption of methylene blue by a beach waste *Posidonia oceanica* (L.) dead leaves", *Chem. Eng. J.*, 171(2), 557-562, 2011.
- CHAPPIL, J. A. 1995. Cladistic analysis of the Leguminosae: the development of an explicit phylogenetic hypothesis. In: Crisp, M. & Doyle, J. J. (eds.). *Advances in Legume Systematic 7: Phylogeny*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 1-9.
- CHENG-SHLUN, LIN and SHANG-DA, HUANG. Removal of Cu (11) from aqueous solution with high ionic strength by adsorbing colloid flotation. *Environmental Science Technology*, March 1994, vol. 28, no. 3, p. 474-478
- CHIVOLA, A.; D'AMATO, E.; BACIOCCHI, R. Ion exchange treatment of groundwater contaminated by arsenic in the presence of sulphate. Breakthrough experiments and modeling. *Water Air Soil Pollut*, v.223, p.2373-2386, 2012.
- CHU, K.H. Fixed bed sorption: Setting the record straight on the Bohart-Adams and Thomas models. *Journal of Hazardous Materials*. Issue, 1-3, v.177, p.1006-1012, 2010.

- CICCHETTI, F.; BROENELL, A. L.; WILLIAMS, K.; CHEN, Y. I.; LIVNI, E.; ISACSON, O. Neuroinflammation of the nigrostriatal pathway during progressive 6-OHDA dopamine degeneration in rats monitored by immunohistochemistry and PET imaging. *Eur. J. Neurosci.* 15(6):991-8. 2002.
- CIOLA, R. Fundamentos da catálise, 1ª edição, Editora Moderna, Editora da Universidade de São Paulo-SP. 1981.
- CLIFFORD, T. Fundamentals of Supercritical Fluids, Oxford University Press: New York, E.U.A. 1999, 210p.
- CONCEIÇÃO, H. E. O., PINTO, J. E. B., SANTIAGO, E. J. A., GONÇALVES, A. A. S. Crescimento e desenvolvimento de *Derris urucu* (Killip et Smith) Macbride na ausência de macronutrientes em solução nutritiva. *Ciência e Agrotecnologia*, v.26, n.3, p.472-479, 2002.
- CORBETT, C. E. 1940. Plantas ictiotóxicas: farmacologia da rotenona. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo. 157 pp.
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro, 234p. 1984.
- COSTA, A. F. Farmacognosia. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.3. 2001.
- COSTA, J. P. C.; ALVES, S. M.; BELO, M. 1999. Differences among *Timbo* (*Derris spp.*, Fabaceae) species from different Amazonian regions in the control of *Musca domestica* L. *Acta Amazonica*, 29(4): 573-583.
- COULSON, J. M. e RICHARDSON, J. F., Tecnologia Química - Volume 6 / Uma Introdução ao projeto em Tecnologia Química, 2ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1989.
- COUTINHO, H. L. C. Diversidade microbiana e agricultura sustentável [online]. CNPS/EMBRAPA, 1996. Disponível em: <http://www.bdt.org.br/~marinez/padct.bio/cap9/1/heitor.html>. Acesso em: mar de 2013.
- CROMBIE, L.; DEWICK, P.M.; WHITING, D. A. (1973). Application to 9-Demethylmunderone, Munderone, Rotenonic Acid, Dalpanol, and Rotenone. *Journal Chemical Society Perkin*: P.1277-1283.
- D'ANDREA, A.; ALIBONI, A.; DE SANTIS, A.; MARIANI, S.; GORGOGLIONE, D.; RITIENI, A. SFE of *Derris elliptica* (Wallich) Benth. roots: Influence of process parameters on yield and purity of rotenone. *Journal of Supercritical Fluids*, v.42, p. 330-333, 2007.

- DABROWSKI, A. Adsorption – from theory to practice. *Adv. in Colloid and Interface Sci.* 93 (2001) 135-224.
- DANLY, D. E.; CAMPBELL, C. R. *Encyclopedia of Chemical Technology*. Kirk and Othmer: New York, 1978.
- DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach*. 2a Ed., Wiley, 2003.
- Di STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, A. C. (2002) *Plantas medicinais na Amazônia e Mata Atlântica*. 2nd Edition, UNESP, São Paulo/SP, 604.
- DINESH, M. E PITTMAN, C. U. Activated carbons and low-cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water – A review. *Journal of Hazardous Material*, v.137, p.762-811, 2006.
- DO, D. D. *Adsorption Analysis: Equilibria and Kinetics*, Series on Chemical Engineering, v.2, Imperial College Press, London (1998).
- DRECHSEL, D. A.; PATEL, M. Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med*, 44(11):1873-1886, 2008.
- DROGUETT, S. *Elementos de Catalisis Heterogenea*, Serie de Química. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, Monografía No 26 1983.
- EINHELLIG, F. A. Plant x plant allelopathy: biosynthesis and mechanism of action. In: *Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal*, Lavras. *Anais. Lavras: UFLA*, v.5, p. 59-74, 1995.
- EMMETT, P. H. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-319 (1938).
- FAGAN, C.; RAMIREZ, C. A.; SCHAWAN-ESTRADA, K. R. F. Efeito do extrato bruto de *Laurus nobilis* e *Zingiber officinale* no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.2, p.128-134, 2004.
- FANG, N.; CASIDA, J. E. Cube Resin Insecticide: Identification and Biological Activity of 29 Rotenoid Constituents. *J. Agr. Food Chem.*, v.47, n. 5, p. 2130-2136, 1999.
- FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil, *Journal of Supercritical Fluids*, v.14, p.235-245, 1999.
- FILLIPI, R. P. CO₂ as a solvent: application to fats, oils and other materials. *Chemical Industrial*, v.2, p.390-394, 1982.

- FIORI, L., BASSI, D., and COSTA, P., Seed Oil Supercritical Extraction: Particle Size Distribution of the Milled Seeds and Modeling. *Journal of Supercritical Fluids*, 47, 174-181 2008.
- FREUNDLICH, H. The theory of adsorption. *Zeitschrift fuer Chemie und Industrie der Kolloide*, v.3, p.212-220, 1909.
- GEANKOPLIS, C. J. *Processos de transporte y operaciones unitárias*. [S.l.]: CECSA, 1998.
- GOMIDE, R., *Operações Unitárias*, 2 ed., São Paulo, Gomide, 160p, 1980.
- GRJOTHEIM, K. e WELCH, B. J. "Aluminium Smelter Technology". 2a edição. AluminumVerlag. 1988.
- GROB, R. & BARRY, E. *Modern Practice of Gas Chromatography*. Wiley, 2004.
- GUPTA, S. S. & BHATTACHARYYA, K. G. Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials: A review, *Advances in Colloid and Interface Science*, Volume 162, Issues 1–2. P.39-58. ISSN 0001-8686. 2011.
- GUSMÃO, D.S.; PÁSCOA, V.; MATHIAS, L.; VIEIRA, I.J.C.; FILHO, R.B.; LEMOS, F.J.A. (2002). *Derris* (Lonchocarpus) *urucu* (Leguminosae). Extrato Modifies the Peritrophic Matrix Structure of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97: 371-375.
- HAMAKER, H. C. The London - *van der Waals* attraction between spherical particles, *Physica*, Volume 4, Issue 10, Pages 1058-1072, 1937.
- HAMDAOUI, Q. Removal of copper (II) from aqueous phase by Purolite C-100MB cation exchange resin in fixed bed columns: Modeling. *Journal of Hazardous Materials*, v. 161, p. 737-746, 2009.
- HAYWARD, D.; TRAPNELL, B. *Chemisorption*, London: Butterworth, 1964.
- HEGNAUER, R., GRAYER-BARKMEYER, R. J. Relevance of Seed Polysaccharides and Flavonoids for the Classification of the Leguminosae – A Chemotaxonomic Approach. *Phytochemistry*, v.34, p.3-16, 1993.
- HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and Soil*, v.256, p.29-39, 2003.
- HINES, A. L.; MADDOX, R. N. *Mass transfer: fundamentals and application*. New York: Prentice Hall, 1985.
- HO, Y. S., MACKAY, G. (1999) Pseudo-second order model for sorption process. *Process Biochem* (Oxford UK) 34, 451.

- HO, Y. S., MCKAY, G. (1998), Kinetic models for the sorption of dye from aqueous solution by wood, *Process Safety and Environmental Protection*, 76B: 183-191.
- HO, Y. S.; PORTER, J. F.; MCKAY, G. Equilibrium isotherm studies for the sorption of divalent metal ions onto peat: copper, nickel and lead single component systems. *Water, Air, Soil Pollut*, v.141, p.1-33, 2002.
- HORSFALL, M. Jr.; SPIFF, A. I. and ABI, A. A. Studies on the influence of mercaptoacetic acid (MAA) modification of Cassava (*Manihot sculenta* cranz) waste biomass on the adsorption of Cu^{2+} and Cd^{2+} from aqueous solution. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, July 2004, vol. 25, no. 7, p. 969-976.
- HOUGEN, O. A.; WATSON, K. M.; RAGATZ, R. A. Princípios dos processos químicos. Lopes da Silva: Porto, 1984.
- HUDSON, L. K., 1987, "Alumina Production". In: Burkin, A. R. (ed.), *Production of Aluminum and Alumina. Critical Report on Applied Chemistry*, v. 20, John Wiley & Sons, Chichester.
- HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.373, p.23-30, 2002.
- HUMPHREY, J. L.; KELLER II, G. Separation process technology. McGraw-Hill, 1997.
- IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/10086-ppm-2014-rebanho-bovino-alcanca-212-3-milhoes-de-cabecas>. Acesso em: nov de 2014.
- INGLEZAKIS, V. J. and POULOPOULOS, S. G. "Adsorption, Ion Exchange and Catalysis: Design of Operations and Environmental Applications," Elsevier, Amsterdam, 2006.
- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Personal papers of Daryle H. Busch, PP 637. University of Kansas. Kenneth Spencer Research Library, 1985.
- KACZMARSKI, K.; MAZZOTTI M.; SLORTI G.; MORBIDELLI, M. Modeling fixed – bed adsorption columns through orthogonal collocations on moving finite elements. *Computers Chemical Engineering*, v. 21, n.6, p.641- 660, 1997.
- KADIRVELU, K; THAMARAISELVI, K; NAMASIVAYAM, C. Adsorption of nickel (II) from aqueous solution onto activated carbon prepared from coirpith. *Separation and Purification Technology*, v.24, p.497–505, 2001.

- KARE, M.; KONE, M. E. K.; BOULANGER, A.; NIASSE, B.; LENOUE, D.; MUCKENSTURM, B.; NONGONIERMA, A. (2006) Isolation, identification and antibacterial tests of chalcones and rotenoids of *Tephrosia deflexa* Baker. *Journal de la Societe Ouest-Africaine de Chimie*, v. 11, n. 22, p. 41-52, 2006.
- KING, M. B.; BOTT, T. R. *Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents*. Chapman and Hall, Glaskow, UK, p.1-25, 1993.
- KRUK, M. & JARONIEC, M. Gas Adsorption Characterization of Ordered Organic - Inorganic Nanocomposite Materials. *Chem. Mater.*, 13, 3169–3183 (2001).
- KUNDU, S., GUPTA, A. K. As(III) removal from aqueous medium in fixed bed using iron oxide-coated cement (IOCC): Experimental and modelling studies. *Chemical Engineering Journal*, 129, 123-131 (2007).
- LAGERGREN, S. (1898), Zur theorie der sogenannten adsorption gelister stoffe, *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. Handlingar*, 24 (4): 1-39.
- LANGMUIR, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. *Journal of the American Chemical Society*, v.40, p.1361-1403, 1918.
- LAUPATTARAKASSEM, P.; HOUGHTON, P.J.; HOULT, J.R. (2004). Anti-inflamatórios isoflavonóides das hastes de *Derris scandens*. *Planta Med.* 70: 496-501.
- LAWSON, A. M. Etude Phytochimique D'une Fabacee Tropicale, *Lonchocarpus nicou* Evaluation Biologique Preliminaire. Thèse de Docteur de L'Universite de Limoges, 2006.
- LEWIS, G. 1987. *Legumes of Bahia*. Kew: Royal Botanic Gardens, 369p.
- LEWIS, G., SCHRIRE, B., MACKINDER, B. & LOCK, M. (eds.) 2005. *Legumes of the World*. Richmond, U.K.: Royal Botanic Gardens, Kew.
- LEWIS, G. P. & SCHRIRE, B. D. 2003. Leguminosae or Fabaceae? Pp. 1–3 in: Klitgaard, B. & Bruneau, A. (eds.), *Advances in legume systematics, part 10, Higher level systematics*. Richmond, U.K.: Royal Botanic Gardens, Kew.
- LI, L.; WANG, H.; CHANG, J.; MCPHAIL, A. T.; MCPHAIL D. R. H.; KONOSHIMA, T.; KOKUMAI, M.; KOZUKA, M.; ESTES, J. R.; LEE, K. H., Antitumour agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. *J. Nat. Prod.* v. 56, p. 690-698, 1993.
- LI, Y.; XU, H. (2007) Insecticidal activities and active compounds of *Derris cavaleriei*. *Zhongguo Nongye Kexue* (Beijing, China), v. 40, n. 8, p. 1688-1696.

- LIMA, R. R. 1987. Informações sobre duas espécies de timbó: *Derris urucu* (killip et Smith) Macbride e *Derris nicou* (killip et Smith) Macbride, como plantas inseticidas. Belém: EMBRAPA CPATU (documentos, 42). 23 pp.
- MARENTIS, R. T. The steps to Developing a Commercial Supercritical CO₂ Processing Plant. In: Charpentier, B. A. Sevanants, M. R. eds. Supercritical Fluid Extraction and Chromatography, v.7, p.128-144, 1988.
- MARICONI, F. A. M. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas: com uma introdução sobre o estudo dos insetos. 5° ed. Vol. 1. São Paulo: Nobel. p.128- 130, 1981.
- MARTINS, J. E. C. Plantas medicinais de uso na Amazônia. 2 ed. Editora Gengis Freire: Belém, 98p. 1989.
- MASCARO, U. C. P.; RODRIGUES, L. A.; BASTOS, J. K.; SANTOS, E.; CHAVES DA COSTA, J. P. Valores de DL50 em peixes e no rato tratados com pó de raízes de *Derris* spp e suas implicações ecotoxicológicas. Pesq. Vet. Bras., v. 18, n. 2, p. 53-56, 1998.
- MASEL, R. Principles of Adsorption and Reaction on solid Surfaces. Wiley Series in Chemical Engineering. 1 Ed. 1996.
- MATHUR, V.; VATS, S.; JAIN, M.; BHOJAK, J.; KAMAL, R. (2007) Antimicrobial activity of bioactive metabolites isolated from selected medicinal plants. Asian J. Exp. Sci., v. 21, n. 2, p. 267-272.
- McCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. Unit operations of chemical engineering. 6rd Ed. McGrall Hill, 2001.
- MCHUGH, M. A.; KRUKONIS, V. J. "Supercritical Fluid Extraction". Butterwort-Heinemann, MA, USA, p.10-11, 1994.
- MCKAY, G.; RAMPRASAD, G.; MOWLI, P. Desorption and regeneration of dye colours from low-cost materials. Water Res., v. 21, n. 3, p. 375–377, 1987.
- MEIRELES, M. A. A. Extraction of Bioactive Compounds from Latin American Plants. In: MARTINEZ, J. (Org.) Supercritical Fluid Extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. Boca Raton: CRC Press – Taylor and Francis Group, 2008, p. 243-274.
- MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001-2003). Current Opinion in Solid State and Materials Science, 7(4-5). 2003.
- MISRA, C. Industrial alumina chemicals. Washington, DC: American Chemical Society (ACS Monograph), 1986.
- MOHANTY, A.K.; MISRA, M.; DRZAL, L.T., et al. (2005) Natural Fibers, Biopolymer and Biocomposites. CRC Press, Boca Raton, 20-21.

- MOLISCH, H. (1937). The Influence of One Plant to Another: Allelopathy. Gustav Fischer. Jena. VIII+ 106 Pages.
- MORS, W. B.; DO NASCIMENTO, M. C.; RIBEIRO DO VALLE, J.; ARAGAO, J. A. Ichthyotoxic activity of plants of the genus *Derris* and compounds isolated therefrom. *Ciencia e Cultura* (Sao Paulo), v. 25, n. 7, p. 647-648, 1973.
- NEGRI, A. S. & ANAND, S. C. A Textbook of Physical Chemistry. Published by Mohindar Singh Sejwal for Wiley Eastern Limited (New Dehli, Bangalore, Bombay. Calcutta, Madras, Hyderabad) 1985. 961 Seiten.
- NORONHA, E. F. Caracterização bioquímica e molecular das atividades antifúngicas produzidos por *Trichoderma harzianum*. Disponível em: <http://www.projetogc.ucb.br/portal.do?id=1171>. Acesso em: mai de 2013.
- ÖZCAN, A.; ÖZCAN, A. Adsorption of acid dyes from aqueous solutions onto acidactivated bentonite. *Journal of colloid and interface science*, v. 276, n. 1, p. 39–46, 1 ago. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002197970400311X>
- PANDEY, N. K.; MAHAPATRA, C. M.; VERMA, S. S.; JOHARI, D. C. Effect of strain on physical egg quality characteristics in White Leghorn chickens *Int. J. Poult. Sci.*, 21 (1986), pp. 304-307
- PIRES, J. M. Plantas ictiotóxicas aspectos botânicos. *Ciência e Cultura*, v.32, p.37-41, 1978.
- POMONIS, P. J; LADAVOS, A. K. Adsorption of gases at porous solid surfaces in HUBBARD, A. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science* 2ª Ed., Marcell Deker: New York, 2006.
- QIU, H. et al. Critical review in adsorption kinetic models. *Journal of Zhejiang University Science A.*, Hangzhou, v. 10, n. 5, p. 716-724.
- QUISPE-CONDORI, S. Determinação de parâmetros de processo nas diferentes etapas de extração supercrítica de produtos naturais: *Artemisia annua*, *Cordia verbenácea*, *Ocimum selloi* e *Foeniculum vulgare*. Campinas, 2005, Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas.
- RAJORIYA, R. K. & PRASAD, B. & MISHRA, INDRAMANI & WASEWAR, KAILAS. (2007). Adsorption of Benzaldehyde on Granular Activated Carbon: Kinetics, Equilibrium, and Thermodynamic. *Chemical & Biochemical Engineering Quarterly* (cabeq@pbf.hr); Vol.21 No.3. 21.
- RAMALHO, R. S. Introduction to Wastewater Treatment Processes. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1983.
- RATTAN, S. I. Targeting the age-related occurrence,removal, and accumulation of molecular damage by hormesis.*Ann N Y Acad Sci.*, 1.197:28-32. 2010.

- RAYS, A.; RAJEEV, K. Adsorption studies of hazardous malachite green onto treated ginger waste. *Journal of Environmental Management*, London, v. 91, p. 1032-1038, 2010.
- REN, Y.; LIU, W.; JIANG, H.; JIANG, Q.; FENG, J. Selective vulnerability of dopaminergic neurons to microtubule depolymerization. *J Biol Chem* 280:34105–12. 2005.
- REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products, *Journal of Supercritical Fluids*, v.10, p.1-37, 1997.
- RICE, E. L. *Allelopathy*. 2. ed. New York, Academic, p.422, 1984.
- RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. (2006) Analytical separation and detection methods for flavonoids, *J. Chromatogr. A*, v. 1112, p. 31-63.
- ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M.K & TYLER, V. E. (1997) *Farmacognosia Biotecnologia*. Editora: Editorial Premier. São Paulo.
- ROUQUEROL, F. and ROUGEROL, K. J. *Principle Methodology and Application*. Academic Press. In *Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications*; Academic Press: San Diego, 1999.
- ROUSSEAU, R. W. *Handbook of Separation Process Technology*. John Wiley and Sons, USA. 1987.USA, 1987.
- RUTHVEN, D. M. *Principles of Adsorption and Adsorption Processes*, Wiley, New York (1984).
- SAALFELD, H. and WEDDE, M. Refinement of the crystal structure of gibbsite, $Al(OH)_3$: *Zeitschrift für Kristallographie*, Bd. 139, S. 129-135, 1974.
- SAG, Y., KUTSAL, T. Determination of the biosorption heats of heavy metal ions on *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*, v. 6, p. 145–151, 2000.
- SAITO, M.; LUCHINI, F. 1998. *Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguras ao meio ambiente*. Embrapa-Meio Ambiente, Jaguariúna, Brasil, 46pp.
- SALINAS, M. H. R. *Famílias de dicotiledôneas vazeoelanas II. Subclases Rosidae y Asteridae: evolution, filogenia, gêneros*. Mérida: [s.n.], 1992.
- SALMAN, J. M.; NJOKUA, V. O.; HAMEEDA, B. H. Batch and fixed-bed adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid onto oil palm frond activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 174, n. 1, p. 33-40. ago. 2011.

- SALVATORI, R. K.; POVH, F. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Atividade antifúngica dos extratos brutos de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Ruta graveolens* e *Curcuma longa*. Fitopatologia Brasileira, Fortaleza-CE, v.28 (Suplemento), p.360-361, 2003.
- SANTOS, J. L. Projeto de uma unidade de extração supercrítica empregando simulador de processos. Belém, 2007. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Pará.
- SANTOS, S. P. A química dos inseticidas, parte II. Lisboa: Edições CECUL. Artigo 86. p.37-41, 2006.
- SATYANARAYANA, J.; MURTHY, G. S.; SASIDHAR, P. Adsorption studies of caesium on zirconium molybdoarsenate. Waste Management, 19, 427(1999).
- SATYANARAYANA, T.; BAR-JOSEPH, M.; MAWASSI, M.; ALBIACH-MARTI, M. R.; AYLLÓN, M. A.; GOWDA, S.; HILF, M. E.; MORENO, P.; GAMSEY, S. M.; DAWSON, W. O.; Amplification of Citrus tristeza virus from a cDNA clone and infection of citrus trees. Virology. Feb 1;280(1):87-96. 2001.
- SCHVARTSMAN, S. Plantas venenosas. São Paulo: Sarvier. p.112-113, 1979.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., STANGARLIN, J. R., CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. Floresta, Curitiba, n.1/2, p.129-137, 2000.
- SILVA, G., A. LAGUNES, J. C. RODRIGUEZ y D. RODRIGUEZ. 2002. Vegetable Insecticides: A New-Old Option in Pest Management. Revista Manejo Integrado de Plagas, 2(3): 21-56 (in Spanish, with abstract in English).
- SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTEZ, L. A., PETROVICK, P. R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 2 ed. Florianópolis. Editora da UFSC e Porto Alegre. Editora da UFRGS, p.67, 2000.
- SIVARAJ, R.; NAMASIVAYAM, C.; KADIRLEVU, K. Orange peel as an adsorbent in the removal of acid violet 17 (acid dye) from aqueous solutions. Waste Management, v.21, p.105-110, 2001.
- SONG, Y.; WANG, Y.; WANG, L.; SONG, Z.; YANG, Z.; YANG, A. ZHAO Recovery of uranium from carbonate solutions using strongly basic anion exchanger 4. Column operation and quantitative analysis React. Funct. Polym., 39 (1999), pp. 245-252.
- SOUZA FILHO, A. P. S. Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais/Antonio Pedro da Silva Souza Filho, Sergio de Mello Alves. - Belém: Embrapa amazônia oriental, 2002. 260p:il; 21cm. ISBN: 85-87690-13-2.

- SOUZA FILHO, A. P. S.; NASCIMENTO, J. L. M. Timbó: aspectos botânicos e moléculas bioativas. Brasília, DF: EMBRAPA, 112p. 2012.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; DUTRA, S.; SILVA, M. A. M. M. Métodos de superação de dormência de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas da Amazônia. Planta Daninha, v. 16, n. 1, p. 3-11, 1998.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira *Brachiaria humidicola*. Planta Daninha, Campinas, v. 23, n. 1, p. 25-32, 2005.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.
- SRIWANTHANA, B.; CHAVALITTUMRONG, P. (2001). Efeito *in vitro* de *Derris scandens* sobre a proliferação de linfócitos normais e suas atividades sobre as células natural killer em indivíduos normais e um paciente HIV-infectado. J. Ethnopharmacology. 76: 125-129.
- STUART, G. R. Extração do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. utilizando dióxido de carbono a altas pressões. Dissertação de mestrado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, 1995.
- SUMERA, F. C.; CONAT, M. (2006). Ichthyotoxicity and Rotenone Stability of *Derris trifoliata* Acetone Formulations. Asian Fisheries Science, 19: 363 – 375.
- SUN, Q., YANG, L., LU, P. (2004). The adsorption of lead and copper from aqueous solution on modified peat-resin particles, Environmental Geochemistry and Health 26, 311–317.
- TAGLIAFERRO, G.V; PEREDIRA, P. H. F.; RODRIGUES, L. A.; SILVA, M. L. C. P. 2011. Adsorção de chumbo, cádmio e prata em óxido de nióbio (V) hidratado preparado pelo método da precipitação em solução homogênea. Química Nova. Vol. 34, p. 101-105.
- TEWTRAKUL, S.; CHEENPRACHA, S.; KARALAI, C. (2009) Nitric oxide inhibitory principles from *Derris trifoliata* stems. Phytomedicine, v.16, n.6-7, p.568-572.
- THOMAS, H. C. Heterogeneous ion exchange in a flowing system. Journal of the American Chemical Society, 66, 1664–1666. 1944.
- THOMAS, J. M.; THOMAS, W. J. Principles and practice of heterogeneous catalysis, Wiley-VCH, 1997.
- THOMMES, M., KANEKO, K., NEIMARK, A. V., OLIVIER, J. P., RODRIGUEZ-REINOSO, F., ROUQUEIROL, J. and SING, K. S. W. Physisorption of

- gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)" *Pure and Applied Chemistry*, vol. 87, no. 9-10, 2015, pp. 1051-1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>
- TIANGBURANATHAM, W. (1996). Dicionário tailandês de plantas medicinais. Prachachumtong impressão: Bangkok, 350p.
- TORRES, A.; OLIVAR, R. M.; CASTELLANO, D.; CROSS, P. (Editors), Introduction, A Science for the Future, Proceedings, In: First World Congress on Allelopathy, Cádiz, Spain, September, p.16-20, 1996.
- TREYBAL, R. E. Mass transfer operations 3rdEd. McGrall Hill. 1981.
- VAN BRACKEL, J. Mass Transfer in Convective Drying. In: Advances in Drying, p.217-267, Mujumdar A.S. Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 1980.
- VAN RAIJ, B. V., PEECH, M. Electrochemical properties of some oxisols and alfisols of the tropics. Soil Science Society of America Proceedings, v.36, p.587-593, 1972.
- VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas Inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O., coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.739-754, 821p, 1999.
- WEBER, Jr., MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution. J. Sanit. Eng. Div. ASCE (SA2) 89 (1963) 31.
- WEFERS, K.; BELL, G. M. Oxides and hydroxides of Aluminum. Alcoa Research Laboratories. Aluminum Company of America. Pittsburgh, 1972.
- WEFERS, K; MISRA, C. Oxides and hydroxides of aluminum. Alcoa Technical Paper nº19. Revised. Pennsylvania: Aluminum Company of America, 1987.
- WINK, M.; MOHAMED, G. I. A. (2003) Evolution of chemical defense traits in the leguminose: mapping of distribution patterns of secondary metabolites an a molecular phylogenesis inferred from nucleotide sequences of the rbcl gene. Biochemical systematic and ecology, v.31, p.897-917.
- WOOSLEY, K. P. The problem of gastric atony. Clinical techniques in small animal practice, v.19, n.1, p. 43-48, 2004.
- WOOLSEY, N. C., WARK, J. S., & RILEY, D. (1990). Sub-nanosecond X-ray powder diffraction. *Journal of Applied Crystallography*, 23(5), 441-443. doi:10.1107/s0021889890008500
- YANG, S. P.; YU, X. B.; HUANG, J. G.; XU, H. H. (2003) *Acta Crystallogr C* 59:392–393. doi:10.1107/S010827010301117X

- YANG, X.; AL-DURI, B. (2005) Kinetic modeling of liquid-phase adsorption of reactive dyes on activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 287, n. 1, p. 25-34, p. 25-34.
- YOON, Y. H. & NELSON, J. H. (1984). Application of gas adsorption kinetics i. a theoretical model for respirator cartridge service life. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 45, 509–516.
- ZANINE, A.M.; VIEIRA, B.R.; CASAGRANDE, FERREIRA, D. J.; VIEIRA, A. J. M.; CECON, P. R. Comportamento ingestivo de bovinos de diferentes categorias em pastagem de capim coast-cross. *Bioscience Journal*. Uberlândia, 2007. v. 23, n. 3, p.111-119, 2007.
- ZHANG, Y.; Xu, H.; HUANG J. G.; CHIU, S. F. (2000) The antifeeding activity of *Tephrosia vogelii* (Hook) against species of Lepidoptera. *Journal of South China Agricultural University*. Vol.21, No.4, pp.26-29 ref.3.

ANEXO I



Amazônia Oriental

LABORATÓRIO DE BOTÂNICA-HERBÁRIO
LAUDO DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

1) Dados do Solicitante

Pessoa Física ou Jurídica: OSSALIN DE ALMEIDA			
CPF ou CNPJ:		C.I. ou Inscrição Estadual	
Endereço:			
Bairro:	CEP:	Cidade: BELÉM	UF: Pa
Telefone: 3201 7730	FAX:	E-mail:	

2) Dados do Material para Análise – N° do NID: 74/2013 (controle do Laboratório)

Local de Origem: PARQUE DO UTINGA		Quantidade de Amostras: 04
Tipo de Amostra: (X) Fértil (X) Estéril		
Nome do Coletor: Ossalin de Almeida		
Data de Entrada no Laboratório: 11.09.2013	Analisado por: Miguel, Manoel e Ednaldo	
Destino e/ou Utilização do Laudo:	Supervisionado por: Silvane Tavares	

3) Processo utilizado para Identificação:

Comparação com exsicatas do acervo do herbário IAN.
Classificação dos gêneros em família segundo APG III.
Lista de espécie da Flora do Brasil.

RESULTADO DAS ANÁLISES

Cod.	Nome Comum	Nome Científico	Família
01		<i>Deguelia</i> Aubl.	Leguminosae-Pap.
02		<i>Deguelia</i> Aubl.	Leguminosae-Pap.
03		<i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) J.F.Gmel.	Rubiaceae
04		<i>Ficus maxima</i> Mill.	Moraceae

Obs: Prazo de permanência do material no laboratório: 60 dias; a partir dessa data, o material ficará a critério do laboratório.

Digitado em: 31.10.2013

Supervisionado: 12/11/13

P. Orlando



Silvane Tavares Rodrigues
Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental

Ministério da
Agricultura e do
Abastecimento

Empresa Brasileira de
Pesquisa Agropecuária

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Bairro do Marco
CEP: 66.095-100 – Belém-Pa

Telefax (091) 3276-8945
Fone: 32041143/32041141
regina@cpatu.embrapa.br

Figura 1. Laudo de Identificação Botânica (Herbário Embrapa-PA).

APÊNDICE I

Tabela 1. Condições para a secagem em estufa da raiz de *Deguelia Aubl.* ($T = 40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

M1 (g)	Vel. Ar (m.s⁻¹)	Pb (mm Hg)	Freq. (Hz)	Tensão (V)	M0 (g)
650,82	0,5	760	60	220	2000,00

Tempo (h)	M2 (g)	M3 (g)	T_{amb.} (°C)	Amostra (%)	m_{H2O} (g)	Umid._{B.S} (%)
0	2.650,82	2000,00	28,00	100,00	0,00	0,00
24	2.316,26	1665,44	27,00	83,27	334,56	16,73
48	2.164,01	1513,19	28,50	75,66	486,81	24,34
72	2.076,87	1426,05	27,50	71,30	573,95	28,70
96	1.917,23	1266,41	29,00	63,32	733,59	36,68
120	1.898,65	1247,83	28,00	62,39	752,17	37,61
144	1.825,30	1174,48	28,00	58,72	825,52	41,28
168	1771,12	1120,30	28,50	56,02	879,70	43,99

m0 = Massa da Amostra (B.U) **m1** = Bandeja Vazia **m2** = Bandeja + Amostra **m3** = Massa da Amostra (B.S)

APÊNDICE II

Condições experimentais para a extração por fluido supercrítico do extrato da raiz de Timbó.

Extração 01.

P (bar)	T (°C)	T_{amb} (°C)	P_{amb} (atm)	T (K)	CO₂ (g.mol)	R (cm³atm.mol⁻¹K⁻¹)	MA(g)
300	60	24,5	1	273,15	44,0005	82,06	249,17

t (min)	Q (L.h⁻¹)	ME (g)	Rend.(%)	MAc(g)	ρ_{CO2} (g.cm⁻³)	V_{CO2} (cm⁻³)	M_{CO2} (g)	M_{Extr}/M_{CO2} (g)
15	3,75	3,0063	1,21	3,0063	1,8014E-03	3750	6,7554	0,4450
30	7,50	1,8422	0,74	4,8485	1,8014E-03	7500	13,5108	0,1364
60	15,00	2,4484	0,98	7,2969	1,8014E-03	15000	27,0216	0,0906
90	22,50	2,2897	0,92	9,5866	1,8014E-03	22500	40,5324	0,0565

Extração 02.

P (bar)	T (°C)	T_{amb} (°C)	P_{amb} (atm)	T (K)	CO₂ (g.mol)	R (cm³atm.mol⁻¹K⁻¹)	MA(g)
300	60	24,5	1	273,15	44,0005	82,06	281,84

t (min)	Q (L.h⁻¹)	ME(g)	Rend.(%)	MAc(g)	ρ_{CO2} (g.cm⁻³)	V_{CO2} (cm⁻³)	M_{CO2} (g)	M_{Extr}/M_{CO2} (g)
15	3,75	3,2880	1,17	3,2880	1,8014E-03	3750	6,7554	0,4867
30	7,50	1,9454	0,69	5,2334	1,8014E-03	7500	13,5108	0,1440
60	15,00	2,6580	0,94	7,8914	1,8014E-03	15000	27,0216	0,0984
90	22,50	2,0040	0,71	9,8954	1,8014E-03	22500	40,5324	0,0494

(P) Pressão no extrator, (P_{amb}) Pressão ambiente, (T) Temperatura no extrator, (MA) Massa da amostra, (Q) Vazão, (ME) Massa de extrato, (MAc.) Massa de extrato acumulada.

APÊNDICE II

Dados de DRX da Gibbsita, AD550 e de referência.

¹ Gibbsita (Al(OH) ₃)				² AD550	
d (Å)	I/I _o	d (Å)	I/I _o	d (Å)	I/I _o
5,37204	0,22	2,04923	0,54	3,48716	36,2
5,01607	0,24	1,99513	0,76	2,73259	55,57
4,85136	100	1,96497	0,08	2,55566	50,49
4,37994	3,13	1,91811	0,5	2,38528	100
4,32805	1,45	1,80575	0,82	2,27948	47,37
3,36527	0,49	1,75272	0,89	2,0886	39,93
3,31793	0,92	1,7518	0,44	2,00012	82,41
3,1897	0,69	1,68643	0,62	1,74087	16,65
3,11053	0,34	1,65814	0,14	1,60344	28,3
2,80959	0,01	1,63639	0,03		
2,70676	0,05	1,59324	0,12		
2,65158	0,04	1,57474	0,07		
2,47027	0,4	1,55473	0,05		
2,45531	0,82	1,53591	0,04		
2,42412	2,24	1,49705	0,04		
2,42327	1,07	1,48485	0,05		
2,38709	1,09	1,4583	0,43		
2,38635	0,54	1,45807	0,23		
2,34922	0,01	1,44092	0,2		
2,29075	0,23	1,41218	0,22		
2,24763	0,45	1,40285	0,34		
2,19044	0,07	1,40249	0,19		
2,16728	0,52	1,38126	0,05		
2,0862	0,06	1,36293	0,23		
2,04983	0,95				

¹ICDD-PDF: 74-1775; ²ICDD-PDF: 10-0173 e 47-1770; (I/I_o) Intensidade Relativa; d (Å) Linhas de espaçamento

APÊNDICE III

Dados experimentais dos bioensaios de alelopatia de germinação do extrato metanoico obtido por percolação da raiz de *Timbó* e de suas respectivas frações sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia) (1% m/v).

Tratamento	Repetições	Dia				Total	Germ. (%)	M _{Germ.} (%)	Inib. (%)	DESVPAD
		1	2	3	4					
Controle	1	3	12	4	0	19	95			
	2	3	14	3	0	20	100	96,67	0,00	0,58
	3	1	14	4	0	19	95			
EBP	1	1	2	4	3	10	50			
	2	1	1	2	2	6	30	43,33	-55,17	2,31
	3	1	2	3	4	10	50			
FHAE1	1	3	11	4	1	19	95			
	2	0	13	3	2	18	90	95,00	-1,72	1,00
	3	0	17	3	0	20	100			
FHAE2	1	1	5	3	2	11	55			
	2	3	3	5	1	12	60	51,67	-46,55	2,08
	3	1	2	4	1	8	40			
FHAE3	1	2	3	4	3	12	60			
	2	1	2	3	5	11	55	53,33	-44,83	1,53
	3	1	1	4	3	9	45			
FHAE4	1	3	8	5	1	17	85			
	2	4	9	3	3	19	95	91,67	-5,17	1,15
	3	2	9	5	3	19	95			

APÊNDICE V

Dados experimentais dos bioensaios de desenvolvimento da radícula e do hipocótilo do extrato metanoico obtido por percolação da raiz de *Timbó* e de suas respectivas frações sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia) (1% m/v).

Tratamento	Repetições	Radícula						DEVPAD
		1	M1	2	M2	M1+2	Inib. (%)	
Controle	1	1,40		1,40				0,09
	2	1,80	1,60	2,00	1,73	1,67	0,00	
	3	1,60		1,80				
EBP	1	0,60		0,80				0,07
	2	0,60	0,60	0,70	0,70	0,65	-61,00	
	3	0,60		0,60				
FHAE1	1	1,60		1,50				0,14
	2	1,70	1,63	1,30	1,43	1,53	-8,00	
	3	1,60		1,50				
FHAE2	1	0,70		0,90				0,07
	2	0,60	0,70	0,70	0,80	0,75	-55,00	
	3	0,80		0,80				
FHAE3	1	1,10		1,00				0,09
	2	0,90	0,97	0,80	0,83	0,90	-46,00	
	3	0,90		0,70				
FHAE4	1	1,60		1,70				0,02
	2	1,50	1,53	1,40	1,57	1,55	-7,00	
	3	1,50		1,60				

Tratamento	Repetições	Hipocótilo						DEVPAD
		1	M1	2	M2	M1+2	Inib. (%)	
Controle	1	2,60		2,40				0,07
	2	2,40	2,60	2,80	2,70	2,65	0,00	
	3	2,80		2,90				
EBP	1	1,20		1,00				0,09
	2	1,40	1,23	1,00	1,10	1,17	-55,97	
	3	1,10		1,30				
FHAE1	1	2,30		2,50				0,05
	2	2,40	2,43	2,40	2,50	2,47	-6,92	
	3	2,60		2,60				
FHAE2	1	1,50		1,60				0,02
	2	1,60	1,53	1,40	1,50	1,52	-42,77	
	3	1,50		1,50				
FHAE3	1	1,20		1,10				0,00
	2	0,90	1,03	0,80	1,03	1,03	-61,01	
	3	1,00		1,20				
FHAE4	1	2,60		2,50				0,02
	2	2,40	2,50	2,50	2,47	2,48	-6,29	
	3	2,50		2,40				

APÊNDICE VI

Dados experimentais dos bioensaios de alelopatia de germinação dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia) (1% m/v).

Tratamento	Repetições	Dia				Total	Germ. (%)	M _{Germ.} (%)	Inib. (%)	DESVPAD
		1	2	3	4					
Controle	1	3	12	4	0	19	95			
	2	3	14	3	0	20	100	96,67	0,00	0,58
	3	1	14	4	0	19	95			
SFE15	1	2	2	3	5	12	60			
	2	0	2	4	4	10	50	58,33	-39,66	1,53
	3	1	3	4	5	13	65			
SFE30	1	2	3	1	3	9	45			
	2	2	3	2	5	12	60	50,00	-48,28	1,73
	3	1	2	2	4	9	45			
SFE60	1	0	1	3	3	7	35			
	2	0	1	3	5	9	45	41,67	-56,90	1,15
	3	0	2	2	5	9	45			
SFE90	1	0	0	5	2	7	35			
	2	0	1	3	1	5	25	35,00	-63,79	2,00
	3	0	3	5	1	9	45			

APÊNDICE VII

Dados experimentais dos bioensaios de desenvolvimento da radícula e do hipocótilo dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia) (1% m/v).

Tratamento	Repetições	Radícula						DEVPAD
		1	M1	2	M2	M1+2	Inib. (%)	
Controle	1	1,40		1,40				0,09
	2	1,80	1,60	2,00	1,73	1,67	0,00	
	3	1,60		1,80				
SFE15	1	0,80		0,80				0,07
	2	0,70	0,77	0,90	0,87	0,82	-51,00	
	3	0,80		0,90				
SFE30	1	0,90		0,80				0,02
	2	0,70	0,80	0,70	0,77	0,78	-53,00	
	3	0,80		0,80				
SFE60	1	0,60		0,50				0,02
	2	0,50	0,53	0,40	0,50	0,52	-69,00	
	3	0,50		0,60				
SFE90	1	0,40		0,60				0,05
	2	0,50	0,43	0,50	0,50	0,47	-72,00	
	3	0,40		0,40				

Tratamento	Repetições	Hipocótilo						DEVPAD
		1	M1	2	M2	M1+2	Inib. (%)	
Controle	1	2,60		2,40				0,07
	2	2,40	2,60	2,80	2,70	2,65	0,00	
	3	2,80		2,90				
SFE15	1	1,40		1,20				0,05
	2	1,20	1,27	1,50	1,33	1,30	-50,94	
	3	1,20		1,30				
SFE30	1	1,10		1,30				0,07
	2	1,30	1,20	1,40	1,30	1,25	-52,83	
	3	1,20		1,20				
SFE60	1	0,90		0,80				0,02
	2	1,20	1,07	1,10	1,03	1,05	-60,38	
	3	1,10		1,20				
SFE90	1	1,00		1,10				0,02
	2	0,90	0,90	0,80	0,93	0,92	-65,41	
	3	0,80		0,90				

APÊNDICE VIII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngicos do extrato metanoico obtido por percolação pelo método MIC (0,5% m/v).

Tratamento	Microrganismos	Repetições	Inibição (%)	DESVPAD
	<i>Sclerotium rolfsii</i>	1	3,35	0,20
		2	2,95	
		3	3,10	
	<i>Rhizoctonia solani</i>	1	3,05	0,05
		2	2,95	
		3	3,00	
	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1	2,35	0,08
		2	2,20	
		3	2,28	
	<i>Corynespora cassiicola</i>	1	1,25	0,05
		2	1,35	
		3	1,30	

Dados experimentais dos bioensaios antifúngicos dos extratos brutos obtidos por percolação pelo método da difusão em meio sólido (1% m/v).

Tratamento	Microrganismos	Repetições	Inibição (%)	DESVPAD
	<i>Sclerotium rolfsii</i>	1	83,85	0,93
		2	85,70	
		3	84,78	
	<i>Rhizoctonia solani</i>	1	76,40	0,33
		2	77,05	
		3	76,73	
	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1	57,95	0,23
		2	57,50	
		3	57,73	
	<i>Corynespora cassiicola</i>	1	31,25	0,15
		2	31,55	
		3	31,4	

APÊNDICE IX

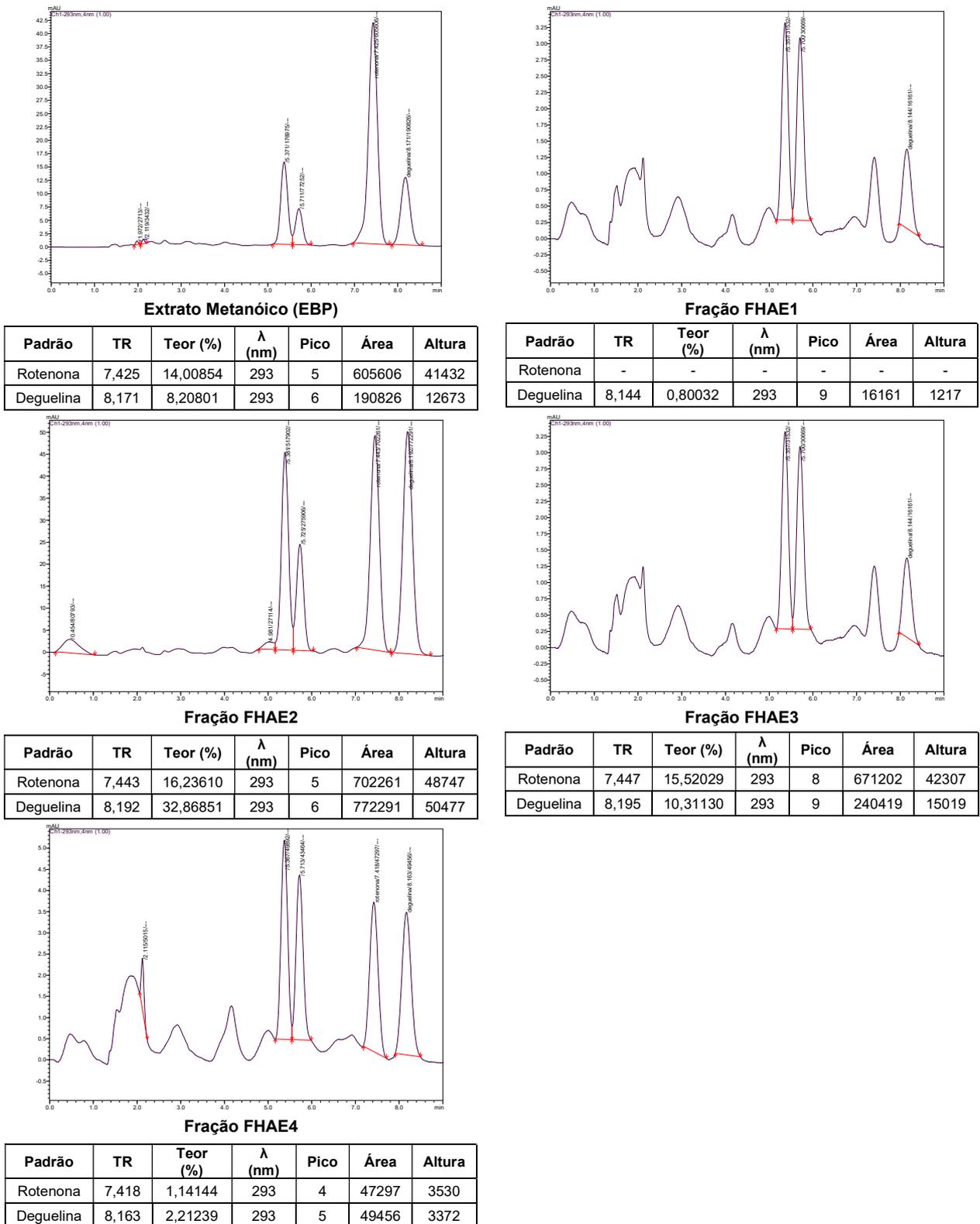
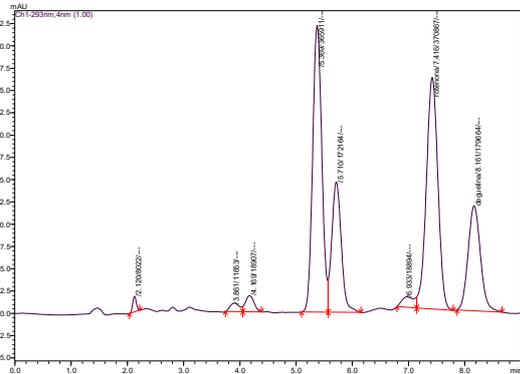


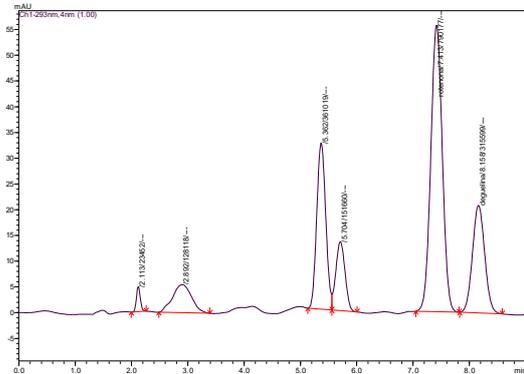
Figura 2. Composição química por HPLC do extrato bruto metanólico da raiz de *Deguelia Aubl.* e de suas respectivas frações.

APÊNDICE X



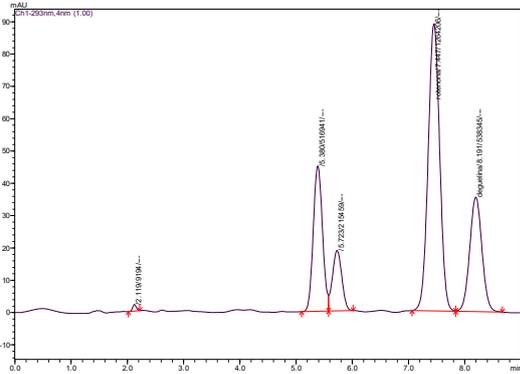
SFE15

Padrão	TR	Teor (%)	λ (nm)	Pico	Área	Altura
Rotenona	7,416	8,59860	293	7	370867	25981
Deguelina	8,161	7,73462	293	8	179664	11758



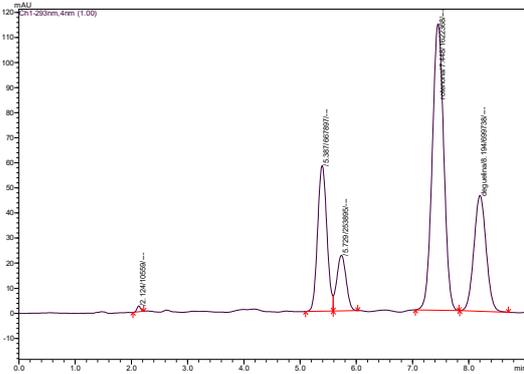
SFE30

Padrão	TR	Teor (%)	λ (nm)	Pico	Área	Altura
Rotenona	7,413	18,26224	293	5	79 177	55602
Deguelina	8,158	13,49977	293	6	315599	20902



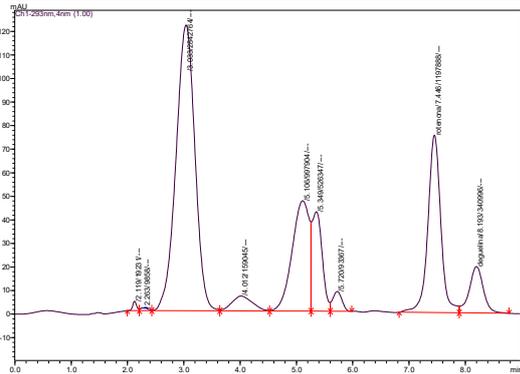
SFE60

Padrão	TR	Teor (%)	λ (nm)	Pico	Área	Altura
Rotenona	7,447	29,18699	293	4	1264206	88848
Deguelina	8,191	22,94663	293	5	538345	35416



SFE90

Padrão	TR	Teor (%)	λ (nm)	Pico	Área	Altura
Rotenona	7,448	37,14437	293	4	1622368	114168
Deguelina	8,194	29,79148	293	5	699738	46127



SFEtorta

Padrão	TR	Teor (%)	λ (nm)	Pico	Área	Altura
Rotenona	7,446	27,65858	293	8	1197888	75263
Deguelina	8,193	14,57688	293	9	340996	19718

Figura 3. Composição química por HPLC dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico.

APÊNDICE XI

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico do extrato metanoico (EBP) da raiz de Timbó e de suas respectivas frações (EBPFHAE1, EBPFHAE2, EBPFHAE3 e EBPFHAE4) (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBP				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	4,25	4,15			
	2	3,80	4,10	4,06	-54,91	0,31
	3	4,05	4,00			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,20	1,10			
	2	1,15	1,40	1,21	-86,57	0,21
	3	1,25	1,15			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,45	4,40	4,43	0,00	0,04
	1	3,95	3,95			
	2	3,85	3,80	3,86	-12,81	0,15
	3	3,80	3,80			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	3,25	3,05			
	2	3,45	3,25	3,20	-64,44	0,30
	3	3,05	3,15			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	5,55	5,55	5,55	0,00	0,00
	1	3,55	3,55			
	2	3,60	3,60	3,55	-36,04	0,09
	3	3,50	3,50			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,95	1,15			
	2	0,85	1,05	0,98	-89,17	0,22
	3	0,90	0,95			

APÊNDICE XII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico do extrato metanoico (EBP) da raiz de Timbó e de suas respectivas frações (EBPFHAE1, EBPFHAE2, EBPFHAE3 e EBPFHAE4) (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBPFHAE1				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,35	8,25			
	2	8,15	8,05	8,18	-9,07	0,22
	3	8,20	8,10			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,45	8,50			
	2	8,25	8,30	8,36	-7,13	0,19
	3	8,35	8,30			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	7,95	8,00			
	2	8,00	8,20	8,19	-8,98	0,51
	3	8,50	8,50			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,50	4,55	4,53	0,00	0,04
	1	4,25	4,20			
	2	4,15	4,00	4,18	-7,73	0,19
	3	4,20	4,25			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,40	8,45			
	2	8,45	8,50	8,45	-6,11	0,09
	3	8,40	8,50			
<i>Corynespora cassiicola</i>	Controle	5,60	5,70	5,65	0,00	0,07
	1	5,20	5,10			
	2	5,45	5,50	5,40	-4,42	0,40
	3	5,55	5,60			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,40	8,45			
	2	8,20	8,25	8,28	-8,06	0,24
	3	8,15	8,20			

APÊNDICE XIII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico do extrato metanoico (EBP) da raiz de Timbó e de suas respectivas frações (EBPFHAE1, EBPFHAE2, EBPFHAE3 e EBPFHAE4) (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBPFHAE2				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,15	1,10			
	2	1,05	1,05	1,08	-87,96	0,08
	3	1,10	1,05			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,35	4,30	4,33	0,00	0,04
	1	2,25	2,45			
	2	2,40	2,55	2,41	-44,32	0,20
	3	2,45	2,35			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	2,35	2,45			
	2	2,25	2,35	2,33	-74,07	0,14
	3	2,30	2,30			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	6,65	5,45	6,05	0,00	0,85
	1	3,60	3,45			
	2	3,70	3,55	3,61	-40,36	0,19
	3	3,65	3,70			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,35	1,55			
	2	1,50	1,65	1,48	-83,61	0,23
	3	1,45	1,35			

APÊNDICE XIV

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico do extrato metanoico (EBP) da raiz de Timbó e de suas respectivas frações (EBPFHAE1, EBPFHAE2, EBPFHAE3 e EBPFHAE4) (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBPFHAE3				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,55	1,50			
	2	1,60	1,65	1,58	-82,50	0,10
	3	1,60	1,55			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,45	0,45			
	2	0,50	0,40	0,42	-95,37	0,12
	3	0,35	0,35			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,60	4,65	4,63	0,00	0,04
	1	2,80	2,75			
	2	2,60	2,75	2,72	-41,26	0,14
	3	2,70	2,70			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	2,45	2,25			
	2	2,60	2,55	2,56	-71,57	0,39
	3	2,70	2,80			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	5,75	5,70	5,73	0,00	0,04
	1	3,75	3,65			
	2	3,70	3,50	3,63	-36,54	0,18
	3	3,60	3,60			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,75	1,95			
	2	2,00	2,00	1,88	-79,17	0,24
	3	1,80	1,75			

APÊNDICE XV

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico do extrato metanoico (EBP) da raiz de Timbó e de suas respectivas frações (EBPFHAE1, EBPFHAE2, EBPFHAE3 e EBPFHAE4) (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBPFHAE4				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,05	7,95			
	2	7,90	8,10	8,01	-11,02	0,17
	3	8,10	7,95			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	7,90	7,85			
	2	7,70	7,80	7,87	-12,59	0,22
	3	7,95	8,00			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,05	8,00			
	2	8,25	8,15	8,08	-10,19	0,20
	3	8,00	8,05			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	5,00	5,20	5,10	0,00	0,14
	1	4,95	5,00			
	2	4,80	4,95	4,87	-4,58	0,23
	3	4,75	4,75			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	8,05	8,15			
	2	8,15	8,05	8,07	-10,37	0,15
	3	8,05	7,95			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	5,45	5,50	5,48	0,00	0,04
	1	4,95	4,85			
	2	4,45	4,50	4,70	-14,16	0,39
	3	4,75	4,70			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	7,90	7,80			
	2	7,65	7,70	7,73	-14,17	0,22
	3	7,70	7,60			

APÊNDICE XVI

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico da subfração EBPFHAE2.1 da fração hexano/acetato de etila (5:5) do extrato metanoico da raiz de Timbó (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	EBPFHAE2.1				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	5,50	5,60	5,55	0,00	0,07
	1	2,85	2,90	2,91	-47,52	0,09
	2	3,00	3,05			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,90	1,80	1,83	-79,72	0,08
	2	1,80	1,70			
<i>Corynespora cassiicola</i>	Controle	7,85	7,90	7,88	0,00	0,04
	1	4,45	4,35	4,36	-44,60	0,06
	2	4,30	4,40			
<i>Crinipellis perniciososa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			

APÊNDICE XVII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	SFE15				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	3,00	2,95			
	2	3,00	3,05	2,99	-66,76	0,04
	3	3,00	2,95			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,05	1,10			
	2	1,00	0,95	1,03	-88,61	0,05
	3	1,00	1,05			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,45	4,40	4,43	0,00	0,03
	1	3,75	3,75			
	2	3,70	3,70	3,69	-16,57	0,06
	3	3,60	3,65			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,55	1,40			
	2	1,05	1,25	1,27	-85,93	0,18
	3	1,20	1,15			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	5,55	5,55	5,55	0,00	0,00
	1	2,95	2,95			
	2	3,00	3,00	2,97	-46,55	0,03
	3	2,95	2,95			
<i>Crinipellis perniciososa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	3,90	3,25			
	2	3,65	3,25	8,28	-8,06	0,27
	3	3,30	3,35			

APÊNDICE XVIII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	SFE30				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,95	1,05			
	2	1,05	1,00	1,00	-88,89	0,04
	3	0,95	1,00			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,45	4,40	4,43	0,00	0,03
	1	2,65	2,50			
	2	2,60	2,55	2,58	-41,62	0,05
	3	2,60	2,60			
<i>Lasioidiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,05	0,85			
	2	0,90	1,00	0,96	-89,35	0,07
	3	0,95	1,00			
<i>Corynespora cassiicola</i>	Controle	5,55	5,55	5,55	0,00	0,00
	1	2,20	2,25			
	2	2,20	2,20	2,20	-60,36	0,03
	3	2,15	2,20			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,15	1,10			
	2	1,00	1,10	1,08	-87,96	0,07
	3	1,15	1,00			

APÊNDICE XIX

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	SFE60				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	4,30	4,60			
	2	4,65	4,70	4,57	-49,26	0,14
	3	4,55	4,60			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,85	0,75			
	2	0,95	0,85	0,85	-90,56	0,06
	3	0,85	0,85			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,45	4,40	4,43	0,00	0,03
	1	4,00	4,00			
	2	4,00	4,00	4,01	-9,42	0,02
	3	4,00	4,05			
<i>Lasioidiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,20	1,00			
	2	1,15	0,95	1,11	-87,69	0,11
	3	1,15	1,20			
<i>Corynespora cassiicola</i>	Controle	5,55	5,55	5,55	0,00	0,00
	1	3,35	3,45			
	2	3,25	3,30	3,33	-40,09	0,07
	3	3,30	3,30			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	2,00	1,80			
	2	1,85	1,25	1,68	-81,39	0,32
	3	1,30	1,85			

APÊNDICE XX

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico dos extratos da raiz de Timbó obtidos por fluido supercrítico (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	SFE90				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00			
	2	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	3	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	3,40	3,30			
	2	3,15	3,05	3,15	-65,00	0,17
	3	2,95	3,05			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	9,00	0,00
	1	4,75	4,95			
	2	4,95	4,95	4,93	-45,28	0,09
	3	5,00	4,95			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	4,45	4,40	4,43	0,00	0,03
	1	3,50	3,55			
	2	3,30	3,25	3,38	-23,73	0,12
	3	3,35	3,30			
<i>Lasioidiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,55	1,30			
	2	1,20	1,65	1,46	-83,80	0,18
	3	1,45	1,60			
<i>Corynespora cassiicola</i>	Controle	5,55	5,55	5,55	0,00	0,00
	1	2,95	3,00			
	2	2,90	3,00	2,97	-46,55	0,04
	3	3,00	2,95			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	2,45	2,35			
	2	2,50	2,50	2,48	-72,41	0,08
	3	2,50	2,60			

APÊNDICE XXI

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico da subfração SFEFHAE2-1 da fração hexano/acetato de etila (5:5) do extrato da raiz de Timbó obtido por fluido supercrítico (1% m/v).

Microrganismo	Repetições	SFEFHAE2.1				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	5,70	5,50	5,60	0,00	0,14
	1	2,80	2,75	2,75	-50,89	0,09
	2	2,70	2,60			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,70	1,80	1,79	-80,14	0,06
	2	1,85	1,75			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	8,00	8,10	8,05	0,00	0,07
	1	4,20	4,10	4,11	-48,91	0,06
	2	4,05	4,15			
<i>Crinipellis perniciososa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	-100,00	0,00
	2	0,00	0,00			

APÊNDICE XXII

Dados experimentais dos ensaios de germinação das substâncias identificadas dos extratos da raiz de Timbó sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia), obtidos por percolação e por fluido supercrítico (C = 150 ppm).

Tratamento	Repetições	Dia				Total	Germ. (%)	M _{Germ.} (%)	Inib. (%)	DESVPAD
		1	2	3	4					
Testemunho	1	1	4	9	6	0	19	97,50	0,86	0,71
	2	2	5	7	8	0	20			
1	3	1	2	2	5	4	13	72,50	-25,00	2,12
	2	2	3	4	6	3	16			
2	1	1	3	2	5	4	14	70,00	-27,59	0,00
	2	2	0	5	3	6	14			

Dados experimentais dos ensaios de desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das substâncias identificadas dos extratos da raiz de Timbó sobre a planta receptora *Mimosa pudica* (malícia), obtidos por percolação e por fluido supercrítico (C = 150 ppm).

Tratamento	Repetições	Radícula					Inib. (%)	DEV PAD
		1	M1	2	M2	M1+2		
Testemunho	1	1,60		1,55			-0,25	0,02
	2	1,70	1,65	1,80	1,68	1,66		
1	1	1,50		1,40			-13,00	0,00
	2	1,40	1,45	1,50	1,45	1,45		
2	1	1,30		1,50			-11,50	0,11
	2	1,50	1,40	1,60	1,55	1,48		

Tratamento	Repetições	Hipocótilo					Inib. (%)	DEV PAD
		1	M1	2	M2	M1+2		
Testemunho	1	2,80		2,70			0,00	0,00
	2	2,50	2,65	2,60	2,65	2,65		
1	1	2,40		2,40			-12,26	0,04
	2	2,20	2,30	2,30	2,35	2,33		
2	1	2,30		2,40			-13,21	0,07
	2	2,20	2,25	2,30	2,35	2,30		

APÊNDICE XXIII

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico da substância **1** identificada dos extratos da raiz de Timbó obtidos por percolação e por fluido supercrítico (C= 150 ppm).

Microrganismo	Repetições	Inibição (%)				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,55	1,60	1,51	-83,19	0,14
	2	1,30	1,40			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,45	1,55	1,56	-82,64	0,11
	2	1,70	1,65			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,70	1,55	1,61	-82,08	0,13
	2	1,65	1,85			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	5,60	5,60	5,60	0,00	0,00
	1	1,90	2,10	2,03	-63,84	0,09
	2	2,00	1,95			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,75	1,60	1,69	-81,25	0,09
	2	1,80	1,75			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	7,80	7,75	7,78	0,00	0,04
	1	3,90	4,05	3,96	-49,04	0,09
	2	3,85	4,00			
<i>Crinipellis perniciososa</i>	Controle	9,00	9,00	9,00	0,00	0,00
	1	1,60	1,50	1,51	-83,19	0,06
	2	1,45	1,55			

APÊNDICE XXIV

Dados experimentais dos bioensaios antifúngico da substância **2** identificada dos extratos da raiz de Timbó obtidos por percolação e por fluido supercrítico (C= 150 ppm).

Microrganismo	Repetições	Inibição (%)				
		D1 (cm)	D2 (cm)	DM (cm)	Inib. (%)	DESVPAD
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Controle	D1 (cm)	D2 (cm)	9,00	0,00	0,00
	1	9,00	9,00	1,44	-84,03	0,11
	2	1,45	1,40			
<i>Rhizoctonia solani</i>	Controle	1,50	1,65	9,00	0,00	0,00
	1	9,00	9,00	1,33	-85,28	0,09
	2	1,30	1,40			
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Controle	1,20	1,35	9,00	0,00	0,00
	1	9,00	9,00	1,54	-82,92	0,09
	2	1,55	1,60			
<i>Fusarium solani</i>	Controle	1,40	1,50	5,55	0,00	0,07
	1	5,50	5,60	1,96	-64,64	0,09
	2	1,90	2,05			
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Controle	1,85	1,90	9,00	0,00	0,00
	1	9,00	9,00	1,61	-82,08	0,07
	2	1,55	1,60			
<i>Corynespora cassicola</i>	Controle	1,70	1,70	7,80	0,00	0,00
	1	7,80	7,80	3,79	-51,44	0,13
	2	3,75	3,90			
<i>Crinipellis perniciosa</i>	Controle	3,60	3,70	9,00	0,00	0,00
	1	9,00	9,00	1,65	-81,67	0,05
	2	1,70	1,65			